

Горица Цвијановић¹
Нада Милошевић²
Драго Цвијановић³
Горан Тодоровић⁴

УДК: 631.147
631.461.5

БИОЛОШКА ФИКСАЦИЈА АЗОТА ИМПЕРАТИВ У СИСТЕМУ ОДРЖИВОСТИ*

Кратак садржај: Концепт одрживе пољопривреде подразумева производњу биолошки исправне хране уз очување агроеколошке равнотеже, где поред улоге и значаја агротехничких мера, све већи значај имају и микроорганизми. У производњи здравствено безбедне хране све се више примењују и сазнања о биолошкој фиксацији азота. У истраживањима је обављена бактеризација течним инокулумом семена кукуруза ZP SC 677. У инокулуму се налазила смеша одабраних врста диазотрофа и њихових висикоефективних сојева: *-Azotobacter chroococcum* сој 84; *2-Azospirillum lipoferum* сој 2; *3-Klebsiella planticola* сој 4; *4 -1 + 2 + 3 + Bacillus megaterium + Azotobacter vinelandi + Bacillus subtilis*; *5 - 1 + 3 + Bacillus megaterium + Azotobacter vinelandi + Bacillus subtilis*.

У огледу је обављено ђубрење минералним азотним ђубривима: без ђубрења – контрола K , N_1-30 , N_2-60 , N_3-80 и N_4-80 $kg N \cdot ha^{-1}$. Вредности показатеља биогености земљишта (укупан број, бројност *Azotobacter*, бактерија из циклуса кружења фосфора), у условима бактеризације зависиле су од доза примењеног минералног азота, као што је зависила и висина приноса зрна. Највеће вредности испитиваних параметара утврђене су при ђудрењу са 60 и 90 $kg N \cdot ha^{-1}$, те се може закључити да би се применом бактеризације могла рационалисати употреба азотних минералних ђубрива, што је свакако значајно с гледишта одрживе пољопривреде.

Кључне речи: диазотрофи, ђубрење, биогеност, принос.

* Оригинални научни рад

¹ виши научни сарадник, Институт за кукуруз „Земун Поље”, Земун Поље

² научни саветник, Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

³ научни саветник, Институт за економику пољопривреде, Београд

⁴ научни сарадник, Институт за примену науке у пољопривреди, Београд

Увод

Производња хране у систему одрживе пољопривреде нуди прихватљивији начин производње хране, јер се у први план ставља здравље човека, а не профит по сваку цену. Производњом хране на такав начин не загађује се околина, већ се поштује природна еколошка равнотежа и човек се мири с природом. Последњих тридесетак година, повећање приноса гајених биљака на годишњем нивоу износи 5–6%. Такво повећање приноса поред заслуга у оплемењивању и стварању високородних сората и хибрида свакако је допринело и повећању употребе хемијских ђубрива у биљној производњи. Данас је 50–60% основног обима производње биљака условљено применом NPK ђубрива.

Минерална ђубрива како позитивно тако и негативно утичу не само на земљиште, на његову реакцију, структуру и биогеност већ и на животну средину. Услед њихове примене у земљишту и биљкама могу да се накупљају штетне материје, а могуће је и загађење површинских и подземних вода.

Од минералних ђубрива са становишта загађења животне средине највећу опасност представљају азотна ђубрива. Ако се дуже време употребљавају високе дозе минералних ђубрива, то може негативно да утиче на нека агрохемијска својства земљишта, а тиме свакако и на бројност и састав микроорганизама у земљи који су значајни за њену производну способност. То деловање минералних ђубрива може да буде посредно и непосредно. Посредно она могу да утичу тако што мењају рН вредности земљишта и његову структуру, повећавају количину соли у земљишту и др. Ако се земљиште применом азотних ђубрива закишељава, успораваће се оксидација амонијачног азота у нитратни облик јер микроорганизми спорије врше оксидацију у киселој средини. С повећањем доза азотних ђубрива микроорганизми мање везују атмосферски азот.

Због свега наведеног биолошка фиксација је веома значајна. То је процес који се непрекидно одвија и у коме се годишње по хектару везује 139–175 тона елементарног азота из атмосфере (Burns, 1991). Од тога се 80% везује у копненом микробном систему у коме 7% у земљишту с нелегуминозним биљкама. Способност везивања атмосферског азота припада посебној групи микроорганизама који се називају диазотрофи. Ова група микроорганизама не само што везује атмосферски азот него синтетише фитохормоне и витамине и сузбија активност фитопатогена (Јемцев и сар. 1994). Активирањем микробиолошких процеса у земљишту постиже

се бржа синтеза и минерализација органске материје (Милошевић *et al.*, 1997а, 2003), а самим тим и боља исхрана биљака. Применом инокулата са одређеним групама диазотрофа, постиже се уштеда скувих минералних ђубрива, чува се биогеност земљишта, а уједно се производи високовредна храна, што представља једно од основних начела одрживе пољопривреде.

