

Utjecaj bakterizacije sjemena na prinos voluminozne mase i bjelančevina lucerne (*Medicago sativa* L.)

Marcela ANDREATA-KOREN¹, Marina ČVEK¹, Zvezdana AUGUSTINOVIĆ¹, Marijana IVANEK-MARTINČIĆ¹, Sanja SIKORA²

¹Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, M. Demerca 1, 48260 Križevci, Hrvatska, (e-mail: mkoren@vguk.hr)

²Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za mikrobiologiju, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj bakterizacije različitim sojevima *Sinorhizobium meliloti*, četiri izolirana iz tala Hrvatske (Istarska i Koprivničko-križevačka županija) i referentnim sojem (Velika Britanija) na prinos suhe tvari i bjelančevina dva kultivara lucerne (OS 66 i Daisy). Istraživanje je vršeno u Križevcima, na kiselom tlu (4,81 pH 1M KCl) i u ekstremno vlažnoj godini. Vrijednosti ukupnih godišnjih prinosa suhe tvari bile su u rasponu od 12,85 (kultivar OS 66 x autohtoni soj) do 19,23 t/ha (kultivar OS 66 x referentni soj 2011), a vrijednosti godišnjih prinosa bjelančevina od 2520 (kultivar Daisy x autohtoni soj) do 4394 kg/ha (kultivar Daisy x referentni soj 2011). Nije bilo značajnih razlika među kultivarima ni u jednom istraživanom svojstvu, dok je primjena različitih sojeva *S. meliloti* rezultirala značajnim razlikama u prinosima i suhe tvari i bjelančevina lucerne. Značajno veće vrijednosti oba prinosa ostvarene su primjenom referentnog soja *S. meliloti* 2011 u odnosu na ostale varijante bakterizacije. Predsjetvenom bakterizacijom sa sojem 2011 postignut je za 28,9% veći prinos suhe tvari i za 34,9% veći prinos bjelančevina u odnosu na prinose utvrđene na ostalim varijantama, koje se međusobno nisu razlikovale. Rezultati jasno ukazuju da postoje značajne razlike u simbiotskoj učinkovitosti korištenih sojeva *S. meliloti* što izrazito potvrđuje značaj selekcije sojeva *S. meliloti* za predsjetvenu bakterizaciju lucerne.

Ključne riječi: lucerna, *Sinorhizobium meliloti*, prinos suhe tvari, prinos bjelančevina

The effect of rhizobial inoculation on forage and protein yield of alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of inoculation with different *Sinorhizobium meliloti* strains, four isolated from Croatian soils (Istria and Koprivnica-Križevci County) and a reference strain (Great Britain) on dry matter yield and protein yield of the two alfalfa cultivars (OS 66 and Daisy). The study was carried out in Križevci in acid soil (pH 4.81) in extremely wet year.

The values of total annual dry matter yield ranged from 12.85 (OS 66 cultivar x indigenous strain) to 19.23 t/ha (OS 66 cultivar x reference strain 2011), while the values of annual protein yield ranged from 2520 (Daisy cultivar x indigenous strain) to 4394 kg/ha (Daisy cultivar x reference strain 2011).

The investigated cultivars did not show any significant effect on the examined parameters, while the application of different *S. meliloti* strains resulted in considerable difference in dry

matter and protein yield of alfalfa. Significantly higher values of both yields were achieved by application of reference *S. meliloti* 2011 strain compared to other inoculation variants. Pre-seeding inoculation with 2011 strain resulted in 28.9% higher yield of dry matter and 34.9% higher protein content compared to yields of other variants which did not show any significant difference.

The results show that there are significant differences in symbiotic efficiency among the applied *S. meliloti* strains, which strongly confirms the importance of *S. meliloti* strain selection for pre-seeding alfalfa inoculation.

