

Učinkovitost primjene bakterizacije u uzgoju lucerne na području

Bjelovarsko-bilogorske županije

Mihaela Blažinkov^{1*}, Darko Uher², Sulejman Redžepović¹,
Dubravko Maćešić², Josip Čolo³, Zvonimir Štafa², Sanja Sikora¹

¹Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za mikrobiologiju,
Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

²Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja,
Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

³Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Sarajevu,
Zmaja od Bosne 5, 71000 Sarajevo, BiH

Prispjelo - Received: 26.09.2011.

Prihvaćeno - Accepted: 24.05.2012.

Sažetak

Razvoj stočarske proizvodnje kao i proizvodnja kvalitetnog mlijeka vezana je uz mogućnost dobivanja dostatnih količina kvalitetne, proteinski visokovrijedne krme. Kultura koja ima vodeće mjesto među krmnim leguminozama je lucerna. Cilj ovih istraživanja je utvrditi mogućnost proizvodnje lucerne na kiselim tlima uz primjenu mjere kalcifikacije i predstjetvene bakterizacije sjemena lucerne učinkovitim sojevima *Sinorhizobium meliloti* radi uštede na primjeni mineralnih dušičnih gnojiva te isplativije proizvodnje krme za potrebe mliječnih farmi. Poljski pokus postavljen je na obiteljskom gospodarstvu na području Bjelovarsko-bilogorske županije. Tijekom dvogodišnjeg istraživanja utvrđen je pozitivan utjecaj bakterizacije i kalcifikacije na postignute prinose zelene mase i suhe tvari. Značajno najniži prinosi utvrđeni su na netretiranim kontrolnim varijantama gdje nije korištena ni bakterizacija niti kalcifikacija. Na svim nebakteriziranim varijantama utvrđeni su značajno niži prinosi, no opravdane razlike u prinosima su utvrđene i između pojedinih sojeva što ukazuje na potrebu i značaj selekcije sojeva *S. meliloti* koji se primjenjuju za predstjetvenu bakterizaciju lucerne. Ukupni prinosi zelene mase u obje istraživane godine iznosili su od 34 t/ha (varijanta bez bakterizacije i bez kalcifikacije) do preko 60 t/ha (varijanta sa bakteriziranim sojem 2011 i bez kalcifikacije). Ukupni prinosi suhe tvari u iznosili su 6,5 t/ha (varijanta bez bakterizacije i bez kalcifikacije) do 15,7 t/ha na varijantama bakteriziranim sojem 2011 bez kalcifikacije u obje godine istraživanja. Rezultati ovih istraživanja potvrđuju pretpostavku da je za uspješan i dugotrajan uzgoj lucerne na ovim tlima neophodno otkloniti nepovoljnu reakciju tla obzirom da je mjera kalcifikacije imala značajan pozitivan učinak na sve ispitivane parametre u obje godine istraživanja. Isto tako, potvrđeno je da predstjetvena bakterizacija ima opravdanu primjenu u uzgoju lucerne na kiselim tlima te se uz selekciju sojeva prikladnih za određene ekološke uvjete doprinosi održivoj proizvodnji krme za potrebe mliječnih farmi.

Cljučne riječi: biološka fiksacija dušika, lucerna, bakterizacija, *S. meliloti*, kalcifikacija

Uvod

Kontinuirana proizvodnja kvalitetne, proteinski visokovrijedne krme tijekom cijele godine uvjet je za postojanje i razvoj stočarske proizvodnje jedne regije te je uvjet za proizvodnju kvalitetnog mlijeka (Štafa i Danjek, 1997). Dobro organiziranom proizvodnjom izbalansiranog obroka može se po jedinici

površine proizvesti krma kojom se namiruju potrebe stoke za proizvodnju od 10.000-12.000 L mlijeka s jednog hektara (Štafa i sur., 1994). Kultura koja ima vodeće mjesto među krmnim leguminozama je lucerna. Prednosti lucerne su višestruke: ima dugo razdoblje korištenja na oranici (4-5 godina), višenamjensko korištenje (u zelenom stanju, sijeno, silaža,

