

# Korisni mikroorganizmi u održivoj biljnoj proizvodnji

---

Šperanda, Katarina

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:193797>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Katarina Šperanda

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda  
Smjer Bilinogojstvo

**Korisni mikroorganizmi u održivoj biljnoj proizvodnji**

Završni rad

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Katarina Šperanda

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Bilinogojstvo

**Korisni mikroorganizmi u održivoj biljnoj proizvodnji**

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
2. prof. dr. sc. Zlata Milaković, član
3. izv. prof. dr. sc. Irena Rapčan, član

Osijek, 2017.

---

**TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Završni rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda, smjer Bilinogojstvo

Katarina Šperanda

**Korisni mikroorganizmi u održivoj biljnoj proizvodnji**

**Sažetak:** Glavni zadatak poljoprivrede je proizvodnja sigurne i dostupne hrane visoke kvalitete. Konvencionalni sustavi dosegli su maksimum u pogledu povećanja produktivnosti i iskoristivosti zemljишnih resursa.. Uzgoj monokultura doveo je do osiromašenja tala, smanjenja vitalnosti zbog nedostatka organske tvari, do smanjenja biodiverziteta populacije mikroorganizama tla, što za posljedicu ima veću osjetljivost biljaka na parazite i patogene uzročnike. S obzirom kako se sve veća važnost daje kvaliteti proizvoda i plodnosti tla upotreba mikrobioloških pripravaka predstavlja odličnu alternativu. Korisni mikroorganizmi su brojne vrste bakterija iz roda *Rizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Glomus* i drugi. Učinci korisnih mikroorganizama su mnogobrojni: fiksacija dušika, dostupnost fosfora, proizvodnja fitohormona biokontrola patogena, pojačavanje tolerancije biljaka na abiotičke stresne uvjete. Očigledno je kako su koristi korištenje mikroorganizama u suvremenoj poljoprivrednoj proizvodnji višestruke.

**Ključne riječi:** korisni mikroorganizmi, bakterije, gljive, održiva biljna proizvodnja, biotehnologija

32 stranice, 1 tablica, 3 grafikona i slika, 131 literaturni navod

Završni rad je pohranjen: u Knjižnici Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku

---

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

---

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

BSc Thesis

Faculty of Agriculture in Osijek

Undergraduate university study Agriculture, course Plant production

**The beneficial microorganisms in sustainable plant production**

**Summary:** The main task of agriculture is the production of safe and accessible high quality foods. Conventional systems have reached the maximum in terms of increasing productivity and utilization of land resources. Growing monoculture has led to soil depletion, reduced vitality due to lack of organic matter, to reducing the biodiversity of the soil microorganism population, resulting in higher susceptibility of plants to parasites and pathogenic agents. Given the increasing importance of product quality and soil fertility, the use of microbiological preparations is an excellent alternative. Useful microorganisms are numerous types of bacteria from the genus *Rizobium*, *Azotobacter* and *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Glomus* and others. The effects of useful microorganisms are numerous: nitrogen fixation, availability of phosphorus, production of phytohormone pathogenic biochemistry, intensification of tolerance of plants to abiotic stress conditions. Obviously, the use of microorganisms in modern agricultural production is multifarious.

**Key words:** useful microorganisms, bacteria, fungi, sustainable plant production, biotechnology

32 pages, 1 tables, 3 figures, 131 references

Final work is archived in Library of Faculty of Agriculture in Osijek and in digital repository of Faculty of Agriculture in Osijek

## **SADRŽAJ**

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. BIOTEHNOLOGIJA I MIKROORGANIZMI .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Uloga mikroorganizama u održivoj biljnoj proizvodnji .....</b>	<b>3</b>
<b>3. MEHANIZMI DJELOVANJA KORISNIH MIKROORGANIZAMA</b>	<b>5</b>
<b>3.1.1. Fiksacija dušika .....</b>	<b>6</b>
<b>3.1.2. Biodostupnost fosfata.....</b>	<b>7</b>
<b>3.1.3. Proizvodnja fitohormona.....</b>	<b>8</b>
<b>3.2. INDIREKTNI UČINCI KORISNIH MIKROORGANIZAMA.....</b>	<b>8</b>
<b>3.2.1. Korištenje korisnih mikroorganizama kao bioherbicida .....</b>	<b>9</b>
<b>3.2.2. Korištenje korisnih mikroorganizama rizobakterija kao bioinsekticida.....</b>	<b>10</b>
<b>3.3. Ostale prednosti korisnih mikroorganizama .....</b>	<b>10</b>
<b>3.3.1. Utjecaj rizobakterija na aktivnost enzima .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3.2. Poticanje rasta pomoću vitamina.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3.3. Utjecaj na pojačavanje fotosinteze .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3.4. Utjecaj mikroorganizama tla na strukturu tla .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3.5. Utjecaj rizobakterija na detoksifikaciju organskim i anorganskim onečišćivačima.....</b>	<b>13</b>
<b>4. UTJECAJ KORISNIH MIKROORGANIZAMA U PROIZVODNIM UVJETIMA.....</b>	<b>13</b>
<b>5. UTJECAJ BIOFERTILIZATORA NA TOLERANCIJU BILJAKA NA STRES IZ OKOLIŠA .....</b>	<b>14</b>
<b>6. FORMULACIJA MIKROBIOLOŠKIH PREPARATA .....</b>	<b>18</b>
<b>7. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>19</b>
<b>8. LITERATURA .....</b>	<b>20</b>

## **1. UVOD**

Glavni zadatak poljoprivrede je proizvodnja sigurne i dostupne hrane visoke kvalitete za rastuću svjetsku populaciju. Osim toga, poljoprivedni proizvođači imaju velike izazove pred sobom zbog niske cijene poljoprivrednih proizvoda na tržištu pa je uvek upitna ekonomska isplativosti i održivost proizvodnje. S povećanjem problema vezanim za upotrebu sintetskih kemikalija u poljoprivredi (utjecaj na zdravlje i okoliš, razvoj otpornosti na biljne patogene i štetočine), postoji sve veći interes o upotrebi korisnih mikroorganizama za poboljšanje zdravlja biljaka. Sve se veća pažnja posvećuje proizvodnji sigurne hrane za ljudsko zdravlje i brizi o zaštiti okoliša. U ovom kontekstu, mnogi mikroorganizmi koji su stanovnici tla pokazali su se korisnim tijekom godina i sada su integrirani u razne vrste proizvodnih sustava. Rizosfera uobičajeno sadrži kompleks mikrobne zajednice uključujući saprofite, aerofite, endofite i patogene mikroorganizme. U prirodnim sustavima ove mikrobne zajednice žive u skladu, gdje sve populacije održavaju ravnotežu zahvaljujući dostupnosti hrane.

Konvencionalni sustavi dosegli su maksimum u pogledu povećanja produktivnosti, iskoristivosti zemljišnih resursa i povećanja cijene rada. Uzgoj monokultura dovelo je do osiromašenja tala, smanjenja vitalnosti zbog nedostatka organske tvari, do manjeg biodiverziteta populacije mikroorganizama i nematoda tla, što za posljedicu ima veću osjetljivost biljaka na parazite i patogene uzročnike. Puno se ulagalo u mineralna gnojiva, pesticide, sustave navodnjavanja što je dovelo do velikih troškova. Nije ostvaren profit koji se očekivao, pa to i nije najbolji koncept za budućnost. Postojeći korporativna poljoprivredna proizvodnja kakvu danas poznajemo temelji se na konvencionalnim metodama kojoj je važan profit, a istovremeno destabilizira ruralne zajednice koje su do sada bile nositelji proizvodnje hrane i poljoprivrednih proizvoda. Istovremeno, takav pristup pridonosi narušavanju ekosustava i onečišćenju okoliša. Napori za smanjenje troškova često su usmjereni na poljoprivredne radnike. Financijski naknada za obavljeni rad znatno je obezvrijedena u usporedbi s drugim područjima ljudske djelatnosti. To je smanjilo životni standard ljudi koji se bave poljoprivredom, a djelovalo je i na ekonomsku stabilnost malih ruralnih sredina. Porast urbanih i industrijskih zona smanjilo je raspoloživost obradivih površina i tako se poljoprivredna proizvodnja suočava s jakom konkurencijom. Mnoštvo je izazova zbog kojih poljoprivredna proizvodnja mora odabirati održive načine proizvodnje hrane.

## **2. BIOTEHNOLOGIJA I MIKROORGANIZMI**

Održiva poljoprivreda je široki i poznati pojam u suvremenoj proizvodnji hrane. Pojam uključuje suvremene tehnologije i napredni menagement koji su neophodni jer se proizvodnja hrane nalazi pred velikim izazovom s obzirom na rastuću svjetsku populaciju.

Biotehnologija je grana biološke znanosti koja proučava manipulacije genetskog inženjeringu živih organizama ili njihovih sastavnih dijelova za proizvodnju korisnih proizvoda različite primjene. Procjenjuje se da će se svjetska populacija udvostručiti do kraja 2033. (Mosttafiz, 2012.). Ovakav porast populacije predstavlja veliki izazov poljoprivrednom sustavu. Tradicionalni uzgoj i oprema dosegli su svoj maksimum učinkovitosti u povećanju poljoprivredne proizvodnje. Kako se zemlje razvijaju, ljudi zahtijevaju više hrane bolje kvalitete. Pritisak je povećan i zbog smanjenja obradive površine, povećanja troškova rada i nedostatka poljoprivrednih radnika. Biotehnologija nudi dodatne metode za poboljšanje postojećih sustava za proizvodnju više hrane bolje kvalitete. Potencijalne prednosti biljne biotehnologije su brojne i uključuju otpornost usjeva na štetnike, povećanje prinosa usjeva i smanjenu upotrebu pesticida. Poljoprivredna tehnologija je bila pokretač zelene revolucije sredinom 20. stoljeća, uzrokujući visoke ekološke troškove i povećanje globalnog zagađenja, nepovoljne klimatske promjene i smanjenje bioraznolikosti (Vance, 1998.). Stoga mikrobna biotehnologija i njena primjena u održivom razvoju poljoprivrede i zaštite okoliša dobivaju veću pozornost.