Key words: alfalfa, *Sinorhizobium meliloti*, dry matter yield, protein yield

Uvod

Na prinos biljaka utječe veliki broj čimbenika. Prinosi lucerne, iako je poznat njezin veliki genetski potencijal za proizvodnju biomase i bjelančevina (Frame, 2004, Nešić i sur., 2005), prilično variraju i to u zavisnosti od klime, tla, sorte, gnojidbe, stadija razvoja u vrijeme košnje, visine košnje i dr. (Bukvić i sur., 1997). Jedan od čimbenika je i opskrba dušikom. Budući da je lucerna leguminoza, u mogućnosti je koristiti dušik iz zraka posredstvom bakterije tla *Sinorhizobium meliloti* (Sikora i sur., 2004). Ovaj prirodni proces se nastoji što više intenzivirati putem predstetvene bakterizacije sjemena leguminoza učinkovitim sojevima njihovih mikrosimbionata (Sikora, 1996; Blažinkov i sur. (2008); Sikora i sur., 2010; Blažinkov i sur. (2012) i dr.).

Materijal i metode

Istraživanje je provedeno 2010. godine u Križevcima (Koprivničko-križevačka županija). Polovicom rujna 2009. godine zasnovan je dvofaktorijelan pokus po metodi slučajnog bloknoeg rasporeda u četiri ponavljanja. Veličina osnovne parcele iznosila je 12,5 m² (2,5 x 5 m). Faktori pokusa bili su: kultivar lucerne (OS 66 i Daisy) i sojevi *S. meliloti* (S) (nebakterizirana kontrola, referentni S 2011, četiri autohtona soja izolirana sa područja Istarske i Koprivničko-križevačke županije).

Tlo je bilo slabo humuzno (1,65%), dobro opskrbjeno dušikom (0,11%), a bogato do vrlo bogato pristupačnim fosforom i kalijem (23,7 mg P₂O₅ i 38,6 mg K₂O), kisele reakcije (pH u 1M KCl je 4,81, a u H₂O je 6,1).

Godina 2010. godina bila je ekstremno vlažna s izraženim maksimumom u lipnju i u rujnu. Temperature su bile u razini s višegodišnjim prosjekom.

Lucerna je košena u fazi pupanja do početka cvatnje, što je odgovaralo sljedećim datumima košnje: 14. svibnja, 25. lipnja, 22. srpnja, 26. kolovoza i 29. rujna. Neposredno prije svakog otkosa na površini od 5 m² utvrđivan je prinos svježe mase i uzimani su uzorci koji su sušeni na 105°C do konstantne mase, a dobiveni podaci koristili su za određivanje sadržaja suhe tvari, odnosno utvrđivanje prinosa suhe tvari po jedinici površine. Udio bjelančevina u voluminoznoj masi lucerne utvrđivan je na analizatoru NIRS Perten, DA 7200 na suhim uzorcima bez pripreme. Pomoću podataka za udio bjelančevina i prinos suhe tvari izračunat je prinos bjelančevina po jedinici površine.

Dobiveni rezultati obrađeni su statističkim programom SAS (SAS Institut, 1997).

Rezultati i rasprava

Prinos suhe tvari lucerne kroz pet otkosa prikazuje tablica 1.

Tablica 1. Prinos suhe tvari lucerne (t/ha), ovisno o kultivaru i soju *S. meliloti*

Sojevi	1. otkos			2. otkos			3. otkos			4. otkos			5. otkos		
	kultivar		Pros. Sojevi	kultivar		Pros. sojevi	kultivar		Pros. Sojevi	kultivar		Pros. sojevi	Kultivar		Pros. Sojevi
	OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy	
Kontrola	3,23	3,20	3,21 ^b	3,53	3,60	3,53 ^b	2,70	2,75	2,73 ^b	3,25	3,05	3,15 ^b	1,13	0,95	1,04 ^b
2011	5,50	6,38	5,94 ^a	5,00	5,10	5,05 ^a	3,38	2,83	3,10 ^a	4,13	3,45	3,79 ^a	1,23	1,23	1,23 ^a
144	3,15	3,43	3,29 ^b	3,63	3,60	3,61 ^b	2,75	2,50	2,63 ^b	3,23	2,63	2,93 ^b	1,15	0,90	1,03 ^b
69	3,05	3,78	3,41 ^b	3,80	4,05	3,93 ^b	2,78	3,00	2,89 ^{ab}	3,28	3,10	3,19 ^{ab}	1,03	1,00	1,01 ^b
93	2,73	3,50	3,11 ^b	3,30	3,90	3,60 ^b	2,60	2,68	2,64 ^b	3,20	3,05	3,13 ^b	1,03	1,05	1,04 ^b
23	3,25	2,95	3,10 ^b	3,38	3,25	3,33 ^b	2,73	2,45	2,59 ^b	2,93	2,88	2,90 ^b	1,08	0,83	0,95 ^b
Prosjeck kultivar	3,48	3,87*		3,77	3,92		2,82	2,70		3,33	3,03		1,11	0,99	
LSD _{5% soj}			0,58			0,734			0,35			0,6112			0,1608
LSD _{5%sojokultivar}			0,819			1,04			0,5			0,8644			0,2275