*Dopisni autor/Corresponding author: E-mail: mihaela@agr.hr

sjenaža), no prvenstveno je značajna što daje do 2500 kg/ha visokovrijednih proteina koji po aminokiselinskom sastavu sličje proteinima životinjskog porijekla (Maćešić i sur., 2007). Osim navedenih prednosti, lucerna je visoko isplativa kultura i u pogledu uštede energije (Zahran, 1999) i upotrebe dušičnih mineralnih gnojiva. Naime, za postizanje visokih prinosa i sadržaja proteina, potrebno je osigurati sigurne izvore dušika, a upravo lucerna veći dio potreba za dušikom može namiriti biološkom fiksacijom plinovitog dušika iz atmosfere posredstvom kvržičnih bakterija (Strunjak i Redžepović, 1986)

Međutim, lucerna može zadovoljiti većinu potreba za dušikom samo ako ostvari simbiozni odnos s visoko učinkovitim, kompatibilnim sojevima kvržičnih bakterija. U takvom simbioznom odnosu može se vezati do 300 kg/ha dušika godišnje (Legocki i sur., 1997). Ekološki čimbenici tla kao što su nepovoljni pH, niski sadržaj organske tvari u tlu i drugi faktori mogu negativno djelovati na preživljavanje sojeva kvržičnih bakterija pa u tlima često nisu dovoljno zastupljene populacije upravo tih željenih visoko učinkovitih sojeva (Sikora i Redžepović, 2000; Slattery i sur., 2004). U takvim uvjetima, pri sjetvi lucerne, preporučuje se predstjetvena bakterizacija sjemena sa selekcioniranim, učinkovitim sojevima kvržičnih bakterija (Kuykendall i sur., 1994; Gandee i sur., 1999; Bradić i sur., 2003; Maćešić i sur., 2007; Komesarović i sur., 2007; Sikora i sur., 2008; Blažinkov i sur., 2008). Bakterizacija sjemena lucerne predstavlja u ekonomskom i ekološkom pogledu važnu agrotehničku mjeru jer primjena učinkovitih sojeva *S. meliloti* smanjuje na minimum upotrebu dušične gnojidbe, umanjuje troškove proizvodnje kvalitetne proteinske krme potrebne za razvoj stočarstva i pojeftinjuje dobivanje poljoprivrednog proizvoda na tržište. Sve to u interesu je poljoprivrednog proizvođača kako bi i troškovi proizvodnje mlijeka i mesa bili niži, pa se stoga korištenje alternativnih izvora energije (Jones, 1998) kao i aktiviranje i korištenje bioloških procesa pokazalo kao nužnost u razvoju održive i ekonomski isplative poljoprivredne proizvodnje (Legocki i sur., 1997).

Iz svega navedenog vidljiv je značaj lucerne kao krmne leguminozne kulture te sve prednosti koje ima u pogledu zadovoljavanja potreba stočarskog fonda. Međutim, ograničenje za uzgoj lucerne može nastati uslijed nepovoljnih klimatskih ili/i pedoloških karakteristika navedenog uzgojnog područja. Po-

sebn je izražen problem njenog uzgoja na kiselim tlima (Butorac i sur., 1988; Grewal i Williams, 2003). U takvim uvjetima se postavlja pitanje održivosti introduciranih visokoučinkovitih sojeva *S. meliloti* te ostvarivanje njihove simbiozne učinkovitosti. Dakle problem je višestruki: potreba za kvalitetnom krmom koju daje lucerna, ograničenje koje pružaju prirodni uvjeti za njen uzgoj kao i problemi bakterizacije odnosno uštede koju ona nosi na navedenim tlima.

Stoga je cilj ovih istraživanja provjeriti mogućnost uzgoja lucerne na kiselom tlu uz primjenu predstjetvene bakterizacije sjemena lucerne učinkovitim sojevima kvržičnih bakterija (*S. meliloti*) te primjenu različitih materijala za kalcifikaciju kojima bi se reducirala kiselost tla. U tu svrhu su uzeti komercijalni visokoučinkoviti sojevi kvržičnih bakterija *S. meliloti* koji se primjenjuju u drugim zemljama kako bi se provjerila njihova simbiozna učinkovitost u nepovoljnim ekološkim uvjetima. Korišteni su i različiti materijali za uklanjanje suvišne kiselosti tla kako bi se utvrdila njihova kompatibilnost s mjerom bakterizacije i učinkovitost u navedenim ekološkim uvjetima.