Mikroorganizmi su većinom mikroskopski organizmi različitih skupina kao što su bakterije, gljive, protozoa, mikroalge i virusi. Ovi organizmi žive u tlu, vodi, hrani, životinjskim organima i drugim raznim okruženjima. Razna mikrobna staništa odražavaju veliku raznolikost biokemijskih i metaboličkih svojstava koji su nastali genetskim izmjenama i prirodnom selekcijom mikrobne populacije. Čovjek koristi razne mikroorganizme u proizvodnji fermentirane hrane kao što su kruh, jogurt i sir. U našem organizmu, razni mikroorganizmi sudjeluju u probavi hrane, obrani od patogenih mikroorganizama, sudjeluju u borbi i odlučujućim bitkama u ljudskom obrambenom sustavu u prirodnom procesu borbe protiv bolesti.

## **2.1. Uloga mikroorganizama u održivoj biljnoj proizvodnji**

Mikrobna populacija i procesi utječu na plodnost tla i strukturu na razne načine, od kojih svaki poboljšava učinak na neki od glavnih ograničenja u proizvodnji (Jeffries i sur., 2003.):

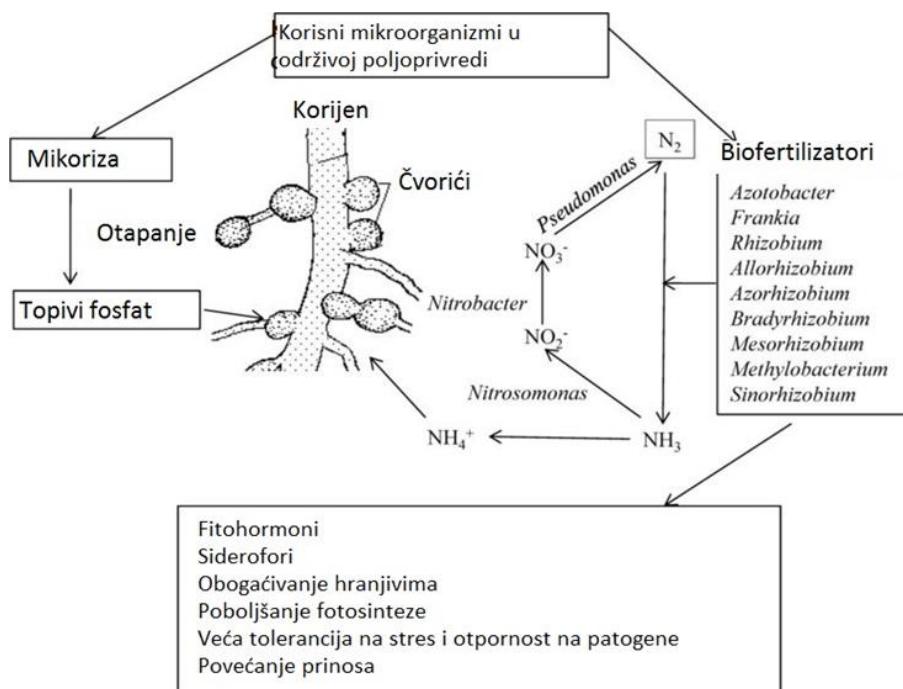
- simbioza rizobakterija koje promoviraju rast biljaka, (PGPR, eng.free-living plant growth promoting rhizobacteria) i cijanobakterija, povećava učinkovitost usvajanja hranjivih tvari biljaka
- široki raspon mikrobne zajednice sudjeluje u razgradnji, mineralizaciji i dostupnosti hranjivih tvari
- mikrobne zajednice tla posreduju u procesu sinteze i razgradnji organske tvari u tlu i tako utječu na kapacitet kationske izmjene, rezerve tla dušika, sumpora, fosfora, kiselost tla, toksičnost i kapacitet zadržavanja vode u tlu
- transport čestica pomoću mikroflore tla, utjecaj na strukturu tla i vodni režim tla.

Rizosfera je područje koje okružuje korijen biljke i u njemu je zapažena najveća aktivnost mikroorganizama. Taj okoliš je povoljno stanište za rast mikroorganizama i značajno utječe na zdravlje biljaka i plodnost tla. Rizosfera je ekološka biozona koja sadrži volumen tla okružen korijenom biljke s najvišom bakterijskom populacijom koja je pod utjecajem korijenovih izlučevina (Bolton i sur., 1992.). Vrlo je često bakterijska populacija u rizosferi 100-1000 puta veća nego u glavnom dijelu tla (Govindasamy i sur., 2011.). Pojam rizobakterija koje potiču rast biljaka poznat je već dugo vremena (Kloepper i Schroth, 1978.) i mnogi istraživači proučavaju njihovo djelovanje, ali mnoštvo novih istraživanja ukazuju da je potrebno promijeniti tradicionalni koncept fiziologije biljaka i mikrobne ekologije. Taj se pojam proširuje i na druge bakterije koje imaju povoljan utjecaj na biljke, čak i kada su izvan područja rizosfere. Glick (2014.) navodi da se u tlu nalaze različiti mikroorganizmi: bakterije, aktinomicete, gljive, alge i protozoa. Utvrđeno je da gram tla sadrži približno  $9 \times 10^7$  bakterija,  $4 \times 10^6$  aktinomiceta,  $2 \times 10^5$  gljiva,  $3 \times 10^4$  algi,  $5 \times 10^3$  protozoa i  $3 \times 10^1$  nematoda (Alexander, 1991.). Njihov utjecaj se ostvaruje putem različitih mehanizama, a uvijek se radi o povezanosti tla i biljke na molekularnoj razini. Brojni povoljni mikroorganizmi su povezani s korijenovim sustavom viših biljaka koji ovise o izlučevinama korijena u okoliš. Mnoštvo tvari prisutnih u eksudatu korijena uljučujući polisaharide i proteine, omogućavaju bakterijama kolonizaciju korijena biljke. Zbog natjecanja za hranjive

tvari mikrobne populacije bolje razgrađuju složene spojeve kao što su hitin, celuloza i eksudati sjemena. Najrašireniji mikroorganizmi koji progresivno koloniziraju korijen biljke su bakterije tj. rizobakterije (Glick, 2014.). U tu skupinu spadaju važni rodovi: *Serratia*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Flavobacterium* i *Gluconacetobacter* (Glick, 2012.). Bakterije iz ovih rodova sintetiziraju esencijalne tvari za biljku i omogućavaju iskorištavanje tih hranjivih tvari, a sprječavaju razvoj bolesti. Prema Gamalero i Glick (2015.) izravni učinak pokazuju povećavajući topivost fosfora, fitohormonima i proizvodnjom siderofora. Indirektan učinak očituje se u inhibiciji rasta patogena. PGPR štite biljku od štetnog učinka stresora iz okoliša pomoću nekoliko mehanizama (Singh i sur., 2011.):

1. smanjujući koncentraciju etilena koji se proizvodi u stresu
2. proizvodi egzopolisaharide koji reguliraju unos hranjivih tvari
3. povećavaju aktivnost antioksidativnih enzima.

Ove bakterije imaju izuzetnu ulogu u poboljšanju rasta biljaka u normalnim i stresnim uvjetima. Općenito PGPR djeluju kao fitostimulatori, organska gnojiva, tvari biološke kontrole, kolonizatori korijena i zaštitnici okoliša, kako prikazuje Slika 1.

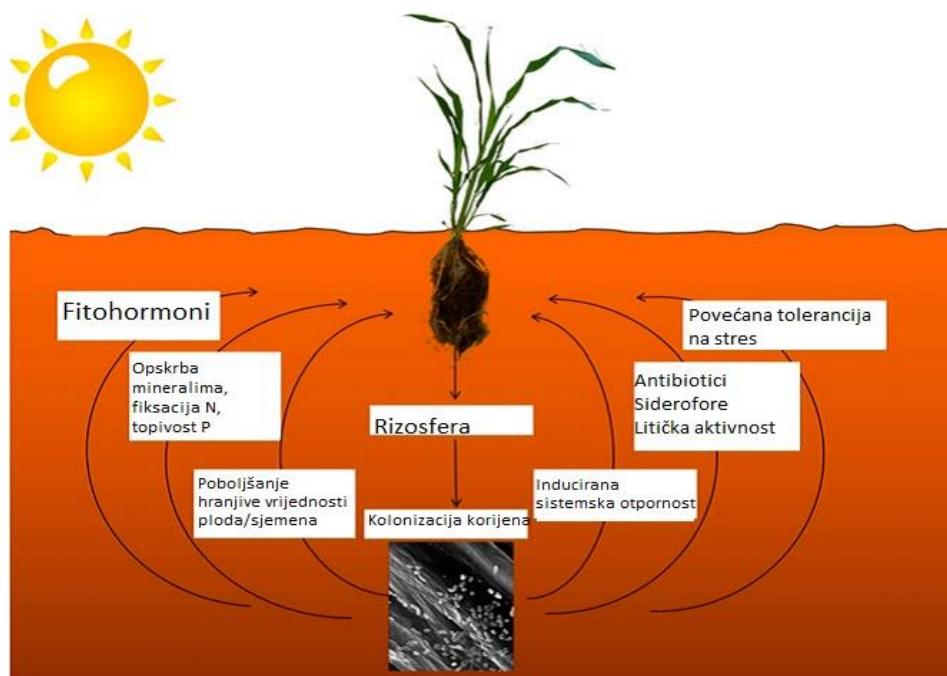


Slika 1. Mogućnosti korištenja korisnih mikroorganizama u održivoj poljoprivredi

(izvor: Bhardwaj i sur.2014.)