Tumač:*Signifikantno na razini 0,05; ns Nije signifikantno
Prosječne vrijednosti označene istim slovom nisu signifikantno različite

Uspoređujući podatke za prinose suhe tvari lucerne tijekom pet otkosa vidljivo je da se dva istraživana kultivara nisu razlikovala, osim u 1. otkosu kada je veći prinos suhe tvari izmjeren kod kultivara Daisy.

Iz pregleda utjecaja bakterizacije je vidljivo da je jedino soj S 2011 u svim otkosima bio, ili najbolji ili među najboljim varijantama bakterizacije kada se od njega nije razlikovao samo soj 69, odnosno predstjetvenom bakterizacijom tim sojevima izmjereni su najveći prinosi suhe tvari lucerne.

U tablici 2. su prikazani rezultati utvrđenih prinosa bjelančevina lucerne. Iz tablice se može vidjeti da su vrijednosti prinosa bjelančevina istovjetno rangirane kao i prinos suhe tvari. Naime, po prinosu bjelančevina ni u jednom otkosu nije bilo značajnih razlika među dva istraživana kultivara. Također je soj S 2011 tijekom pet otkosa bio najbolji ili među najboljim varijantama akterizacije, odnosno varijantama na kojima su utvrđeni najveći prinosi bjelančevina.

Tablica 2. Prinos bjelančevina lucerne (kg/ha), ovisno o kultivaru i soju *S. meliloti*.

Sojevi	1. otkos			2. otkos			3. otkos			4. otkos			5. otkos		
	Kultivar		Pros. sojevi	Kultivar		Pros. sojevi	kultivar		Pros. sojevi	Kultivar		Pros. sojevi	Kultivar		Pros. sojevi
	OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy		OS 66	Daisy	
Kontrola	504,4	552,3	528,3 ^b	551,7	653,9	602,8 ^b	615,9	591,0	603,4 ^{ab}	867,7	750,3	809,0 ^{ab}	324,0	301,7	312,8 ^b
2011	1269,1	1410,3	1339,7 ^a	875,7	953,6	913,6 ^a	708,5	640,5	674,5 ^a	1003,5	920,7	962,1 ^a	378,5	468,8	423,6 ^a
144	494,4	552,4	523,4 ^b	649,9	669,2	659,5 ^b	580,7	567,6	574,2 ^b	778,6	690,6	734,6 ^b	350,7	286,0	318,4 ^b
69	479,1	623,7	551,4 ^b	658,1	684,9	671,5 ^b	598,5	681,8	640,1 ^{ab}	860,6	769,3	814,9 ^{ab}	311,6	322,2	316,9 ^b
93	449,3	611,6	530,5 ^b	579,8	649,1	614,4 ^b	546,6	608,6	577,6 ^b	694,1	662,4	678,2 ^b	289,7	323,1	306,4 ^b
23	610,8	476,0	543,4 ^b	610,5	550,0	580,2 ^b	582,7	539,8	561,2 ^b	697,2	707,8	702,5 ^b	336,8	246,0	291,4 ^b
Prosjeck kultivar	634,5	704,4		654,3	693,4		605,5	604,9		816,9	750,2		331,9	324,6	
LSD _{5% soj}			159,1			145,6			82,96			194,5			66,64
LSD _{5%sojokultivar}			225			206			117,3			275,1			93,97

Tumač:*Signifikantno na razini 0,05; ns Nije signifikantno
Prosječne vrijednosti označene istim slovom nisu signifikantno različite

Ukupnu produkciju svježe mase, suhe tvari i bjelančevina tijekom 2010. godine prikazuje tablica 3.

