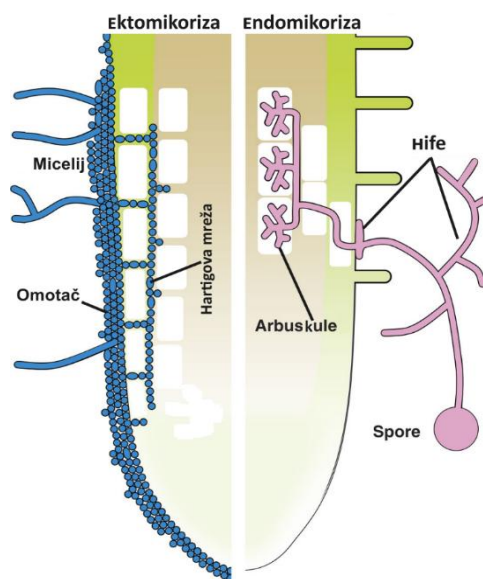


## Kako biljke postizu suživot s korisnim bakterijama?

Znanstvenici godinama istražuju zašto je korijen mahunarki (npr. soja) uspješan domaćin bakterijama (iz rodova *Rhizobium* i *Bradyrhizobium*) koje vežu atmosferski, molekularni dušik ( $N_2$ ) i kako bakterije prepoznaju ove kao prijateljske, kako ih razlikuju od vlastitih stanica, prihvaćaju strane proteine iz bakterije i zatim ih koriste za vlastitu ishranu.

Sada je tim molekularnih biologa sa sveučilišta *Massachusetts Amherst* (<http://phys.org/news/2016-01-interact-beneficial-microbes-soil.html#jCp>) istražujući lucernu (*Medicago truncatula*) utvrdio kako geni u biljci domaćinu kodiraju strani protein prepoznajući ga kao dio stanične membrane koja okružuje nakupine (kvržice ili nodule) simbiotskih bakterija, a zatim usmjeravaju vlastite proteine da preuzmu hranjive tvari. Naime, biljke često koriste različite mikrobe kako bi im pomogli zadovoljiti svoje potrebe za hranivima, nudeći im proizvode fotosinteze kao nagradu. Taj mehanizam koristi većina kopnenih biljaka koje žive u simbiozi s mikoriznim gljivama.

Mikoriza je *mutualistička simbioza* (uzajamno koristan suživot) biljaka i gljiva. Razlikuju se dva osnovna tipa mikorize: *endomikoriza* i *ektomikoriza*. *Endomikoriza*, ili tzv. *vezikularno-arbuskularna mikoriza* vrlo je česta u prirodi te ju podržava 95 % svih biljaka. Tom tipu mikorize pripadaju gljive čije *hife* (tanke hranidbene niti) prodiru u pojedine stanice korijena (Slika 1., lijevo) gdje stvaraju različite strukture sudjelujući u izmjeni hraniva između gljive i biljke. Kod rjeđe *ektomikorize* (Slika 1., desno) hife gljiva prodiru u međustanične prostore kore korijena i obavijaju stanice korijena (tzv. *fungalna futrola* ili *Hartigova mreža*). Ektomikoriza je prisutna kod drvenastih kultura, dok je endomikoriza prisutna kod gotovo svih zeljastih *kritosjemenjača* (*cvjetnjače*; *angiospermae*).



Slika 1. Ekto i endomikoriza

Suživot biljaka s gljivama pomaže biljkama u usvajanju fosfora, sumpora, dušika i drugih hraniva iz tla ili zraka. Kako je raspoloživog dušika u tlu (amonijski i nitratni N, odnosno  $N-NH_4$  i  $N-NO_3$ ) malo, a njegova količina veoma promjenjiva (ovisna o uvjetima za mineralizaciju organske tvari, ili pak gnojidbi) simbioza s mikroorganizmima neobično je značajna za ishranu bilja. Također, brojna istraživanja pokazala su da mikoriza, pored omogućavanja boljeg usvajanja hraniva i vode, umanjuje efekte stresa biljaka i ubrzava rast, iako su temeljni molekularni mehanizmi još uvijek u cijelosti nepoznati.