Без обзира на све ширу примену бактеријских инокулата, није довољно проучено које дозе минералног азота депресивно утичу на функционисање система азотофиксације, те добијени резултати имају вишеструк значај. Због тога је циљ ових истраживања да се проучи утицај различитих доза минералног азота на ефикасност различитих врста асоцијативних диазотрофа и њихових смеша.

Материјал и методе рада

Истраживања су обављена на огледном пољу Института за кукуруз „Земун Поље” на земљишту типа слабокарбонатни чернозем. Све агротехничке мере изведене су квалитетно и у оптималним роковима. Пред сетву је обављено ђубрење уреом у четири нивоа, где је чистог хранива поред контроле (без ђубрења) било: $N_1 - 30 \text{ kg ha}^{-1}$, $N_2 - 60 \text{ kg ha}^{-1}$, $N_3 - 90 \text{ kg ha}^{-1}$, $N_4 - 120 \text{ kg ha}^{-1}$. Пред сетву кукуруза хибрида ZP 677 обављена је бактеријација потапањем семена у пет инокулума у којима су биле смеше истих количина различитих врста диазотрофа који припадају различитим родовима. Инокулум 1-*Azotobacter chroococcum smrain* 84, 2-*Azospirillum lipoferum smrain* 2, 3-*Klebsiella planmicola smrain* 4; 4 -1 + 2 + 3 + *Bacillus megaterium* + *Azotobacter vinelandi* + *Bacillus submilis*; 5 - 1 + 3 + *Bacillus megaterium* + *Azotobacter vinelandi* + *Bacillus submilis*. Титар ћелија у инокулуму износио је $23 \times 10^{-9} \text{ mL}^{-1}$.

Биогеност земљишта праћена је преко основних параметара на основу којих се утврђују све промене које настају у земљишту стандардним микробиолошким методама (*Pochon and Tardieux*, 1962), а укупна бројност бактерија, бројност *Azotobacteria*, фосфомобилизатора и фосфоминерализатора утврђивана је на изабраним подлогама. Узорци земљишта за утврђивање параметара биогености земљишта узимани су из ризосфере кукуруза на крају вегетације.

Висина приноса одређивана је када је влажност зрна износила 14 %.

Резултати и размарање

Диазотрофи нанети на семе лакше стварају заједницу са семеном него остала микрофлора у земљишту, јер су у додиру са семеном које клија. У земљишту је њихово размножавање и однос с присутним микробима различит. Бактеризацијом унети диазотрофи боре се са микроорганизмима из микробне заједнице за простор и храну, што изазива промене у микробној заједници. Зависно од количине минералног азота диазотрофи су различито деловали на укупан број бактерија. Укупан број бактерија повећавао се сваки пут када су дозе ђубрива биле мање од 120 кг N.ha⁻¹. С том највећом дозом ђубрива њихов број је био мањи од контролне варијанте. Укупан број бактерија највише се повећао са уношењем 30 кг N.ha⁻¹ (132,1%) и 90 кг N.ha⁻¹ (73,1%), док је са свим мањим дозама ђубрива смеша диазотрофа 4 утицала на то да се укупан број бактерија повећа на 70,7% (табела 1).

Табела 1. Укупан број бактерија (10⁷/г земљишта)

ком.	ђубрење кг N.ha										просек	
	без ђубрења		30		60		90		120			
	број	I. N.	Број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.
К	84,48	100	243,4	100	418,9	100	195,4	100	101,5	100	208,7	100
1	133,3	157,8	327,3	134,5	306,9	73,27	365,3	186,9	21,9	21,58	230,9	110,6
2	165,9	196,4	320,2	131,5	231,3	50,92	221,3	113,2	37,0	36,65	195,2	93,51
3	117,3	138,8	692,3	284,4	766,0	182,9	171,8	87,92	35,0	34,78	356,5	170,7
4	112,5	133,2	795,9	326,9	423,3	101,0	452,6	231,6	27,4	27,00	362,3	173,5
5	161,2	190,8	446,1	183,3	411,7	107,8	284,9	145,8	34,1	33,60	267,6	128,2
Прос. 1-5	138,0	103,5	516,4	212,1	427,9	123,2	299,2	173,1	31,1	50,70	-	-