### 3. MEHANIZMI DJELOVANJA KORISNIH MIKROORGANIZAMA

Uvriježena je podjela mehanizama djelovanja rizobakterija kao promotora rasta na direktno i indirektno djelovanje. Indirektna djelovanja su ona koja se događaju izvan biljke, dok se direktna odvijaju unutar biljke i djeluju izravno na metabolizam biljke (Vessey, 2003.). Dok indirektni mehanizmi utječu na balans regulatora rasta biljke ili mikroorganizmi otpuštaju postojeće faktore rasta u biljkama na način da provode hormone koji se otpuštaju u biljkama ili se integriraju u biljke dovodeći do bolje sposobnosti prilagodbe (Slika 2.; Glick, 2014.). Indirektni mehanizmi zahtijevaju djelovanje obrambenih metaboličkih procesa biljke što je povezano sa signalima koje bakterije šalju biljci. Dva važna mehanizma pripadaju ovoj skupini: podizanje sustavne otpornosti biljaka prema patogenima (biotski stres) i zaštita protiv utjecaja koji dolaze iz zagađenog okoliša (abiotski stres).



Slika 2. Shema glavnih mehanizama djelovanja rizobakterija koje promoviraju rast biljaka  
(Gamalero i Glick, 2015.)

### **3.1. Direktno djelovanje korisnih mikroorganizama**

#### *3.1.1. Fiksacija dušika*

Bakterije koje imaju sposobnost fiksacije dušika dijele se u dvije kategorije. Jedna uključuje bakterije u simbiotskom odnosu s korijenom leguminoza u koje ubrajamo rodove *Rhizobium*, *Bradirhizobium*, *Mezorhizobium*, *Sinorhizobium* (Antoun i Prevost, 2005.). Upravo zbog fiksacije dušika oni su pravi predstavnici promotora rasta biljke. One proizvode regulatore rasta i imaju supresivni učinak na bolesti uzrokovane gljivama, bakterijama, virusima, nematodama i parazitima. Supresivni učinak prema bolestima povezan je s direktnom inhibicijom razvoja patogena (kroz kompeticiju ili antibiozu) kao i indirektno stimuliranjem obrambenih mehanizama biljke. Poznato je da *Rhizobium* vrste mogu proizvesti ekstracelularnu tvar (trifolitoksin) koji ima antimikrobnu aktivnost (Keyser i sur., 1992.). Drugi način biokontrole je njegova sposobnost da proizvodi siderofore. Antoun i sur. (1998.) utvrdili su da 196 testiranih *Rhizobium spp.* proizvode siderofore. Osim toga ove bakterije mogu smanjiti ili eliminirati raspoloživo željezo za druge organizme i tako pokazuje kompetitivni učinak. One indirektno stimuliraju biljku na aktivaciju obrambenih mehanizama proizvodnjom fenola, flavonoida i drugih fitoaleksina.

Drugu skupinu čine slobodnoživuće bakterije koje fiksiraju dušik i ne pokazuju vrsnu specifičnost prema određenoj biljci. Primjer takvih bakterija su one iz roda *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Bacillus* i *Paenibacillus* (Oberson i sur., 2013). Ove bakterije ne prodiru u tkivo biljke, ali su u vrlo bliskom odnosu s korijenom tako da fiksiraju atmosferski dušik i ne koriste ga za vlastiti metabolizam, ali ga biljka na ovaj način lakše apsorbira. To je nespecifična ili slaba simbioza (Goswami i sur., 2015.). Procjene su da se godišnje na ovaj način fiksira između 20 i 30 kg dušika po hektaru (Stacey i sur., 1992). Inokulacija ovim bakterijama pozitivno utječe na fiksaciju dušika, biomasu biljke i prinos u različitim vrsta kao što su lucerna, soja i grašak. Prisutnost takvih bakterija omogućava efikasno iskorištavanje dušika i smanjuje njegovo ispiranje i gubitak (James, 2000.). Neke bakterije iz ovoga roda osim fiksacije dušika povećavale su rast biljaka proizvodeći fitohormone, uključujući indol- 3- octenu kiselinu, gibereličnu kiselinu i citokinine (Goswami i sur., 2016.).

Mehanizam djelovanja simbiotskih bakterija je u aktivnoj izmjeni kemijskih signala između biljke i bakterija tla (Fox i sur., 2007.). Proces počinje prepoznavanjem bakterije i biljke nakon čega slijedi infekcija biljaka bakterijama, što na kraju rezultira formiranjem krvžica na korijenovom sustavu biljaka unutar kojih će se odvijati procesi simbiotske fiksacije atmosferskog dušika (Topol i Kanižai-Šarić, 2013.). Proces fiksacije dušika zahtijeva aktivnost enzima nitrogenaze koji djeluje kao katalizator u procesu dušika i njegove promjene u amonijak.

### *3.1.2. Biodostupnost fosfata*

Unatoč bogatim rezervama fosfora u tlu, nije dostupan biljkama (Jha i sur., 2012.; Jha i Saraf, 2015.). Pankhurst i Lynch (1995.) su utvrdili da je najvažniji mehanizam rizobakterija konverzija netopivog oblika fosfora u oblik koji je dostupan biljci. Ove bakterije čine anorganski fosfat dostupnim pomoću različitih mehanizama:

- A. proizvodnjom organskih i anorganskih kiselina
- B. otpuštanjem vodikovih iona
- C. proizvodnjom keliranih tvari pomoću enzima fosfataze.

Mikroorganizmi mineraliziraju organski fosfor u tlo procesima fosfomineralizacije i fosfomobilizacije pri čemu nastaju mineralni rastvorljivi fosfati dostupni biljkama. Primarni mehanizam otapanja fosfata temelji se na principu izlučivanja organske kiseline iz bakterija. Naime, organizmi koji obitavaju u rizosferi koriste šećer iz korijenovog eksudata i proizvode organske kiseline (Goswami i sur., 2014.). Proizvedene organske kieselne djeluju kao kelati za divalentni kation kalcij zajedno sa otpuštenom fosfatazom iz netopivih spojeva fosfora. Mnoge bakterije koje čine fosfor topivim snižavaju pH medija izlučivanjem organskih kiselina kao što su: octena, mlječna, malična, sukcinična, tartarična, glukonska, 2-ketoglukonska, oksalna i limunska (Patel i sur., 2015.). Nadalje, arbuskularne mikoriza gljive su obligatni simbionti više od 80% kopnenih biljaka (St.-Arnaud i sur., 1996.). U zamjenu za smanjeni ugljik arbuskularne mikoriza gljive opskrbljuju biljku mineralnim tvarima (posebno fosforom) i povećavaju unos vode (Sellosse i sur., 2006.). *Glomus* vrste su najopsežnije istražene i dokazano je da poboljšavaju proizvodnost biljke zbog unosa hranjivih tvari, ali i pomažu oduprijeti se bolestima (Avis i sur., 2008.). Poboljšani hranidbeni status biljke ujedno omogućava bolju otpornost biljaka (Linderman, 1994.). Glavni način na koji *Glomus* vrste štite biljku od bolesti je proizvodnja fenola i fitoaleksina

stvaranjem strukturnih barijera proizvodnjom proteina i enzima povezanih sa obrambenim mehanizmima biljke (Whipps, 2004.).

### *3.1.3. Proizvodnja fitohormona*

Mikroorganizmi tla, posebice bakterije rizosfere imaju sposobnost proizvodnje fitohormona kao što su auksini, giberelini, citokinini, etilen, absicinska kiselina (Patten i Glick, 1996.; Nadeem i sur., 2013.). Fitohormoni imaju pozitivan učinak na diobu stanice, povećanje stanice, klijavost sjemena, formiranje korijena i produženje stabljike (Aeron i sur., 2011.). Na primjer, absicinska kiselina pomaže biljkama u stresnim situacijama i ima važnu ulogu u cvjetanju ovisnom o fotoperiodu (Amara i sur., 2015.). Iako se fitohormoni proizvode komercijalno, učinkovitiji su oni koje proizvode mikroorganizmi jer je prag između inhibicijske i stimulacijske razine nizak, dok se mikrobijni hormoni otpuštaju sporo i kontinuirano (Goswami i sur., 2016.). Fitohormoni, kao što je auksin, kontrolira nekoliko stadija rasta biljaka: elongaciju, diobu stanica, diferencijaciju tkiva. Indol-3-octena kiselina (IAA) stimulira brz porast (npr. porast stanica u duljinu) i dugotrajni rast (diobu stanica i diferencijaciju; Goswami, 2016.). Biljke na koje dulje vremena djeluje indol-3-octena kiselina pokazuju vrlo dobro razvijen korijen koji omogućava biljci bolje iskorištanje hrane (Aeron i sur., 2011.).

## **3.2. INDIREKTNI UČINCI KORISNIH MIKROORGANIZAMA**

Glavni indirektni učinak korisnih mikroorganizama je biokontrola bolesti. Mnoge rizobakterije proizvode antifungalne metabolite kao što su cijanovodična kiselina, fenazin, pirolnitrin, 2,4-diacetylfloroglukinol, pioluteorin, viskosinamid i tenzin (Ahmed i Kibret, 2014.). Interakcija korisnih mikroorganizama i korijena izaziva rezistenciju na patogene bakterije, gljive i virus. Taj se fenomen zove inducirana sistemskna otpornost. To uključuje lučenje hormona koji stimuliraju otpornost domaćina na mnoge biljne patogene (Glick, 2012.).