Simbioza kvržičnih bakterija omogućuje biljkama iz porodice mahunarki (*Fabaceae*, *Leguminosae* ili *Papilionaceae*) da vežu molekularni dušik ( $N_2$ ) iz atmosfere gdje ga ima u praktično neograničenim količinama (78 %) i transformiraju ga u kemijske oblike koje biljke lako mogu koristiti za svoje potrebe. Zahvaljujući toj mogućnosti mahunarke mogu koristiti dušik koji ne mogu koristiti ostale biljke, a koji ne potječe iz gnojiva ili razgradnje organske tvari u tlu (*mineralizacija*).

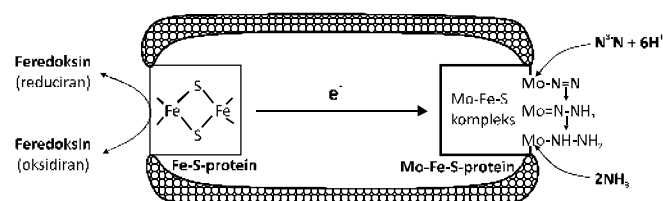
U poljoprivrednoj praksi se primjenjuje više vrsta kultiviranih bakterija za inokulaciju mahunarki čime se pospješuje fiksacija dušika iz atmosfere. Također, u tlo se unose i različiti sojevi nesimbiotskih (slobodnoživećih) bakterija kao što su *Acetobacter diazotrophicus*, *Azotobacter chroococcum* i *Azospirillum lipoferum* i dr. čime se povećava količina biljkama raspoloživog dušika. Za poboljšanje raspoloživosti fosfora koristi se više vrsta bakterija (*Phosphate solubilizing bacteria* = PSB) *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus awamori* i dr., a za bolje usvajanje kalija *Bacillus circulans* i dr. Također, sve se više koriste i prokariotske plavozelene alge (*Cyanophyceae*) koje danas uglavnom svrstavaju u cijanobakterije.

Od simbiotskih bakterija najčešći su sojevi iz roda *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* i *Sinorhizobium* koji žive u svim tlima u zajednici s približno 18.000 različitih mahunarki. Kultivirani sojevi (laboratorijski uzgojeni) superiorni su autohtonim sojevima i znatno povećavaju biološku fiksaciju dušika.

## Mogu li biljke sintetizirati vlastito gnojivo?

Na Washingtonskom sveučilištu grupa biologa (*Pakrasi* i dr.) istražuje kako kreirati biljke koje mogu sintetizirati vlastito gnojivo (<https://source.wustl.edu/2013/08/creating-plants-that-make-their-own-fertilizer>). Budući fiziološki mehanizam biološke

fiksacije dušika postoji kod više bakterija i gljivica koje mogu vezati atmosferski dušik i transformirati ga u spojeve koje više biljke mogu lako koristiti za svoje potrebe, potrebno ga je genetskim inženjeringom premjestiti u genom viših biljaka. Trenutno se istražuje genetski transfer dijela genoma zaduženog za fiksaciju  $N_2$  u cijanobakterije (neki ih smatraju algama) koje su taj mehanizam posjedovale, ali su ga tijekom evolucije izgubile, a  $N_2$  fiksacija bi trebao funkcionirati unutar kloroplasta zbog zahtjevnih energetske potreba tog biološkog mehanizma.