Materijal i metode rada

Dvogodišnje istraživanje je provedeno na lesiviranom tlu na području središnje Hrvatske, odnosno Bilogorske regije. Poljski pokusi postavljeni su na tlu kisele reakcije pH 5,0 (M-KCl). Tlo je slabo humusno sa 2,1 % humusa, slabo opskrbljeno fiziološki aktivnim fosforom (6,8 mg P_2O_5 /100 g tla), osrednje opskrbljeno s fiziološki aktivnim kalijem (11,4 mg K_2O /100 g tla), bogato opskrbljeno ukupnim dušikom u iznosu od 0,24 %, a hidrolitski aciditet y_1 je 11,5 (Škorić, 1991). Mikropokus je postavljen po shemi slučajnog bloknoeg rasporeda u 4 repeticije s veličinom osnovne parcelice 12,5 m² (2,5m x 5m). Istraživani su sljedeći faktori pokusa:

1. bakterizacija sjemena lucerne s različitim sojevima *S. meliloti*: sojevi D 469, D 528 (Culture Collection of Rhizobium - Praha), soj 2011 (Institute of Grassland & Environmental Research - Dyfed) i nebakterizirane kontrole varijante (B0),
2. različita sredstva za kalcifikaciju: meki vapnenac (oznaka $CaCO_3$) 10 t/ha; Agrarvital (specijalni prirodni supstrat na bazi zeolita, oznaka AV) - 2t/ha i nekalcificirane kontrolne varijante.

Tablica 1. Utjecaj bakterizacije i kalcifikacije na prinos zelene mase po otkosima i ukupnim prinosima tijekom istraživanog razdoblja (t/ha)

Faktori pokusa		Košnja				Ukupna prinos u godini					
Bakterizacija (B)	Kalcifikacija (K)	Ukupna prinos u godini				Ukupna prinos u godini					
		1. otkos	2. otkos	3. otkos	4. otkos	1. otkos	2. otkos	3. otkos	4. otkos		
B ₀	bez Ca	14,81	6,13	5,50	4,56	34,01	14,81	9,25	7,38	3,92	35,36
	CaCO ₃	27,56	14,63	12,19	4,62	59,00	24,06	10,56	11,00	5,23	50,86
	AV	20,33	9,13	8,94	4,75	43,14	24,37	9,93	9,56	3,50	47,37
D469	bez Ca	27,87	10,94	9,94	5,69	54,44	26,56	13,69	14,00	5,10	59,35
	CaCO ₃	28,25	13,06	13,0	5,94	60,26	27,50	13,38	12,69	4,38	57,95
	AV	21,69	10,06	12,5	5,94	50,19	24,00	14,56	10,56	3,78	52,91
D528	bez Ca	16,75	8,75	8,94	5,06	39,50	22,56	11,81	10,81	4,38	49,57
	CaCO ₃	28,06	14,12	12,94	5,31	60,44	26,19	13,56	12,06	6,10	57,91
	AV	27,63	12,75	10,06	5,12	55,56	24,50	12,89	12,43	5,6	55,43
2011	bez Ca	29,88	13,50	11,94	6,13	61,44	27,81	13,81	12,75	5,92	60,30
	CaCO ₃	27,88	14,94	10,88	5,69	59,38	27,69	14,19	10,75	5,04	57,67
	AV	26,94	13,94	11,81	5,94	58,63	28,70	10,81	11,69	5,09	56,28
*LSD _{0,05}		3,92	3,58	2,92	1,27	LSD _{0,05} = 8,42	4,9	4,02	3,6	NS	LSD _{0,05} = 10,42

*LSD_{0,05} (BxK) za prinos zelene mase pojedinačnih otkosa i ukupnog godišnjeg prinosa zelene mase u pojedinim godinama

Doze materijala za kalcifikaciju su izračunane na osnovi analize tla i preporuka iz radova Butorac i sur. (1988; 2002). Na osnovi rezultata analize tla dodano je 40 kg ha⁻¹ N, 114 kg ha⁻¹ P i 171 kg ha⁻¹ K hranjiva. Sjetva je obavljena sa inokuliranim i neinokuliranim sjemenom sorte OS-88 (kreirana u Poljoprivrednom Institutu Osijek). Tijekom pokusa praćen je prinos zelene mase i sadržaj suhe tvari. Košnja lucerne obavljena je četiri puta godišnje tijekom dvije godine istraživanja. Lucerna je košena na visini 5 cm u fazi početka cvatnje. Prinosi zelene mase utvrđeni su na parceli poljskom vagom za svaku varijantu i repetitiju te su preračunati na hektar. Sadržaj suhe tvari utvrđen je iz prosječnog uzorka zelene mase za svaku varijantu sušenjem na 105 °C, a potom je preračunat u prinos suhe tvari po hektaru. Dobiveni rezultati vegetacijskog pokusa obrađeni su analizom varijance, a razlike između srednjih vrijednosti testirane su LSD testom za prag značajnosti p = 0,05.