U tlu postoji mnoštvo patogena koji izazivaju različita oboljenja usjeva i u konačnici smanjuju prinos. Ti patogeni su kontrolirani kemijskim načinom ili uzgojem vrsta koje su rezistentne na bolesti. Međutim, briga o očuvanju okoliša bi trebala biti najbitnija jer

kemijska sredstva mogu ostati prirodno u tlu i nakupljati se kao otrovne rezidue u dijelovima hrane. Alternativna strategija riješenja ovog problema je korištenje korisnih mikroorganizama kao biokontrolne tvari jer proizvode antibiotike, antifungalne metabolite, smanjuju dostupnost željeza za patogene organizme, proizvode enzime koji oštećuju stijenu gljiva i tako izazivaju sistemsku otpornost (Chandler i sur., 2008.). Korisni mikroorganizmi imaju kompetitivnu prednost nad gljivama za iskorištenje željeza zbog proizvodnje siderofora (Marek-Kozaczuk i sur., 1996.) i stavaranja kompleksa sa željezom. Pomoću ovog mehanizma korisni mikroorganizmi usporavaju rast patogena smanjujući dostupnost željeza i tako osiguravaju zaštitu biljke protiv bolesti (Penyalver i sur., 2001.). Utvrđeno je također kako *Pseudomonas* sp. ima sposobnost usporavanja rasta patogena tla (Carisse i sur., 2003.). U ovom se slučaju učinak manifestira kompeticijom i to proizvodnjom različitih antimikrobnih tvari i pojačavanjem imunog odgovora. Djelovanje ove bakterije je testirano je na različitim usjevima, kao što su grašak, patlidžan, soja i rajčica (Kumar, 1998.). Nadalje, *Trichoderma* spp. djeluje kao biološki kontrolor pomoću nekoliko mehanizama: parazitizmom, kompeticijom, antibiozom i izazivanjem rezistencije (Kubicek i sur., 2001.; Benítez i sur., 2004.; Harman i sur., 2004.). Dokazana su dva mehanizma djelovanja: povećava ishranu biljke povećavajući topivost makro i mikronutrijenata i proizvodi zaštitne faktore biljke što je i razlog njenog djelovanja kao biofertilizatora.

### 3.2.1. Korištenje korisnih mikroorganizama kao bioherbicida

Korovi su značajan problem za uzgajivače biljaka, oni se natječu s biljkom za vodu, hranjiva, svjetlost i prostor, a na njima se zadržavaju kukci i uzročnici bolesti. Korovi ometaju drenažni sustav biljke, smanjuju kvalitetu usjeva i mijesaju svoje sjeme sa sjemenom usjeva. Korištenjem bioherbicida kontroliraju se korovi, ali bez štetnog utjecaja na okoliš. Mosttafiz i sur. (2012.) izvjestili su da mikroorganizmi imaju snažne gene koji mogu napasti obrambene gene korova i tako ih uništiti, jeftiniji su od sintetskih herbicida, što u konačnici može smanjiti troškove uzgoja. Većina komercijalnih bioloških pripravaka za kontrolu korova oslanja se na različite vrste gljiva, npr. formulacija *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *malvae*, u kontroli divljeg sljeza (*Malva pusilla*), (Mortensen, 1988.) i *C. gloeosporioides* f.sp. *aeschynomene*, za kontrolu grahorice (*Aeschynomene virginica*), (Menaria, 2007.). U znanstvenim krugovima tri vrste gljiva imaju posebnu pažnju kao

kandidati za bioherbicide: *Colletotrichum truncatum*, koji kontrolira grahoricu (*Sesbania exaltata*), (Schisler i sur., 1991.), *Colletotrichum orbiculare*, za kontrolu trnovite dikice (*Xanthium spinosum*), (Auld i sur., 1988.; Auld i sur., 1990.) i *Colletotrichum gloeosporioides* i *Colletotrichum orbiculare* za koje se pretpostavlja da imaju dobre gene za proizvodnju degradirajućih enzima koji mogu pripomoći infekciji korova (Gan i sur., 2013.).

### *3.2.2. Korištenje korisnih mikroorganizama rizobakterija kao bioinsekticida*

Bioinsekticidi također pomažu u alternativnoj kontroli insekata, imaju kratak životni vijek, učinkoviti su u malim količinama, nisu štetni za ljude i životinje, vrlo su specifični, djeluju samo na nekoliko vrsta kukaca i imaju specifičan mehanizam djelovanja te sporo djeluju (Mosttafiz i sur., 2012.). Gljive uzrokuju bolesti u 200 različitih kukaca i te se gljive koriste kao bioinsekticidi. Uzgajaju se spore, pakiraju i apliciraju. Kada se spore rašire, one koriste enzime da bi razorile vanjsku površinu tijela kukaca. Nakon što su ušle u tijelo, razmnožavaju se i uzrokuju smrt. Istraživači preporučuju gljivične bioinsekticide za dugoročnu kontrolu kukaca (McNeil, 2011.). To je stoga što bioinsekticidi imaju različite mehanizme djelovanja tako da kukci ne mogu razviti otpornost. U kontroli insekata koji napadaju uljanu repicu, lan i povrće koriste se i *Baculovirusi*. Tradicionalni insekticidi djeluju samo u određenom stadiju do kada je šteta već nastala, stoga su bioinsekticidi na bazi virusa učinkovitiji (Mosttafiz i sur., 2012.).

## **3.3. Ostale prednosti korisnih mikroorganizama**

U rizosferi biljka i mikrobna populacija su u interakciji, a pod utjecajem su raznih biotičkih i abiotičkih čimbenika. Uspješnost bakterija da poboljšaju rast biljke ovisi o njihovom potencijalu da koloniziraju korijen biljke. Važan aspekt uspješne kolonizacije korijena je sposobnost korisnih mikroorganizama da se natječu s urođenom mikrobnom populacijom. Najrašireniji mikroorganizmi imaju najveće izglede za kolonizaciju korijena. Određeni korisni mikroorganizmi mogu tolerirati nepovoljan okoliš i smatraju se najboljom populacijom za rast biljaka. Sposobnost korisnih mikroorganizama da se adaptiraju na uvjete ograničenih hranjivih tvari, efikasno korištenje eksudata korijena i njihova interakcija s biljkom predstavljaju primjer dobre startegije za uspješnu kolonizaciju korijena. Mnoge tvari

kao proteini i polisaharidi imaju važnu ulogu u priljubljivanju bakterija za korijen biljke. (Siddiqui i sur.; 2005.; Ayyadurai sur. 2007.; Ravindra Naik i sur.; 2008.; Srinivasan i Mathivanan, 2009.)

### *3.3.1. Utjecaj rizobakterija na aktivnost enzima*

Bakterije mogu proizvoditi određene enzime kao što su: celulaza, ACC (1-amino ciklopropan-1- karboksilat) deaminaza i hitinaza (Nadeem i sur., 2013.). Pomoću ovih enzima biljka je zaštićena od biotičkih i abiotičkih stresora. Korisni mikroorganizmi manifestiraju dva najčešća mehanizma zaštite biljaka: smanjenje razine etilena u stresnim uvjetima pomoći aktivnosti ACC deaminaze i zaustavljanje razvoja bolesti pomoći aktivnosti hitinaze (Glick i sur., 2007.). Povećanje formiranja broja kvržica putem rizobija događa se zbog proizvodnje hidrolitičkih enzima celulaze koja omogućava prolaz rizobija u korijenove dlačice povećavajući broj nodula (Glick i sur., 2007.; Nadeem i sur., 2010.b).

### *3.3.2. Poticanje rasta pomoći vitamina*

Vitamini prisutni u eksudatu korijena pomažu rast bakterija, dok neke bakterijske vrste proizvode vitamine. Vrsta bakterija koja proizvodi vitamine, a ima sposobnost kolonizacije korijena je *Pseudomonas fluorescence* (Marek- Kozaczuk i Skorupska, 2001.). Navedeni sutori izvjestili su da je u minimalnom mediju bakterija soja 267 proizvela veliku količinu niacinu (0,92 mg ml<sup>-1</sup>), pantotenske kiseline (0,75 mg ml<sup>-1</sup>) i druge vitamine B kompleksa kao što su biotin, tiamin, kobalamin, piridoksin. Inokulacija te bakterije zajedno s rizobium vrstama stimulirala je rast i zajedničku fiksaciju dušika u lucerni (Marek- Kozaczuk i sur., 1996.) Isti autori naveli su da bakterijski soj 267 proizvodi pioverdinu sličan sastojak pod uvjetima manjka željeza i pri tome izlučuje vitamin B. Svi promatrani mutantistimulirali su rast kvržica u lucerni isto kao i početna bakterija *P. fluorescens*.

### *3.3.3. Utjecaj na pojačavanje fotosinteze*

U uvjetima stresa ograničena je fotosinteza zbog slabijeg rasta lista, brzog starenja lista, poremećenog mehanizma fotosinteze i posljedičnog smanjenja proizvodnje hrane. Rizobakterije omogućavaju rast biljaka jer pozitivno utječu na fotosintezu, a postoje podatci da osobito pozitivno utječu za vrijeme osmotskog stresa (Drew i sur., 1999.). Heidari i Golpayegani (2011.) uočili su više klorofila u bobilju izloženom stresu pri uvjetima suše uz primjenu korisnih mikroorganizama. U pokusu sa biljkom banana utvrđeno je povećanje dužine mladice i veća količina klorofila u slučaju kada je biljka inokulirana sa PGPR (Mia i sur., 2010. a). Povećani rast tumači se zbog većeg nakupljanja dušika koji sudjeluje u formulaciji klorofila što posljedično pojačava fotosintezu. Xie i sur. (2009.) dokazali su pojačanu fotosintezu u biljci *Arabidopsis* inokuliranu s bakterijom *Bacillus subtilis*. Utvrđili su da bakterija djeluje kao promotor rasta jer otpušta hlapljive tvari koje uključuju regulaciju više hormona kao što su auksin i absicinska kiselina (ABA). Također su utvrđili da se uslijed nedostatka bakterijskog signala kapacitet fotosinteze i sadržaj željeza vraća na razinu prije tretmana. Poznato je da učinkovitost mehanizma fotosinteze ovisi snažno o dostupnosti željeza.