Slika 2. Shema modela nitrogenazne  $N_2$  redukcije



Slika 3. [Struktura enzima nitrogenaze](#)

Sve cijanobakterije su fotosintetski (autotrofni) organizmi koji energiju Sunca akumuliraju u energetski bogatim spojevima, kao što je ATP, koji omogućuju sintezu složenih organskih spojeva iz  $CO_2$  i  $H_2O$ , prvo šećera, a zatim i drugih spojeva, pri čemu bjelančevine uključuju pored ugljika, kisika i vodika i dušik (poneke i sumpor). Također, energetske potrebe za fiksaciju molekularnog dušika izuzetno su visoke (1 mol glukoze/1 mol  $N_2$ ). Stoga je fiksacija molekularnog dušika unutar kloroplasta zbog visokih zahtjeva za energijom, ali i veoma složen jer se u procesu fotosinteze oslobađa kisik cijepanjem vode (*fotooksidacija*) koji koči aktivnost enzima *nitrogenaze* u tom fiziološkom procesu (Slika 2. i 3.). Naime, nusprodukt fotosinteze je kisik, a on je toksičan za nitrogenazu. Problem je moguće riješiti odvajanjem ta dva procesa ili vremenski odvajanjem tako da se fotosinteza odvija danju, a fiksacija dušika noću u anaerobnim uvjetima, odnosno kad se sav kisik u stanicama potroši u procesu disanja.

Procjene svjetske godišnje mikrobiološke fiksacije dušika kreću se oko  $175 \times 10^6$  t, što je višestruko više od cjelokupne godišnje svjetske proizvodnje dušičnih mineralnih gnojiva ( $30 \times 10^6$  t  $god^{-1}$ ) te bi mogućnost vezivanja atmosferskog dušika za sve biljke, a ne samo mahunarke, veoma povećala ekonomičnost primarne organske produkcije uz smanjenje onečišćenja voda nitratima i atmosfere dušikovim oksidima (staklenički plinovi).

## Može li dodavanje mikroorganizama sjemena povećati proizvodnju žita?

U žličici tla živi prosječno 50 milijardi 10-ak tisuća vrsta mikroba, što nadmašuje broj ljudi koji su ikad živjeli na Zemlji (<http://automotive.einnews.com/article/305007540/6j32qCtwWJlkpcZn>), koji pomažu višim biljkama transformaciju nepristupačnih oblika neophodnih u pristupačne hranjivih tvari, povećavaju *aktivnu površinu korijena* te tako povećavaju usvajanje vode i hraniva iz tla. Aktivnu površinu korijena čini zona s vrlo finim korijenskim dlačicama koje lako mogu doći u neposredan dodir s koloidnim česticama tla. Stoga je

površina korijena vrlo značajna s gledišta usvajanja hraniva. Npr., leguminoze po 1 aru (1 ar = 100 m<sup>2</sup>) imaju aktivnu površinu korijena od 5.000 m<sup>2</sup>, pšenica 10.000 m<sup>2</sup>, dok površina svih čestica tla u oraničnom sloju 1 ara iznosi ~ 3 × 10<sup>8</sup> m<sup>2</sup> pa je razumljivo da korijen mora u "potragu" za hranivima, a to postiže isključivo rastom. Dakle, "*biljni probiotici*", osim što pomažu usvajanje vode i hraniva, potpomažu rast biljaka, njihovo bolje podnošenje različitih stresnih situacija i jačaju imuni odgovor i obranu bilja od štetnika i bolesti te je suživot, često i zajednica biljaka, bakterija i gljivica u tlu od ključne važnosti za biljke te i ozbiljan razlog da se intenzivira potraga za pojedinim vrstama mikroorganizama koji djeluju na brži i produktivniji rast pojedinih biljaka.

Opsežno i ambiciozno testiranje (500.000 testnih parcelica od *Louisiane* do *Minnesote*) povoljnog djelovanja pojedinih mikroorganizama provodi se njihovim nanošenjem na sjeme različitih biljnih vrsta (2.000 različitih mikrobnih premaza). Objavljivanje rezultata istraživanja očekuje se uskoro, a rezultati bi mogli utjecati na značajno smanjenje primjene mineralnih gnojiva i pesticida, manje ekološko opterećenje okoliša, te bitno niže troškove proizvodnje uz postizanje većih prinosa usjeva.