Rezultati i rasprava

Rezultati prinosa zelene mase za obje godine istraživanja prikazani su za vrijednosti kombinacija faktora pokusa svakog otkosa i za ukupnog prinosa zelene mase u obje godine istraživanja (Tablica 1). Faktori pokusa kao i njihove međusobne interakcije imale su u obje godine istraživanja značajan utjecaj na ukupan godišnji prinos zelene mase kao i na prinose zelene mase pojedinih otkosa.

U prvoj godini istraživanja sagledavanjem interakcijskih odnosa vidljivo je da oba istraživana faktora zajednički imaju utjecaj na ukupan prinos zelene mase, jer su prinosi na parcelama bez bakterizacije i kalcifikacije (kombinacija B0 bez Ca) bili signifikantno najniži (34,01 t/ha). Na nebakteriziranim varijantama (B0) značajno najviši ukupni prinosi zelene mase ostvareni su kod varijanata koje su kalcificirane u odnosu na varijante bez kalcifikacije. Isto tako na parcelama bez bakterizacije postoje razlike u prinosima zelene mase ovisno o korištenom materijalu za kalcifikaciju, odnosno značajno viši prinosi zelene mase dobiveni su na parcelama na kojima je primijenjen meki vapnenac (59,00 t/ha) u odnosu na parcele na kojima je primijenjen Agrarvital

(43,14 t/ha). Faktor kalcifikacije nije imao utjecaja na varijante koje su bakterizirane sojem 2011, jer nije bilo razlike u prinosima zelene mase između kalcificiranih i kontrolnih varijanata. U pogledu prinosa zelene mase kroz pojedine otkose uočljivo je da su u 1. otkosu ostvareni značajno najviši prinosi zelene mase u odnosu na ostale prinose.

U drugoj godini istraživanja također je utvrđeno kako su faktori pokusa značajno utjecali na ukupan prinos i prinose pojedinačnih otkosa (tablica 1). U pogledu ukupnih godišnjih prinosa značajno najniži prinosi dobiveni su na parcelama koje nisu bakterizirane ni kalcificirane (35,36 t/ha) u odnosu na sve ostale prinose po kombinacijama. Također su uočene značajne razlike u prinosima zelene mase na varijantama bez bakterizacije, odnosno na navedenim parcelama značajno viši prinosi zelene mase ostvareni su uz primjenu materijala za kalcifikaciju u odnosu na parcele bez kalcifikacije. Na varijantama koje su bile bakterizirane sojevima 2011 i D468 nije bilo razlika u prinosima zelene mase bez obzira da li je primijenjen neki od materijala za kalcifikaciju ili nije obavljena kalcifikacija. U pogledu prinosa zelene mase po pojedinim otkosima, najveći prinosi su ostvareni u prvom otkosu u kojem su i najizraženije razlike u kombinacijama. U četvrtom otkosu nije bilo opravdanih razlika u prinosima zelene mase među varijantama.

Rezultati istraživanja za prinos suhe tvari za obje godine istraživanja prikazani su u tablici 2. U obje godine istraživanja utvrđen je značajan utjecaj faktora pokusa kao i njihovih interakcija na ukupni prinos suhe tvari kao i na prinose pojedinih otkosa. Dio rezultata prikazan je i u radu Blažinkov i sur. (2008), a u ovom radu prikazane su i opravdane razlike u prinosima suhe tvari kroz pojedine otkose. Značajno najniži ukupni prinosi suhe tvari postignuti su na parcelama bez bakterizacije i bez kalcifikacije u obje godine istraživanja. U prvoj godini ukupni prinos suhe tvari na nebakteriziranim i nekalcificiranim varijantama iznosio je 6,47 t/ha, a najviši ukupni prinos suhe tvari ostvaren na varijanti koja je kalcificirana s vapnencem i bakterizirana sojem D528 (13,57 t/ha). Na varijantama bez bakterizacije značajno viši ukupni prinosi suhe tvari ostvareni su na parcelama na kojima su korišteni materijali za kalcifikaciju u odnosu na parcele na kojima nije bilo kalcifikacije. Kod varijanata koje su bakterizirane sojem 2011 nije bilo razlika u prinosima suhe tvari bez obzira na pri-