### *3.3.4. Utjecaj mikroorganizama tla na strukturu tla*

Važna komponenta svake održive poljoprivredne proizvodnje je upravljanje koje najmanje utječe na eroziju tla i štiti plodnost tla. Povezivanje čestica tla u agregate čini stukture koje nisu samo otporne na eroziju nego sadrže i zadržavaju hranjive tvari tla. Bez fizičke zaštite unutar stabilnih agregata može se značajno izgubiti organska tvar hranjive tvari mineralizacijom i erozijom. Tvari koje vežu i drže čestice tla zajedno mineralnog su i organskog podrijetla. Anorganske tvari i relativno postojane organske tvari važne su za stabilizaciju mikroagregata (manje od 0,25 mm promjera), ali oni se povezuju u makroaggregate putem različitih mehanizama.

Simbiotska povezanost korijena biljke i njegove postojanosti u tlu i nekoliko mjeseci nakon uvunuća biljke (Tisdall, 1991.) čine ga vrijednim stabilizatorom agregata tla. Smatra se da se stabilizacija agregata tla provodi uz pomoć ekstraradikalnih hifa i organskog debrisa

koji omogućava razvoj mikroagregata, posljedično dolazi dopovezivanju s hifama na korijenu tvoreći makroaggregate (Tisdall, 1991.; Miller and Jastrow, 1992.). Makroagregati mogu biti stabilizirani intermikroagregatima i njihovim povezivanjem pomoću polisaharida u druge organske tvari (Gupta i Germida, 1988.).

### *3.3.5. Utjecaj rizobakterija na detoksifikaciju organskim i anorganskim onečišćivačima*

Utvrđeno je da inokulacija s korisnim mikroorganizmima dovodi do povećanja tolerancije biljaka protiv teških metala (Belimov i sur., 2005.). Korisni mikroorganizmi koriste različite mehanizme za detoksifikaciju štetnih učinaka teških metala: proizvodnjom proteina koji vežu teške metale i detoksifikacijom spremajući ih u vakuole (Gerhardt i sur., 2009.). Na primjer bakterije mogu detoksicirati cink vežući ih u unutrašnjoj membrani proizvodnjom proteina koji vežu cink ili stvarajući komplekse s organskim kiselinama. Zbog vrlo složenog komunikacijskog sustava mikroorganizmi su vrlo prilagodljivi na stresne uvjete iz okoliša (Appanna i Whitmore, 1995.; Choudhury i Srivastava, 2001.).

## **4. UTJECAJ KORISNIH MIKROORGANIZAMA U PROIZVODNIM UVJETIMA**

Unatoč mnogim dokazima o utjecaju korisnih mikroorganizama na povećanje rasta biljaka u stresnim uvjetima rezultati u poljskim uvjetima se često razlikuju od rezultata dobivenih u laboratorijskom uvjetima (Smyth i sur., 2011.). To se može dogoditi zbog niske kvalitete inokulanta ili zbog nemogućnosti bakterija da se natječe sa izvornom populacijom pod nepovoljnim abiotičkom uvjetima tla. Neophodno je razviti učinkovit inokulant koji može pokazati bolje rezultate i u poljskim uvjetima. Bolje je aplicirati više različitih bakterija u kombinaciji nego jednu vrstu. Dokazano je da višestruka inokulacija s više mikroorganizama može biti učinkovitiji nego inokulacija jedne bakterije (Tilak i sur., 2006.) U kombiniranim inokulantima svaka bakterija se može natjecati s urođenom populacijom u rizosferi i tako povećati rast biljke. Inokulacija rizobium bakterija i PGPR-promovira rast i povećava nodulaciju (Tilak i sur., 2006.). Provedena su istraživanja bakterijske populacije

bez biljaka i utvrđeno je da neke bakterije rastući zajedno pokazuju pozitivnu interakciju: osiguravaju hranjive tvari jedna drugoj, uklanjuju proizvode inhibicije i stimuliraju rast jedna druge pomoću fizikalnih i biokemijskih aktivnosti (Tilak i sur., 2006.). Dokazano je da dvojna inokulacija s *Azotobacter* i *Azospirillum* značajno povećavaju ukupnu suhu tvar, indeks površine lista i indeks rasta biljke kukuruza (Gholami i sur., 2012.).

## **5. UTJECAJ BIOFERTILIZATORA NA TOLERANCIJU BILJAKA NA STRES IZ OKOLIŠA**

Abiotski i biotski stresni uvjeti utječu na proizvodnju usjeva. Suvremenim pristupom prevencije njihovog štetnog učinka uključuje uporabu korisnih mikroorganizama koje promoviraju rast biljaka. Salinitet i suša su najčešći abiotski stresori u većini aridnih i semiaridnih regija (Munns, 2005.). Smanjenjem padalina također se povećava aridnost tala. Posljedica je smanjena difuzija, smanjeni unos hrane korijenom, ograničena transpiracija, onemogućen aktivni transport i poremećena permeabilnost membrane (Sardans i sur., 2008.a, b). U uvjetima povećane slanosti povećanje natrijevih iona uzrokuje smanjenje kalija i kalcija u biljkama. U uvjetima takvog stresa povećava se proizvodnja etilena koji negativno utječe na korijen, a može uzrokovati prerano starenje i uvenuće biljke (Nadeem i sur., 2010.b). Adaptacija na stres značila bi smanjenje proizvodnje etilena u stresu, smanjenje unosa toksičnih iona, kao što je natrij i stvaranje specifičnih stres proteina u biljkama (Spaepen i sur., 2009.). Neke bakterijske vrste mogu tolerirati visoki salinitet i proizvode egzopolisaharide koji štite od stresa uzrokovanih vodom (Grover i sur., 2011.). Egzopolisaharidi iz tla tvore zaštitni sloj oko agregata tla (Tisdall i Oades, 1982.) Tako štite biljku od isušivanja. Istovremeno povećavaju kolonizaciju korijena mikroorganizmima (Santaella i sur., 2008.), povećava agregaciju čestica tla (Sandhya i sur., 2009.), usmjerava vodu i hranjive tvari do korijena biljke (Tisdall i Oades, 1982.; Roberson i Firestone, 1992.) i stvara biofilm koji je koristan za rast i razvoj biljaka (Seneviratne i sur., 2011.). Tablica 1. pokazuje utjecaj različitih vrsta korisnih bakterija na biljke u uvjetima biotičkog i abiotičkog stresa. Kohler i sur. (2009.) su istražili utjecaj inokulacije *Pseudomonas mendocina* samog ili u kombinaciji s gljivom *Glomus intraradices* ili *Glomus mosseae* na rast i unos nutrijenata zelene salate u uvjetima pojačanog saliniteta. Salata je imala smanjen porast unatoč biološkom tretiranju. Inokulacija sa *P. mendocina* dala je više zelene biomase nego kontrolna skupina, pa su zaključili da određene PGPR jesu učinkovito sredstvo za ublažavanje salinitetnog stresa.

Tablica 1. Učinci inokulacije PGPR-a u uvjetima biotičkog i abiotičkog stresa (Nadeem i sur., 2013.)

Testirani usjev	Poželjna bakterija	Mehanizam	Odgovor biljke	Referenca
Suša/poplava				
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Streptomyces celicolor</i> , De07, <i>Solibaceus</i> , D10, <i>Sgeysirigenesis</i>	Proizvodnja fitohormona	D10 kultura povećala vigor sjemena i prinos	Yandigeri i sur. 2012.
<i>Capsicum anuumm</i>	<i>Achromobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Citrobacter</i> spp.	ACC deaminaza	20-60% veća dužina korijena i masa zelene biljke	Marasco i sur. 2012.
<i>Vigna radiata</i>	<i>Pfluorescens i Bacillus subtilis</i>	Katalaza/peroksidaza	Veća aktivost katalaze i peroksidaze u zelenoj biljci	Saravanakumar i sur. 2012.
<i>Pisum sativum</i>	<i>Pfluorescens type G.</i> , <i>Putida A.</i>	ACC deaminaza	Povećanje suhe tvari, dužine korijena i mladice, broja cvjetova po biljci, bolje korištenje vode	Zahir i sur. 2008.
Salinitet				
<i>Zea mays</i>	<i>Azotobacter</i> spp.	Fiksacija dušika, proizvodnja indol 3-octena kiselina	Povećana biomasa mladica i sadržaja polifenola 27%	Rojas-Tapias i sur. 2012.
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Nije opisan	Stimulira rast mladice do 32%, suhe tvari do 43% i ploda rajčice do 16%	Egamberdieva 2012.
Temperaturni stres				
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Burkholderia fitoformans</i>	Kolonizacija i proizvodnja metabolita	Bolja fotosinteza i regulira metabolizam ugljikohidrata	Fernandez i sur. 2012.a
<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Smarcensens</i>	Proizvodnja IAA, siderofora, topivost fosfora	Povećanje biomase biljke i unosa hrane kada raste pri niskim temperaturama	Selvakumar i sur. 2007.