Azotobacter је род слободних аеробних азотофиксирајућих бактерија. Оне имају способност да се настане на корену биљке и да образују заједницу с биљком. Такође, бројност им се мења како се мењају услови станишта или неки други еколошки фактори, те су добар показатељ деградације и биогености земљишта. Веће количине минералног азота спречавају слободну азотофиксацију јер спречавају синтезу ензима нитрогеназу. Тако је на основу резултата истраживања, утврђено да је доза од 120 кг N.ha⁻¹ утицала на смањење бројности *Azotobacteria*, а да су мање дозе минералног азота утицале на њихово повећање. Највеће повећање утврђено је при дози од 90 кг N.ha⁻¹ (82,3%) и 60 кг N.ha⁻¹ (76,6%). Највеће повећање бројности *Azotobacteria* утврђено је при бактеризацији са *Azotobacter chroococcum*,

сој 84 (табела 2). До сличних резултата дошли су (Говедарица и сар. 1986, 1992а, 1997, Раичевић и сар. 1998).

Табела 2. – Бројност *Azotobacteria* (10^2 /г земљишта)

ком.	Ћубрење кг N.га										просек	
	без ыубрења		30		60		90		120			
	број	I. N.	Број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.
К	15,6	100	25,35	100	30,8	100	22,39	100	59,01	100	30,62	100
1	18,8	120,5	50,35	198,6	44,39	144,1	60,88	271,9	12,17	20,62	37,31	121,8
2	6,4	41,03	43,10	170,0	50,29	163,3	61,70	275,6	18,52	31,38	35,99	117,5
3	12,8	82,05	12,63	49,82	61,98	201,2	37,90	169,3	12,52	21,22	27,56	90,00
4	43,7	280,1	31,38	123,7	60,22	195,5	19,07	85,17	24,91	42,21	35,86	117,0
5	12,8	82,05	35,64	140,6	55,06	178,8	24,56	109,7	33,02	55,96	32,21	105,1
Прос. 1-5	18,9	121,2	34,62	136,6	54,39	176,6	40,82	182,3	20,23	34,30	-	-

Веома важне бактерије из кружења фосфора јесу фосфоминерализатори и фосфомобилизатори. Иако се у земљишту налазе велике резерве фосфора ($4-5$ тона \cdot га $^{-1}$), ыубрењем фосфорним ыубривима знатно се повећавају приноси гајених биљака. То се објашњава чињеницом да се фосфор у земљишту налази у неприступачним облицима. Органска једињења садрже 20–80% укупног фосфора и саставни су део хумуса или земљишног раствора, док се неорганска једињења налазе у земљишном раствору где је ортофосфорни јон приступачан биљкама у веома малим количинама. Ако је пољопривредна производња интензивна, фосфора често нема довољно у исхрани биљака, јер се он споро преводи из неприступачних форми у приступачне форме. Значајну улогу у растварању тешко растворљивих једињења фосфора везаних за Са, Mg (у земљишту неутралне реакције), Fe, Al, (у земљишту киселе реакције) и претварању органских једињења фосфора уз ослобађање приступачног ортофосфорног јона имају поменуте групе микроорганизама. Органске делове фосфорних једињења (фитина, фосфолипида, нуклеинских киселина и њихових деривата) минерализује група фосфоминерализатора који могу да издвоје ензиме из система фосфатазе, фитазе, нуклеазе, фосфолипазе а којих има у ризосфери кукуруза (Ђорђевић 1998).

Бројност ове групе микроорганизама мењала се с различитим количинама примењеног ыубрива.

Утврђено је да се број фосфоминерализатора повећао при бактеријацији са смешом 4 (7,4%) и 5 (16,2%) при свакој количини ыубрива. То је разумљиво јер су ове две смеше поред других врста дијазотрофа сад-

ржале бактерије које припадају групи микроорганизама који учествују у кружењу фосфора. Иначе, утврђено је да се бројност ове групе у просеку највише повећала при ђубрењу са 60 кг N.ha⁻¹ (табела 3).