mjenu materijala za kalcifikaciju ili bez kalcifikacije. Najznačajnije razlike u prinosu suhe tvari među kombinacijama utvrđene su u prvom otkosu te se interpretacija podataka poklapa s razlikama u ukupnim prinosima suhe tvari za prvu godinu istraživanja. U zadnjem otkosu značajno najniži prinos suhe tvari ostvaren je na ne bakteriziranim i nekalcificiranim varijantama (1,18 t/ha) u odnosu na sve varijante koje su bakterizirane sojem D469 bez kalcifikacije (1,765 t/ha) i uz kalcifikaciju s mekim vapnencem (1,695 t/ha). U drugoj godini istraživanja najviši ukupni prinos je ostvaren na nekalcificiranoj varijanti koja je bakterizirana sojem 2011 (15,71 t/ha), a statistički značajno najniži ukupni prinosi suhe tvari su dobiveni na varijantama bez bakterizacije i kalcifikacije (9,04 t/ha) u odnosu na sve ostale varijante. Varijante koje su bakterizirane sojem D469 nisu reagirale na primjenu materijala za kalcifikaciju jer nije bilo razlika u ostvarenim prinosima suhe tvari između kalcificiranih i nekalcificiranih varijanata.

Područje na kojem je provedeno istraživanje poznat je stočarski kraj čije se gospodarstvo temelji na proizvodnji mlijeka i mesa kao sirovina za prehrambenu industriju. Bitan preduvjet za razvoj stočarstva je proizvodnja ratarskih kultura namijenjenih stočarstvu. Lucerna kao jedna od vodećih krmnih leguminoza ima ograničen uzgoj na navedenom području jer niske pH vrijednosti u tlu ograničavaju njenu proizvodnju, prinose, kvalitetu i višegodišnju održivost (Segundo i sur., 1999). Optimalna reakcija tla za uzgoj lucerne je pH 6,5-7,5 (Grewal i Williams, 2003) pa je problem uzgoja lucerne na kiselim tlima prepoznat je od strane mnogih autora (Butorac i sur., 1988; Segundo i sur., 1999; Grewal i Williams, 2003; Latta i sur., 2002; Karalić i sur., 2007; Popović i sur., 2007; Blažinkov i sur., 2008) koji predlažu da se u tu svrhu koriste sorte lucerne koje su otporne na niske pH vrijednosti i/ili provođenje mjere kalcifikacije. Osim toga, predstjevena bakterizacija lucerne na navedenim tlima također je ograničena jer su sojevi vrste *S. meliloti* izrazito osjetljivi na niske pH vrijednosti (Bromfield i sur., 1986). Mnogi autori (Howieson i sur., 1988; Segundo i sur., 1999; Latta i sur., 2002; Zeng i sur., 2007; Blažinkov i sur., 2008) navode da se u tu svrhu koriste sojevi koji su tolerantni na niske pH vrijednosti tla jer smatraju da samo takvi mogu osigurati uspješan simbiozni odnos. U našoj zemlji o problemu uzgoja lucerne na kiselim lesiviranim akričnim tlima

Tablica 2. Utjecaj bakterizacije i kalcifikacije prinos suhe tvari (t/ha) u istraživanom razdoblju