*Pseudomonas aeruginosa* otporan je na biotski i abiotski stres (Gamalero i sur., 2008.). Paul and Nair (2008.) utvrdili su da *P. fluorescens* MSP-393 proizvodi proteine uvjetovane osmotskim stresom i time može nadvladati negativni utjecaj soli. *P.s putida* Rs-198 povećava klijavost, visinu biljke, masu svježe biljke i suhe tvari pamuka u uvjetima alkalne reakcije i visoke koncentracije soli povećanim unosom  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$ , kao i smanjenjem apsorpcije  $Na^{2+}$  (Anjum i sur., 2007.). Nekoliko bakterija iz roda *Pseudomonas* odgovorno je za toleranciju biljaka pomoću 2,4-diacetylfloroglucinola (Indragandhi i sur., 2008.). *Achromobacter piechaudii* povećava biomasu rajčice i paprike u uvjetima stresa zbog viška vode i pri dodatku 172 mM NaCl. Endofitna gljiva *Piriformospora indica* štiti biljku protiv stresa uzrokovanih salinitetom (Mayak i sur., 2004.b). Više autora je izvijestilo o utjecaju različitih bakterijskih vrsta na produljenje korijena i proizvodnju biomase inokulacijom PGPR koje imaju aktivnost 1-aminociklopropan-1-karboksilna kiselina (ACC) deaminaze u uvjetima stresa (Slika 3.) (Nadeem i sur., 2007., 2010.; Saravanakumar i Samiyappan 2007.; Tank i Saraf 2010.; Siddikee i sur. 2012.). Povećana proizvodnja osmoprotективnih tvari u uvjetima stresa osigurava održavanje unutrašnjeg vodenog potencijala za bolji unos vode i hranjivih tvari. Nadalje, djelovanjem arbuskularnih mikoriza i bakterija koje fiksiraju dušik pomažu leguminozama nadvladati stres zbog suše (Marasco i sur., 2012.; Yandigeri i sur., 2012.).



Slika 3. Utjecaj PGPR koje sadrže ACC deaminazu na rast korijena kukuruza u uvjetima salinitetnog stresa (Nadeem, 2013.)

Slično tome, prisutnost drugih svojstava kao što su indol-3-octena kiselina, proizvodnja siderofora, topivost fosfata, proizvodnja fitohormona povoljno djeluju na toleranciju stresa biljaka. proizvodnja antioksidativnih enzima štite biljku od štetnog utjecaja reaktivnih kisikovih radikala (Goswami, 2016.). Kao odgovor na stvaranje radikala biljka proizvodi antioksidativne enzime kao što su superoksid dismutaza, peroksid dismutaza, katalaza i glutation reduktaza (Arora i sur., 2002.). Inokulacija s korisnim mikroorganizmima pojačava aktivnost ovih enzima i pomaže im smanjiti utjecaj stresa (Fu i sur., 2010.).

## **6. FORMULACIJA MIKROBIOLOŠKIH PREPARATA**

Brojne vrste korisnih mikroorganizama imaju veliki potencijal da postanu biofertilizatori koji poboljšavaju rast biljaka i razvoj u normalnim uvjetima i uvjetima stresa. Uspješna inokulacija s korisnim mikroorganizmima rezultira boljim rastom biljaka i većom ekonomskom dobiti za poljoprivrednog proizvođača. Za učinkoviti transfer znanstvenih otkrića od laboratorija do polja važno je imati dobru tehnologiju proizvodnje pripravaka. Razvoj vrijedne formulacije je važan korak o kojem će ovisiti uspjeh ili promašaj PGPR. Zato je važno da proizvodnja mikrobioloških preparata ima kontrolu kvalitete ili odgovarajući protokol pripreme. Aktivni sastojak mikrobiološkog preparata je njegova vijabilna kultura. Neovisno o kojem se organizmu radi učinkovit preparat mora imati visoku razinu vijabilnosti i vigora (Lianski, 1985.). Važno je da mikroorganizmi ostanu metabolički i fiziološki aktivne kako bi dosegle maksimalni učinak (Lianski, 1985.). Drugi važan čimbenik u proizvodnji preparata je nosač. On je važan za stabilizaciju i zaštitu mikroorganizama za vrijeme skladištenja i transporta, on štiti aktivne sastojke od vanjskih uvjeta i pojačava njihovu aktivnost (Xavier i sur., 2004.; Deaker i sur., 2004.). U formulacijama mikrobioloških preparata koriste se različiti organski i anorganski nosači (Bashan i Levanony 1990., Bashan, 1998.). Organski nosači kao što je treset ima prednosti zbog visokog sadržaja organske tvari (Weiss i sur., 1987.). Istraživanja su potvrdila kako korištenje tvari koje imaju adhezivna svojstva, poput šećera, u sklopu predsjetvene bakterizacije sjemena soje, utječu na povećanje broja i mase suhe tvari kvržica po biljci, broja mahuna, mase 1000 zrna (Milaković i sur., 2012.). Korištenje anorganskih nosača dobra su strategija za povećanje učinkovitosti mikrobioloških preparata. Saharan i sur. (2010.) koristili su talk i prah alumosilikata kao učinkovit anorganski nosač. Uočili su da je ovojnica talka u mikrobiološkom preparatu bolja od one s alumosilikatom. Utvrđili su da sterilni i nesterilni nosači značajno povećavaju rast crnog graha (*Vigna mungo*) i pšenice (*Triticum aestivum*). Puno pažnje danas privlače preparati u granulama ili tekućem obliku. Za optimalnu nodulaciju preparati u granulama stavljuju se ispod ili pored sjemena odgovarajućom opremom ovisno o dubini sjetve i dostupnosti vode (Stephens i Rask, 2000.). S obzirom na jednostavnost upotrebe, tekući inokulanti sve su popularniji (Xavier i sur., 2004.).

## **7. ZAKLJUČAK**

Suvremeni pristup poljoprivrednoj proizvodnji u uvjetima rastućeg stanovništva jesu uporaba biofertilizatora koji poboljšavaju plodnost tla, povećavaju proizvodnost usjeva i smanjuju onečišćenje okoliša. Potrebno je poznavati i primjenjivati dosada poznate protokole u uporabi biofertilizatora kako bi njihova primjena bila učinkovitija. Svakodnevna nova otkrića u biotehnologiji mikroorganizama, poznavanje njihove interakcije s patogenim mikroorganizmima i genomici unaprijedit će postojeće načine izrade pripravaka i njihovu primjenu. Osim otkrića djelovanja pojedinih korisnih mikroorganizama vrsta valja poznavati i mehanizme djelovanja zbog kojih će se te vrste moći primijeniti u održivoj poljoprivredi. Posebnu pažnju treba posvetiti stvaranju takvih formulacija pripravaka kojima će se postići maksimalni učinak u iskoristivosti hranjivih tvari i povećanju otpornosti biljaka na stres i bolesti.

## 8. LITERATURA

1. Aeron, A., Kumar, S., Pandey, P., Maheshwari, D. K. (2011.): Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria. *Bacteria in Agrobiology: Crop Ecosystems*, 1-36.
2. Ahemad, M., Kibret, M. (2014.): Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26: 1–20.
3. Alexander, M. (1991.): *Introduction to soil microbiology*. 2nd ed. Malabar, FL: Krieger Publishing Company, 467.
4. Alexander, M. (1977.): *Introduction to soil microbiology* (2nd ed.). New York, NY: Wiley. 268.
5. Amara, U., Khalid, R., Hayat, R. (2015.): Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*, Springer International.
6. Angers, D. A., Recous, S., Aita, C. (1997.): Fate of carbon and nitrogen in water-stable aggregates during decomposition of <sup>13</sup>C<sup>15</sup>N-labelled wheat straw in situ. *European Journal of Soil Science*, 48: 295–300.
7. Anjum, M. A., Sajjad, M. R., Akhtar, N., Qureshi, M. A., Iqbal, A., Rehman, J. A., Mahmud-ul-Hasan (2007.): Response of cotton to plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation under different levels of nitrogen. *Journal of Agricultural Research*, 45: 135-143.
8. Antoun, H., Prevost, D., (2005.): Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, 1–38.
9. Appanna, V.D., Whitmore, L. (1995.): Biotransformation of zinc by *Pseudomonas fluorescens*. *Microbios*, 82: 149–155.
10. Arora, A., Sairam, R. K., Sriuastava, G. C. (2002.): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 82: 1227–1238.
11. Atieno, M., Herrmann, L., Okalebo, R., Lesueur, D. (2012.): Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 2541–2550.

12. Auld, B. A., McRae, C. F., and Say, M. M. (1988.): Possible control of *Xanthium spinosum* by a fungus. Agriculture, Ecosystems and Environment, 21: 219–223.
13. Auld, B. A., Say, M. M., Ridings, H. I., and Andrews, J. (1990.): Field applications of *Colletotrichum orbiculareto* control *Xanthium spinosum*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 32: 315–323.
14. Avis, T.J., Gravel, V., Antoun, H., Russell, J., Tweddell, R.J. (2008.): Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology & Biochemistry, 40:1733–1740.
15. Ayyadurai, N., Ravindra Naik, P., Sakthivel, N. (2007.): Functional characterization of antagonistic fluorescent pseudomonads associated with rhizospheric soil of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Microbiology and Biotechnology, 17:919–927.
16. Bashan, Y. (1998.): Inoculants of plant growth promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances, 16:729–770.
17. Bashan, Y., Levanony, H. (1990.): Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Canadian Journal of Microbiology, 36:591–608.
18. Belimov, A. A., Hontzeas, N., Safronova, V. I., Demchinskaya, S. V., Piluzza, G., Bullitta, S., Glick, B. R. (2005.): Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). Soil Biology and Biochemistry, 7: 241–250.
19. Benítez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C., Codon, A. C. (2004.): Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7:249–260.
20. Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., Tuteja, N. (2014.): Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity Microb Cell Factories 13: 1-10.
21. Bolton, H., Fredrickson, J.K., Elliot, L.F. (1992.): Microbial ecology of the rhizosphere. In: Blaine Metting F (ed) Soil microbial ecology. Marcel Dekker, New York, 27–63.
22. Carisse, O., Bernier, J., Benhamou, N. (2003.): Selection of biological agents from composts for control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum*. Canadian Journal of Plant Pathology, 25: 258–267.