Tablica 3. Godišnji prinosi suhe tvari (t/ha) i bjelančevina (kg/ha) lucerne, ovisno o kultivaru i soju *S. meliloti*

Sojevi	Suhe tvari (t/ha)			Bjelančevina (kg/ha)		
	Kultivar		Prosjek Sojevi	Kultivar		Prosjek Sojevi
OS 66	Daisy	OS 66		Daisy		
Kontrola	13,83	13,55	13,69 ^b	2863,5	2849,2	2856,3 ^b
2011	19,23	18,98	19,10 ^a	4233,3	4393,8	4313,5 ^a
144	13,90	13,05	13,48 ^b	2854,2	2765,8	2810,0 ^b
69	13,93	14,93	14,43 ^b	2907,9	3081,8	2994,9 ^b
93	12,85	14,18	13,51 ^b	2559,5	2854,8	2707,1 ^b
23	13,35	12,35	12,85 ^b	2837,9	2519,6	2678,7 ^b
Prosjek kultivar	14,51	14,50		3042,7	3077,5	
LSD _{5% soj}			1,605			427,2
LSD _{5%sojxkultivar}			2,27			604,2

Tumač:*Signifikantno na razini 0,05; ns Nije signifikantno
Prosječne vrijednosti označene istim slovom nisu signifikantno različite

Iz tablice 3 je vidljivo da su se vrijednosti ukupnih godišnjih prinosa suhe tvari kretale od 12,85 do 19,23 t/ha i godišnjih prinosa bjelančevina od 2520 do 4394 kg/ha. Zabilježeni prinosi su u relacijama prinosa koje navode i drugi autori u sličnom agroekološkom području (Nešić i sur., 2005; Stanisavljević i sur., 2006; Blažinkov i sur., 2008; Čupić i sur., 2008; Đukić i sur., 2008; Stjepanović i sur., 2009 i drugi).

Ni kod utvrđivanja ukupnih godišnjih prinosa suhe tvari lucerne niti kod prinosa bjelančevina nisu ustanovljene razlike među kultivarima. Izbor kultivara je svakako važan (Leto i sur., 2006; Maćešić i sur., 2007; Đukić i sur., 2008), međutim osim kultivara na visinu prinosa utječu, kao što je već rečeno, i drugi čimbenici. Prinos i kvaliteta lucerne rezultat su složene interakcije gena i okoline (Popović i sur., 2002).

Predsjetvenom bakterizacijom sa sojem 2011 postignut je značajno veći godišnji prinos, i suhe tvari i bjelančevina, u usporedbi s ostalim varijantama bakterizacije koje se međusobno nisu razlikovale po svom utjecaju na istraživane parametre u datim uvjetima. Tako je utvrđeno da je prinos suhe tvari bio za 5,1 t/ha (28,9%) i prinos bjelančevina za 1504,1 kg/ha (34,9%) veći na površinama gdje je sjeme lucerne bakterizirano sojem 2011 u odnosu na prosjek vrijednosti kontrole i ostalih sojeva.

Huić Babić i sur. (2008) navode da bakterizacija sjemena leguminoza s odabranim *rhizobia* bakterijama dovodi do povećanja prinosa lucerne. Visoku učinkovitost soja *S. meliloti* 2011 u uzgoju lucerne utvrdili su u našim uvjetima Blažinkov i sur. (2012).

Zaključak

Na osnovi jednogodišnjeg istraživanja utjecaja predsjetvene bakterizacije različitim sojevima *S. meliloti* na prinos suhe tvari i bjelančevina dva kultivara lucerne može se zaključiti:

Kultivari se nisu razlikovali ni po prinosu suhe tvari niti po prinosu bjelančevina po jedinici površine.

Dokazana je razlika u simbioznoj učinkovitosti sojeva *S. meliloti*, a najučinkovitijim sojem pokazao se soj S 2011.

Utvrđene značajne razlike ovisno o korištenom soju *S. meliloti* naglašavaju važnost selekcije sojeva kvržičnih bakterija koji će se koristiti za pripremu preparata za predsjetvenu bakterizaciju lucerne u određenim agroekološkim uvjetima.