Faktori pokusa		Košnja				Ukupan prinos u godini				
Bakterizacija (B)	Kalcifikacija (K)	Košnja				Ukupan prinos u godini				
		1. otkos	2. otkos	3. otkos	4. otkos	1. otkos	2. otkos	3. otkos	4. otkos	
B ₀	bez Ca	2,71	1,398	1,185	1,180	6,472	2,210	1,968	1,025	9,04
	CaCO ₃	3,358	2,252	2,110	1,657	9,378	2,235	2,765	1,485	13,54
	AV	3,340	2,162	1,650	1,308	8,460	2,580	2,635	1,328	13,22
D469	no Ca	4,815	3,058	2,405	1,765	12,04	3,147	3,763	1,300	14,02
	CaCO ₃	5,055	3,515	3,240	1,695	13,51	3,018	3,395	1,192	14,34
	AV	4,637	3,898	2,395	1,515	12,44	3,335	2,967	1,357	14,18
D528	bez Ca	3,013	2,475	2,093	1,348	8,927	2,748	3,333	1,170	13,23
	CaCO ₃	5,155	3,817	3,205	1,390	13,57	3,363	3,348	1,615	14,93
	AV	4,415	3,335	2,515	1,400	11,66	2,803	3,945	1,468	13,74
2011	bez Ca	5,200	3,535	2,540	1,503	12,78	3,280	3,337	1,600	15,71
	CaCO ₃	5,140	3,773	2,885	1,528	13,32	3,358	3,203	1,310	14,40
	AV	4,627	3,313	3,168	1,497	12,60	2,548	3,060	1,155	13,60
<i>BxK LSD</i> _{0,05}		LSD=0,55	LSD=0,87	LSD=0,63	LSD=0,483	LSD=1,45	LSD=1,43	LSD=0,53	LSD=0,41	LSD=1,83

Korduna uz primjenu predstetvene bakterizacije lucerne govori se u radu Butorac i sur. (1988). Autori su nakon 4-godišnjih istraživanja došli do zaključka o neophodnosti primjene mjere kalcifikacije tla kako bi se stvorili preduvjeti za efikasno djelovanje bakterizacije, jer će u protivnom mjera bakterizacije biti neučinkovita. Isti autori navode da se na kiselim tlima, uz uvjet da se primjenjuje kalcifikacija, mogu postići visoki prinosi sijena lucerne (do 14 t/ha). U ovom istraživanju procijenjena je mogućnost uzgoja lucerne na kiselom tlu uz primjenu različitih sojeva *S. meliloti* za predstetvene bakterizacije sjemena lucerne te primjenom različitih sredstava za kalcifikaciju kojima bi se reducirala kiselost tla.

Rezultatima istraživanja utvrđeno je da zajednička primjena mjera kalcifikacije i bakterizacije može ostvariti visoke prinose zelene mase i suhe tvari lucerne na kiselim tlima. U obje godine istraživanja značajno najniži ukupni prinosi utvrđeni su na parcelama bez primjene bakterizacije i kalcifikacije. U ovom istraživanju je također potvrđeno da primjena sredstava za kalcifikaciju omogućuje uzgoj lucerne na kiselom tlu (Grewal i Williams, 2003; Karalić i sur., 2007; Popović i sur., 2007). Mjera kalcifikacije pozitivno utječe na ukupne prinose zelene mase, posebno kalcifikacija s vapnencem koji ima značajan utjecaj na prinos u obje godine istraživanja u usporedbi s parcelama bez kalcifikacije. U drugoj godini taj visoko pozitivan utjecaj vapnenca je nešto manje izražen jer je i Agrarvital imao utjecaj na prinos. Učinak Agrarvitala je značajno niži u prvoj godini u odnosu na učinak vapnenca, odnosno utvrđeno je kako Agrarvital ima sporije djelovanje na promjene reakcije tla. Iste spoznaje zaključene su i u radu Butorac i sur. (1988). Parcele koje su kalcificirane s vapnencem i bakterizirane (bez obzira na korišteni soj) imaju najviše prinose suhe tvari u obje godine istraživanja. Primjena predstetvene bakterizacije lucerne iskazuje svoju učinkovitost jer ostvaruju se i značajni prinosi zelene mase i suhe tvari što samo još potvrđuje prednost bakterizacije kao primjenjive agrotehničke mjere. Osim toga, u istraživanju je potvrđeno kako postoje razlike u prinosima na bakteriziranim varijantama ovisno o korištenom *S. meliloti* soju. Tijekom istraživanja bakterizacija sojem 2011 je i bez kalcifikacije ostvarila visoke prinose zelene mase i suhe tvari što ide u prilog soju 2011 koji bi se mogao smatrati sojem tolerantnim na niske pH vrijednosti tla što

je bitan podatak za proizvođače inokuluma. Učinak navedenog soja posebno je došao do izražaja u prvoj godini istraživanja. U drugoj godini istraživanja razlike u ukupnim i pojedinačnim prinosima suhe tvari i zelene mase između korištenih sojeva, sredstava za kalcifikaciju te njihovih interakcijskih odnosa su manje izražene. U ovom radu dan je pregled kako se prinos suhe tvari u obje godine istraživanja kretao po otkosima. Najviši prinosi suhe tvari postignuti su u prvom otkosu, a isto tako su razlike u prinosima između faktora pokusa kao i njihovih interakcija najizraženije upravo u prvim otkosima.