23. Chandler, D., Davidson, G., Grant, W.P., Greaves, J., Tatchell, G.M. (2008.): Microbial biopesticides for integrated crop management: An assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends in Food Science and Technology*, 19:2 75-83.
24. Deaker, R., Roughley, R. J., Kennedy, I. R. (2004.): Legume seed inoculation technology – a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 36: 1275–1288.
25. Dileep Kumar, B. S. (1998.): Disease suppression and crop improvement through fluorescent *Pseudomonads* isolated from cultivated soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14: 735–741.
26. Drew, M. C., Hole, P. C., Picchioni, G. A. (1990.): Inhibition by NaCl of net CO<sub>2</sub> fixation and yield of cucumber. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115: 472–477.
27. Egamberdieva, D. (2012.): *Pseudomonas chlororaphis*: a salt-tolerant bacterial inoculant for plant growth stimulation under saline soil conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34: 751–756.
28. Fernandez, O., Theocharis, A., Bordiec, S., Feil, R., Jacquens, L., Clement, C., Fontaine, F., Ait Barka, E. (2012.a): *Burkholderia phytofirmans* PsJN acclimates grapevine to cold by modulating carbohydrate metabolism. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, 25: 96–504.
29. Fox, J. E., Gullede, J., Engelhaupt, E., Burow, M. E., McLachlan, J. A. (2007.): Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. *Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America*, 104: 10282-10287.
30. Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., Guo, B. (2010.): Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of egg plant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *Agricultural Water Management*, 97: 1994–2000.
31. Gamalero, E., Glick, B. R. (2015.): Bacterial Modulation of Plant Ethylene Levels. *Plant Physiology*, 169: 13–22.
32. Gan, P., Ikeda, K., Irieda, H., Narusaka, M., O'Connell, R. J., Narusaka, Y., i sur. (2013.): Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytologist Journal*, 197: 1236–1249.

33. Gerhardt, K., Huang, X. D., Glick, B. R., Greenberg, B. M. (2009.): Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. *Plant Science*, 176: 20–30.
34. Gholami, A., Biyari, A., Gholipoor, M., Rahmani, H. A. (2012.): Growth promotion of maize (*Zea mays* L.) by plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43: 1263–1272.
35. Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J. (2007.): Promotion of plant growth by ACC deaminase- producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 329–339.
36. Glick, B. R. (2012.): Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation Scientifica, 6: 1-15.
37. Glick, B. R. (2014.): Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169: 30–39.
38. Golchin, A., Oades, J. M., Skjemstad, J. O., Clarke, P. (1994.): Soil structure and carbon cycling. *Australian Journal of Soil Research*, 32: 1043–1068.
39. Goswami, D., Thakker, J. N., Dhandhukia, P. C. (2016.): Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food and Agriculture*, 2(1): 1-19.
40. Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., Thakker, J. N. (2014.): Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogaea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169: 66–75.
41. Goswami, D., Parmar, S., Vaghela, H., Dhandhukia, P., Thakker, J. (2015.): Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food and Agriculture*, 1(1), 1-13.
42. Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar, U., Bose, P., Sharma, V., Annapurna, K., (2011.): *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: Potential PGPR for sustainable agriculture. U. D. K. Maheshwari (ur.): *Plant growth nd health promoting bacteria*, Berlin, Springer-Verlag, 333-364.
43. Gravel, V., Antoun, H., Tweddell, R.J., (2007.): Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39:1968–1977.

44. Gravel, V., Martinez, C., Antoun, H., Tweddell, R.J., (2006.): Control of green house tomato root rot (*Pythium ultimum*) in hydroponic systems, using plant-growthpromoting microorganisms. Canadian Journal of Plant Pathology, 28: 475–483.
45. Grover, M., Ali, S. K. Z., Sandhya, V., Rasul, A., Venkateswarlu, B. (2011.): Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27: 1231–1240.
46. Gupta, V. V. S. R., Germida, J. J. (1988.): Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. Soil Biology and Biochemistry, 20: 777-786.
47. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004.): *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2: 43–56.
48. Heidari, M., Golpayegani, A. (2011.): Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 11: 57–61.
49. Indragandhi, P., Anandham, R., Kim, K., Yim, W. J., Madhaiyan, M., Sa, T. M. (2008.): Induction of defense responses in tomato against *Pseudomonas syringae* pv. tomato by regulating the stress ethylene level with *Methylobacterium oryzae* CBMB20 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24: 1037–1045.
50. Jacobson, C. B., Pasternak, J. J., Glick, B. R. (1994.): Partial purification and characterization. Canadian Journal of Microbiology, 40 (12): 1019-1025.
51. James, E. K. (2000.): Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. Field Crops Research, 65: 197–209.
52. Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, Jos-Miguel (2003.): The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, 37:1–16.
53. Jha, C. K. Saraf, M. (2015.): Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. Journal of Agricultural Research and Development, 5: 108–119.

54. Jha, C. K. Patel, B. Saraf, M. (2012.): Stimulation of the growth of *Jatropha curcas* by the plant growth promoting bacterium *Enterobacter cancerogenus* MSA2. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28: 891–899.
55. Topol, J., Kanižai Šarić, G. (2013.): Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. Agronomski glasnik, 2-3, 117-134.
56. Kanižai, G., Milaković, Z., Šeput, M., Bukvić, Ž., Kralik, D. (2007.): Effect of lucerne seed bacterization (*Medicago sativa* L.) on yield components in ecological cultivation. Cereal Research Comuunications, 35: 577-580.
57. Keyser, H. K., Somasegaran, P., Bohlool, B. B. (1992.): Rhizobial ecology and technology. In Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management (F. B. Metting Jr, ed.). Marcel Dekker, New York. 205-226.
58. Kleifeld, O., Chet, I. (1992.): *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil, 144:267–272.
59. Kloepper, J. W. Schroth, M. N. (1978.): Plant growthpromoting rhizobacteria on radishes. In Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Angers, 2: 879–882.
60. Kohler, J., Hernandez, J. A., Caravaca, F., Roldan, A. (2009.): Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany, 65: 245–252.
61. Kubicek, C. P., Mach, R. L., Peterbauer, C. K., Lorito, M. (2001.): *Trichoderma*: from genes to biocontrol. Journal of Plant Pathology, 83:11–23.
62. Lee, S. W., Ahn, I. P., Sim, S. Y., Lee, S. Y., Seo, M. W., Kim, S., Park, S. Y., Lee, Y. H., Kang, S. (2010.): *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossomend rot of tomato fruits in a hydroponic system. European Journal of Plant Pathology, 126:1-11.
63. Lianski, S. G. (1985.): Production and commercialization of pathogens. U: Biological pest control, Hussey H. N., Scopes N.. Blanford Press, Poole. 210–218.
64. Linderman, R.G., (1994.): Role of VAM fungi in biocontrol. In: Pfelger, F.L., Linderman, R.G. (Eds.), Mycorrhizae and Plant Health. APS Press, St. Paul, M.N., 1–25.

65. Liu, J., Maldonado-Mendoza, I., Lopez-Meyer, M., Cheung, F., Town, C.D., Harrison, M. J. (2007.): Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant Journal*, 50: 529–544.
66. Marasco, R., Rolli, E., Ettoumi, B., Vigani, G., Mapelli, F., Borin, S., Abou-Hadid, A.F., El-Behairy, U. A., Sorlini, C., Cherif, A., Zocchi, G., Daffonchio, D. (2012.): A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. *PLoS One* 7: 1-14.
67. Marek-Kozaczuk, M., Skorupska, A. (2001.): Production of B-group vitamins by plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and the importance of vitamins in the colonization and nodulation of red clover. *Biology and Fertility of Soils*, 33:146–151.
68. Marek-Kozaczuk, M., Deryło, M., Skorupska, A. (1996.): Tn5 insertion mutants of *Pseudomonas* sp. 267 defective in siderophore production and their effect on clover (*Trifolium pratense*) nodulated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Plant Soil*, 179: 269–274.
69. Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R. (2004.b): Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 565–572.
70. McNeil, J. (2011.): Fungi for the biological control of insect pests. <http://articles.extension.org/pages/18928/fungi-for-the-biological-control-of-insect-pests>; Penn State University (pristupljeno 2. rujna 2017. godine).
71. Menaria, B. L. (2007.): Bioherbicides: an eco-friendly approach to weed management. *Current Science*, 92: 10–11.
72. Mia, M. A .B., Shamsuddin, Z. H., Wahab, Z., Marziah, M. (2010.a): Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp. cv. ‘Berangan’). *Scientia Horticulturae*, 126: 80–87.
73. Milaković, Z., Kanižai Šarić, G., Veselovac, I., Kalajžić, I. J. (2012.): Djelotvornost adhezivnih sredstava u predsjetvenoj bakterizaciji sjemena soje. *Poljoprivreda*, 18 (1): 19–23.
74. Miller, R. M., Jastrow, J. D. (1992.): The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. U: Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Bethlenfalvay G. i Linderman R. G., American Society of Agronomy, Special Publication, Madison, 29-44.