Potreba za hranom ubrzano raste, a predviđa se da će do 2050. god. svjetsko stanovništvo doseći devet milijardi usta koje treba nahraniti pa je uz današnje poljoprivredne površine (~3,2 milijarde ha) potrebno udvostručiti proizvodnju hrane. K tome, ne pomaže niti trend klimatskih promjena (suše, poplave, zaslanjivanje i erozija tla) pogoršavajući dosadašnje uvjete uzgoja. Također, mnogi štetnici i patogeni sve brže razvijaju otpornost na pesticide, a povećana upotreba mineralnih gnojiva samo djelomično može riješiti probleme, ali uz sve jače onečišćenje podzemnih voda, veću pojavu bolesti ljudi i *eutrofikaciju* rijeka i mora (masovna pojava štetnih algi) pa se znanstvenici kako mikrobi mogu pružiti alternativu.

Agrotehnika uz potporu mikroorganizama može ozbiljno utjecati na ekonomiju velikih tvrtki, pa i država. Naime, procjenjuje se da trenutno tržište poljoprivrednih preparata za kontrolu štetnika iznosi oko 2,9 milijardi US \$ (ažurirano 7. siječnja 2016.), što je tek djelić od 240 milijardi US \$ koliko iznosi tržište mineralnih gnojiva i pesticida. Budući da mikroorganizmi imaju vremenski kratak razvojni ciklus, a regulatorne zapreke su znatno manje za njihovu primjenu u odnosu na konvencionalna gnojiva i pesticide, uskoro se mogu naći na tržištu (~10 - 14 god.). Njihova primjena smanjit će potrebu za gnojivima i pesticidima jer povećavaju produktivnost svih usjeva, nasada, livada i šuma u različitim agroekološkim okruženjima i to na gospodarski održiv i ekološki odgovoran način.

Istraživanje primjene mikroorganizama temelji se na DNK analizi svake pojedine vrste testiranog mikroba, podaci se pažljivo analiziraju i uspoređuju sa DNK sekvencama patogena i u slučaju podudaranja, takvi se mikroorganizmi isključuju iz daljnjeg istraživanja. Budući da svaki uzorak tla može sadržavati milijarde ili trilijune mikroorganizama, istražuje ih se samo 1 % koji se uspješno mogu razmnožavati u laboratoriju na posebnim supstratima/podlogama. Oni za koje se ustanovi da nisu opasni, a djeluju na biljke korisno, dalje se testiraju kao inokulanti sjemena radi pospješivanja usvajanja hraniva, ili se njima eksperimentira u zaštiti od bolesti i štetnika (npr. biokontrola parazitnih nematoda i sl.).

U jesen 2015. god., na kraju vegetacije (170.000 parcelica), utvrđeno je da je od 2.000 inokulanata samo mali broj djelovao na povećanje prinosa usjeva pa se primjena nekolicine vrsta mikroorganizama očekuje već slijedeće, 2017. godine. Naravno, potrebno je još puno istraživanja jer primjena mikroorganizama u potpuno novom okruženju može dovesti do različitih nuzgrednih efekata. Npr., okus hrane može se promijeniti (kao što vino s različitih terena ima drugačiji okus), mogu se prenijeti na susjedne netretirane parcele i druge usjeve, i što je malo vjerojatno, smanjiti na njima prinos. Trenutno se smatra da će u najboljem slučaju biti korisni i na parcelama na koje se prošire, a u najgorem slučaju, neće biti nikakvog efekta, pa je istraživačima veća briga koliko dugo će poboljšanje djelovati. Naime, uvođenje novih organizama rijetko ima utjecaj na sva živa bića nekog ekosustava pa će ostati potreba za kemijskim pesticidima i gnojivima, ali možda u manjim količinama. Budući da se trenutno testira jedna po jedna vrsta mikroorganizama, na njihove kombinacije će se prijeći kasnije kad se ustanovi koliko i na koji način djeluju pojedinačno.

U Osijeku, 3. listopada 2016.