Zaključci

Rezultati ovih istraživanja ukazuju na opravdanu mogućnost uzgoja lucerne na kiselim tlima uz primjenu kalcifikacije i predstetvene bakterizacije sjemena. Kao ekonomična mjera koja će osigurati jeftiniju proizvodnju krme, bakterizacija je potpuno moguća na navedenim uvjetima tlima, ali s prikladnim sojevima *S. meliloti* koji su tolerantni na kiselu reakciju. Rezultati istraživanja ukazuju kako soj 2011 posjeduje tolerantnost na niske pH uvjete u tlu te bi se mogao primjenjivati za predstetvenu bakterizaciju lucerne na takvim tlima. Rezultati ovih istraživanja također potvrđuju da je za uspješan i dugotrajan uzgoj lucerne na ovim tlima neophodno otkloniti nepovoljnu reakciju tla te je mjera kalcifikacije imala značajan pozitivan učinak na svim ispitivanim parametrima u obje godine istraživanja.

Effectiveness of inoculation in alfalfa breeding in ecological conditions of the Bjelovar and Bilogora county

Summary

Development and basic existence of animal production as well as production of high quality milk depends upon possibility of sufficient production of quality and protein sufficient forage. Forage crop that satisfies these demands is alfalfa which is one of the most important perennial forage crop legumes. The aim of this study was to enhance alfalfa production on acid soil by liming and alfalfa seed inoculation with efficient *Sinorhizobium meliloti* strains in order to reduce the use of mineral nitrogen fertilization and enable qualitative and cost effective

production of forage on the dairy farms. Field trial was established at family farm in the area of Bjelovar and Bilogora county. During two years experimental period statistically significant influence of inoculation and liming on forage and dry matter yield was determined. Significantly the lowest yields were determined on untreated plots without liming material. In all untreated plots, significantly lower yields were determined, but significant differences in yields were also obtained by inoculation with different *S. meliloti* strains, emphasizing the importance of strains selection used for alfalfa inoculation. In both experimental years total forage yield were ranging from 34 t/ha (untreated plots without liming) up to 60 t/ha on plots inoculated with strain 2011 and without liming. Values of total dry matter yield for both experimental years ranged from 6.5 t/ha (untreated plots without liming) up to 15,7 t/ha on plots inoculated with strain 2011 without liming. Results of this study showed that application of liming materials for acidity removal had positive effect on alfalfa yields in both experimental years and significantly improved alfalfa production on acid soils. The results of this study clearly showed that inoculation with selected *S. meliloti* strains may improve alfalfa production on acid soils and may contribute to more efficient forage production for dairy farms under particular agroecological conditions.

Key words: biological nitrogen fixation, alfalfa, inoculation, *S. meliloti*, liming

Literatura

1. 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* 36, S5/Part1; 343-346.
2. Bradić, M., Sikora, S., Redžepović, S., Štafa, Z. (2003): Genetic identification and symbiotic efficiency of an indigenous *Sinorhizobium meliloti* field population. *Food Technol. Biotechnol.* 41, 69-75.
3. Bromfield, E.S.P., Sinha, I.B., Wolynetz (1986): Influence of location, host cultivar and inoculation on the composition of naturalized population of *Rhizobium meliloti* in *Medicago stiva* nodules. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1077-1084.
4. Butorac, A., Bašić, F., Redžepović, S., Vasilj, Đ. (1988): Istraživanje mogućnosti uzgoja lucerne (*Medicago sativa* L.) na lesiviranim akričnim tlima niskog pokrivenog krša. *Posebna otisak iz Poljoprivredne znanstvene smotre* 53 (1-2), 5-21.