75. Miller, R. M., Jastrow, J. D. (2000.): Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik, Y., Douds, D.D., eds. Arbuscular mycorrhizas: molecular biology and physiology. Dordrecht, the Netherlands, Kluwer Academic, 3–18.
76. Mortensen, K. (1988.): The potential of an endemic fungus, *Colletotrichum gloeosporioides*, for biological control of round-leaved mallow (*Malva pusilla*) and velvet leaf (*Abutilon theophrasti*). Weed Science Society of America, 36: 473–478.
77. Mosttafiz, S., Rahman, M., Rahman, M. (2012.): Biotechnology: Role Of Microbes In Sustainable Agriculture And Environmental Health. The Internet Journal of Microbiology, 10(1), 1-6.
78. Munns, R. (2005.): Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist Journal, 167: 645–663.
79. Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M., Asghar, H.N., Arshad, M. (2010.b): Rhizobacteria capable of producing ACC-deaminase may mitigate the salt stress in wheat. Soil Science Society of America Journal, 74: 533–542.
80. Nadeem, S. M., Naveed, M., Zahir, Z. A., Asghar, H. N. (2013.): Plant–Microbe Interactions for Sustainable Agriculture: Fundamentals and Recent Advances. U: Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances, Chapter: Plant–Microbe Interactions for Sustainable Agriculture: Fundamentals and Recent Advances, Springer, New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London, Naveen, K., Arora, 51-103.
81. Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Arshad, M. (2007.): Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. Canadian Journal of Microbiology, 53:1141–1149.
82. Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Ashraf, M. (2010.): Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 29: 360–393.
83. Naseby, D.C., Pascual, J.A., Lynch, J.M. (2000.): Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. Journal of Applied Microbiology, 88: 161–169.
84. Oades, J.M. (1984.): Soil organic matter and structural stability: Mechanisms and implications for management. Plant and Soil, 76: 319-337.

85. Oberson, A., Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P., Lüscher, A. (2013.): Nitrogen fixation and transfer in grassclover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil*, 371: 237–255.
86. Ogut, M., Er, F. (2006.): Micronutrient composition of field-grown dry bean and wheat inoculated with *Azospirillum* and *Trichoderma*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169: 699–703.
87. Pankhurst, C.E., Lynch, J.M. (1995.): The role of soil microbiology in sustainable intensive agriculture, CSIRO, Division of Soils, Glen Osmond, South Australia, 5064, Australia School of Biological Sciences, University of Surrey, Guildford, Surrey, UK.
88. Patel, K., Goswami, D., Dhandhukia, P., Thakker, J. (2015.): Techniques to study microbial phytohormones. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*. Springer International, 1–27.
89. Patten, C. L., Glick, B. R. (1996.): Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42: 207–220.
90. Paul, D., Nair, S. (2008.): Stress adaptations in a Plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of Basic Microbiology*, 48(5): 378-84.
91. Penyalver, R., Oger, P., Lopez, M. M., Farrand, S. K. (2001.): Iron binding compounds from *Agrobacterium* spp.: biological control stains *Agrobacterium rhizogenes* K84 produce a hydroxamate siderophore. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 654–664.
92. PMRA. (2006.): Re-evaluation of *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *malvae*. REV2006-10. Ottawa, Health Canada.
93. Ravindra Naik, P., Raman, G., Badri Narayanan, K., Sakthivel, N. (2008.): Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. *BMC Microbiology*, 8: 230.
94. Rillig, M. C., Steinberg, P. D. (2002.): Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 1371–1374.

95. Roberson, E., Firestone, M. (1992.): Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in soil *Pseudomonas* sp. Applied and Environmental Microbiology, 58: 1284–1291.
96. Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., Bonilla, R. (2012.): Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). Applied Soil Ecology, 61: 264–272.
97. Saharan, K., Sarmaa, M. V. R. K., Srivastava, R., Sharma, A. K., Johri, B. N., Prakash, A., Sahai, V., Bisaria, V. S. (2010.): Development of non-sterile inorganic carrier-based formulations of fluorescent pseudomonad R62 and R81 and evaluation of their efficacy on agricultural crops. Applied Soil Ecology, 46: 251–258.
98. Sandhya, V., Ali, S. K. Z., Grover M, Reddy G, Venkateswarlu B. (2009.): Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. Biology and Fertility of Soils, 46: 17–26.
99. Santaella, C., Schue, M., Berge, O., Heulin, T., Achouak, W. (2008.): The exopolysaccharide of *Rhizobium* sp. YAS34 is not necessary for biofilm formation on *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* roots but contributes to root colonization. Environmental Microbiology, 10: 2150–2163.
100. Saravanakumar, D., Samiyappan, R. (2007.): ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogaea*) plants. Journal of Applied Microbiology, 102: 1283–1292.
101. Saravanakumar, D., Kavino, M., Raguchander, T., Subbian, P., Samiyappan, R. (2012.): Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. Acta Physiologiae Plantarum, 33: 203–209.
102. Sardans, J., Penuelas, J., Ogaya, R. (2008.a): Drought-induced changes in C and N stoichiometry in a *Quercus ilex* Mediterranean forest. Forest Science, 54: 513–522.
103. Sardans, J., Penuelas, J., Ogaya, R. (2008.b): Drought's impact on Ca, Fe, Mg, Mo and S concentration and accumulation patterns in the plants and soil of a Mediterranean evergreen. Soilwater chemistry in a holm oak (*Quercus ilex*) forest, 87: 49–69.
104. Schisler, D.A., Howard, K.M., Bothast, R.J. (1991.): Enhancement of disease caused by *Colletotrichum truncatum* in *Sesbania exaltata* by coinoculating with epiphytic bacteria. Biological Control, 1 (4): 261-268.

105. Selosse, M.A., Richard, F., He, X., Simard, S.W. (2006.): Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses. *Trends in Ecology and Evolution*, 21: 621–628.
106. Selvakumar, G., Mohan, M., Kundu, S., Gupta, A. D., Joshi, P., Nazim, S., Gupta, H. S. (2007.): Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratia marcescens* strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (*Cucurbita pepo*). *Letters in Applied Microbiology*, 46:171–175.
107. Seneviratne, G., Weerasekara, M. L. M. A. W., Seneviratne, K. A. C. N., Zavahir, J. S., Lecskes, M. L., Kennedy, I. R. (2011.): Importance of biofilm formation in plant growth promoting rhizobacterial action. *Microbiology Monographs*, 18: 81–95.
108. Siddikee, M. K., Chauhan, A. P. S., Sa, T. (2012.): Regulation of ethylene biosynthesis under salt stress in red pepper (*Capsicum annuum* L.) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase- producing halotolerant bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31: 265–272.
109. Siddiqui, S., Siddiqui, Z.A., Iqbal, A. (2005.): Evaluation of fluorescent pseudomonads and *Bacillus* isolates for the biocontrol of wilt disease complex of pigeon pea. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21: 729–732.
110. Singh, N., Kumar, S., Bajpai, V. K., Dubey, R. C., Maheshwari, D. K., Kang, S. C. (2010.b): Biocontrol of *Macrophomina phaseolina* by chemotactic fluorescent *Pseudomonas aeruginosa* PN1 and its plant growth promontory activity in chirpine. *Crop Protection*, 29: 1142–1147.
111. Spaepen, S., Vanderleyden, J., Okon, Y. (2009.): Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Advances in Botanical Research*, 51: 283–320.
112. Srinivasan, K., Mathivanan, N. (2009.): Biological control of sunflower necrosis virus disease with powder and liquid formulations of plant growth promoting microbial consortia under field conditions. *Biological Control*, 51: 395–402.
113. Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K. (2004.): A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79: 7–31.
114. Six, J., Feller, C., Denef, K., Ogle, S.M., De Moraes, J.C., Albrecht, A. (2002.): Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – effects of no-tillage. *Agronomie*, 22: 755–775.

115. Smyth, E. M., McCarthy, J., Nevin, R., Khan, M. R., Dow, J.M., O'Gara, F., Doohan, F. M. (2011.): In vitro analyses are not reliable predictors of the plant growth promotion capability of bacteria; a *Pseudomonas fluorescens* strain that promotes the growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 111: 683–692.
116. Stacey, G., Burris, R. H., Evans, H. J. (Eds.). (1992.): Biological nitrogen fixation. Berlin: Springer Science and Business Media.
117. Stephens, J. H. G., Rask, H. M. (2000.): Inoculant production and formulation. *Field Crops Research*, 65: 249–258.
118. St-Arnaud, M., Hamel, C., Vimard, B., Caron, M., Fortin, J.A. (1996.): Enhanced hyphal growth and spore production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* intraradices in an in vitro system in the absence of host roots. *Mycological Research*, 100: 328–332.
119. Tank, N., Saraf, M. (2010.): Salinity resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*, 5: 51–58.
120. Tilak, K., Ranganayaki, N., Manoharachari, C. (2006.): Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeon pea (*Cajanus cajan*). *European Journal of Soil Science*, 57: 67–71.
121. Tisdall, J. M. (1991.): Fungal hyphae and structural stability of soil. *Australian Journal of Soil Research*, 29: 729–743.
122. Tisdall, J. M., Oades, J. M. (1982.): Organic matter and water stable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science*, 33: 141–163.
123. Vance, C.P. (1998.): Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects. In The Rhizobiaceae. Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Eds H.P.Spink, A.Kondorosi and P.J.J.Hooykaas. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 509–530.
124. Vessey, J. K. (2003.): Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571–586.
125. Weiss, L. G., Bennett, M. L., Paau, A. S. (1987.): Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient-supplemented vermiculite. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 2138–2140.

126. Whipps, J.M. (2004.): Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Canadian Journal of Botany, 82:1198–1227.
127. Xavier, I. J., Holloway, G., Legget, M. (2004.): Development of rhizobial inoculant formulations. Crop Management,  
<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/develop/> pristupljeno 27. srpnja 2017.
128. Xie, X., Zhang, H., Pare, P. W. (2009.): Sustained growth promotion in *Arabidopsis* with long-term exposure to the beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GB03). Plant Signaling & Behavior, 4: 948–953.
129. Yandigeri, M. S., Meena, K. K., Singh, D., Malviya, N., Singh, D. P., Solanki, M. K., Yadav, A. K., Arora, D. K. (2012.): Drought-tolerant endophytic actinobacteria promote growth of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress conditions. Plant Growth Regulation, 68: 411–420.
130. Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., Chet, I., (2001.): Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil, 235: 235–242.
131. Zahir, Z. A., Munir, A., Asghar, H. N., Shahroona, B., Arshad, M. (2008.): Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 958–963.