Literatura

- Blažinkov M., Uher D., Redžepović S., Maćešić D., Čolo J., Štafa Z., Sikora S. (2012). Učinkovitost primjene bakterizacije u uzgoju lucerne na području Bjelovarsko-bilogorske županije. *Mljekarstvo* 62 (3): 200-206.
- Blažinkov M., Sikora S., Maćešić D., Uher D., Duraković L. (2008). The effect of rhizobial inoculation and liming on alfalfa production in Croatia. *Cereal Research Communications* (0133-3720) 36, 2S5/Part1: 343-346.
- Bukvić G., Stjepanović M., Popović S., Grljušić S., Lončarić Z. (1997). Utjecaj nekih agroekoloških čimbenika na prinos i kakvoću lucerne, *Poljoprivreda* 3(2): 1-10.
- Čupić T., Tucak M., Popović S., Andrić L. (2008). Proučavanje svojstava kakvoće lokalnih populacija lucerne, *Sjemenarstvo* 25(3-4): 171-178.
- Đukić D., Stevović V., Đurović D., Ilić O., Jerkov M. (2008). Yield, Nutritional and Medicinal Properties of Alfalfa. *Acta Agriculturae Serbica* 8(26): 85-95.
- Huić Babić K., Schauss K., Hai B., Sikora S., Redžepović S., Radl V., Schloter M. (2008). Influence of different *Sinorhizobium meliloti* inocula on abundance of genes involved in nitrogen transformations in the rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Environmental Microbiology* 10(11): 2922-2930.
- Frame J. (2004). Forage legumes for temperate grasslands. FAO Rome. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA; Plymouth, UK.
- Leto J., Knežević M., Bošnjak K., Vranić M., Perčulija G., Matic I., Kutnjak H., Miljanić Ž. (2006). Produktivnost, kemijski sastav i održivost lucerne na umjereno kiselom planinskom tlu. *Mljekarstvo* 56 (3) 269-283.
- Maćešić D., Uher D., Sikora S., Blažinkov M., Štafa Z. (2007). Yield and height of alfalfa (*Medicago sativa* L.) effected by rhizobial inoculation. *Cereal Research Communications* 35(2): 737-740.
- Nešić Z., Tomić Z., Žujović M., Krnjaja V. (2005). Proizvodne karakteristike domaćih sorti lucerke (*Medicago sativa* L.) u agroekološkim uslovima sremskog okruga. *Biotechnology in Animal Husbandry* 21(5-6-2): 169-174.
- Popović S., Grljušić S., Tucak M., Čupić T., Bukvić G. (2002). Mogućnosti i ograničenja oplemenjivanja kvalitete lucerne. *Poljoprivreda* 8(1): 33-38.
- Sikora S. (1996). Simbiozna učinkovitost prirodne populacije *Bradyrhizobium japonicum* izolirane iz nekih tala zapadne Slavonije. Disertacija, Agronomski fakultet Zagreb.
- Sikora S., Blažinkov M., Huić Babić K., Maćešić D., Pohajda I. (2010). Korisne mikrobne zajednice u održivom uzgoju leguminoza. *Perspektive gospodarsenja tlom u budućnosti / Husnjak, S. (ur.)*. Zagreb: Filedata d.o.o., 65-66. XI. Kongres hrvatskog tloznanstvenog društva, Plitvička jezera, 05.-08.07.2010.
- Sikora S., Redžepović S., Blažinkov M., Štafa Z., Maćešić D., Uher D. (2004). Učinkovitost primjene bakterizacije u uzgoju lucerne. *Savjetnički dani ratarstva HZPSS, Stubičke Toplice*, 22.01.2004.
- Stanisavljević R., Đukić D., Milenković J., Radović J., Lugić Z., Stevović V. (2006). Effect of cultivars and cuts on production and quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biotechnology in Animal Husbandry* 22: 781-790.
- Stjepanović M., Zimmer R., Tucak M., Bukvić G., Popović S., Štafa Z. (2009). Lucerna. Poljoprivredni institut, Osijek.

sa2015_p0512