5. Butorac, A., Filupan, T., Bašić, F., Mesić, M., Kisić, I. (2002): The influence of special natural amendments based on zeolite tuff and different lime materials on some soil chemical properties. *Rostlinna výroba* 48, 133-139.
6. Gande, C.M., Harrison, S.P., Davies, W.P. (1999): Genetic characterization of naturally occurring *Rhizobium meliloti* populations and their potential to form effective symbioses with lucerne. *Letters in Applied Microbiology* 28 (3), 169-174.
7. Grewal, H.S., Williams, R. (2003): Liming and cultivars affect root growth, nodulation, leaf to stem ratio, herbage yield and elemental composition of alfalfa on acid soil. *Journal of Plant Nutrition* 26 (8), 1683-1696.
8. Howieson, J.G., Ewing, M.A., D'Antuono, M.F. (1988): Selection for acid tolerance in *Rhizobium meliloti*. *Plant Soil* 105, 179-188.
9. Jones, G. (1998): Role of legumes in sustainable cropping systems. *Molecular Microbial Ecology of the Soil*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
10. Karalić, K., Teklić, T., Vukadinović, V., Bertić, B., Singh, B.R. (2007): Mineral composition of alfalfa (*Medicago sativa* L.) as influenced by liming and manure application. *Cereal Research Communication* 35 (2), 581-584.
11. Komesarović, B., Redžepović, S., Blažinkov, M., Sudarić, A., Uher, D., Sikora, S. (2007): Simbiozna učinkovitost selekcioniranih autohtonih sojeva *Bradyrhizobium japonicum*. *Mljekarstvo* 57 (4), 289-302.
12. Kuykendall, L.D., Abdel-Wahab, S.M., Hashem, F.M., Van Berkum, P. (1994): Symbiotic competence and genetic diversity of *Rhizobium* strains used as inoculants for alfalfa and berseem clover. *Letters in Applied Microbiology* 19, 477-482.
13. Latta, R.A., Cocks, P.S., Matthews, C. (2002): Lucerne pastures to sustain agricultural production in southwestern Australia. *Agricultural Water Management* 53, 99-109.
14. Legocki, A., Bothe, H., Pühler, A. (1997): Biological fixation of nitrogen for ecology and sustainable agriculture. NATO ASI Series G: Ecological Sciences, 39. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
15. 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 Communication* 35 (2), 737-740.
16. Popović, S., Tucak, M., Knezović, Z. (2007): Response of alfalfa to liming. *Cereal Research Communication* 35 (2), 669-672.
17. Segundo, E., Martinez-Abarca, F., Van Dillewijn, P., Fernandez-Lopez, M., Lagares, A., Martinez-Drets, G., Niehaus, K., Toro, N. (1999): Characterisation of symbiotically efficient alfalfa-nodulating rhizobia isolated from acid soils of Argentina and Uruguay. *FEMS Microb. Ecology* 28, 169-176.
18. Sikora, S., Blažinkov, M., Babić, K., Sudarić, A., Redžepović, S. (2008): Symbiotic nitrogen fixation and sustainable soybean production. *Cereal research communications* 36, S5, 1483-1486.
19. Slattery, J.F., Pearce, D.J., Slatter, Y.W. J. (2004): Effects of resident rhizobial communities and soil type on the effective nodulation of pulse legumes. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1339-1346.
20. Strunjak, R., Redžepović, S. (1986): Bakterizacija leguminoza - agrotehnička mjera u službi štednje energije. *Poljoprivredno znanstvena smotra* 72, 109-115.
21. Škorić, A. (1991): Sastav i svojstva tla - pedološko i biljnoekološko značenje. Fakultet poljoprivrednih znanosti. Zagreb, 1991.
22. Štafa, Z., Danjek, I. (1997): Proizvodnja kvalitetne krme u slijedu kao tehnološka osnovica za visoku proizvodnju mlijeka po hektaru. *Mljekarstvo* 47 (1), 3-16.
23. Štafa, Z., Knežević, M., Stipić, N. (1994): Proizvodnja krme na oranicama i travnjacima kao tehnološka osnovica za proizvodnju mlijeka i mesa u govedarskoj proizvodnji. Poljoprivreda i proizvodnja hrane u novom Europskom okruženju, HAZU, Zagreb, Zbornik radova, 161-170.
24. Zahran, H.H. (1999): *Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63, 968-989.
25. Zeng, Z., Chen, W., Hu, Y., Sui, X., Chen, D. (2007): Screening of Highly Effective *Sinorhizobium meliloti* strains for 'Vector' alfalfa and testing of its Competitive Nodulation Ability in the Field. *Pedosphere* 17 (2), 219-228.