Табела 3. Бројност фосфоминерализатора (10⁴/g земљишта)

ком.	ђубрење кг N.ha										просек	
	без ђубрења		30		60		90		120			
	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.
К	15,60	100	15,36	100	20,79	100	21,78	100	22,18	100	19,14	100,0
1	5,01	32,1	5,03	32,7	20,58	98,9	19,48	89,44	21,91	98,78	14,40	75,2
2	12,76	81,8	12,31	80,1	27,86	134,0	12,43	57,07	22,22	100,2	17,52	91,5
3	10,20	65,4	10,11	65,8	9,92	47,7	15,16	69,61	15,02	67,72	12,08	63,1
4	17,50	112,2	17,58	114,5	22,41	107,8	22,88	105,1	22,45	101,2	20,56	107,4
5	17,67	49,2	17,69	115,1	29,37	141,3	27,02	124,1	29,47	132,8	22,24	116,2
Прос. 1-5	12,63	80,9	12,54	81,67	22,03	105,9	19,39	89,04	22,21	100,5	-	-

Група фосфомобилизатора ослобађа фосфор из неорганских једињења и њима припада значајна улога у растварању тешко растворљивих соли фосфата. Бактерије *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis* и *Bac circulans* растварају неорганске облике фосфора директним извлачењем P или Ca из једињења (Говедарица и Јарак, 1995, Broadbent *et al.* 1977). На основу резултата истраживања, утврђено је да се ова група повећава при свакој количини ђубрива за свих пет врста инокулата. Највеће повећање у просеку утврђено је при бактеријацији са инокулатом 5 (35,5%), док је у просеку при ђубрењу са 60 кг N.ha⁻¹ утврђено највеће повећање за све примењене инокулате (46,8%) (табела 4).

Табела 4. Бројност фосфомобилизатора (10⁴/g земљишта)

ком.	ђубрење кг N.ha										просек	
	без ђубрења		30		60		90		120			
	Број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.
К	92,17	100	68,46	100	43,4	100	24,86	100	39,6	100	53,70	100
1	95,14	103,2	108,3	158,2	55,81	128,6	29,22	117,5	12,17	30,73	60,13	112,0
2	91,91	99,7	98,52	143,9	55,49	127,9	24,82	99,84	12,35	31,19	56,62	120,3
3	104,6	113,5	98,53	143,9	66,6	153,4	12,63	50,80	17,53	44,27	59,98	126,6
4	107,5	116,6	108,2	158,0	74,7	172,1	36,71	147,7	17,43	44,0	68,91	123,9
5	158,6	172,1	97,44	142,3	66,07	152,2	37,56	151,1	17,04	43,03	75,34	135,5
Прос. 1-5	111,5	121,0	102,2	149,3	63,73	146,8	28,19	113,4	15,30	38,65	-	-

Крајњи циљ технологије гајења биљака јесте остварити стабилан и висок принос. Принос је променљива која зависи од генетичког материјала и утицаја спољне средине (падавине, температура и технологије гајења). Применом бактеризације семена може се, а не мора повећати принос, али свакако се побољшава биогеност земљишта и развој биљака у ранијим фазама. На основу резултата истраживања, утврђено је да је принос био повећан у просеку са свим количинама ђубрива, од 3,0% са инокулатом 3 до 5,1% са инокулатом 4. Ђубрењем земљишта сви инокуланти су допринели повећању приноса. Приноси су се највише повећали ђубрењем са 90 кг N.ha⁻¹, а најмање ђубрењем с највећом дозом N.ha⁻¹. Бактеризација са инокулатима у којима се налазила смеша различитих врста диазотрофа дала је боље резултате (табела 5).

Табела 5. Висина приноса зрна кукуруза (тона .ha⁻¹)

ком.	Ђубрење кг N.ha										просек	
	без ђубрења		30		60		90		120			
	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.	број	I. N.
К	5,05	100,0	6,96	100	10,96	100	11,26	100	11,58	100	9,16	100,0
1	5,51	109,1	7,06	101,4	10,88	99,3	13,39	118,9	11,56	99,8	9,66	105,4
2	4,59	90,9	6,71	96,4	11,46	104,6	11,37	101,0	12,26	105,9	9,48	103,4
3	5,44	107,7	6,71	96,4	11,67	106,5	11,92	105,8	11,45	98,8	9,44	103,0
4	5,04	99,8	7,42	106,6	11,36	103,6	12,18	108,2	12,16	105,0	9,63	105,1
5	5,70	112,9	7,25	104,2	11,90	108,6	12,07	107,2	10,79	93,2	9,54	104,1
Прос. 1-5	5,26	104,1	7,03	101,0	11,45	104,5	12,19	108,2	11,64	100,5	-	-

Закључак

На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

- Ефективност бактеризације је зависила од количине примењеног минералног азота као и врсте инокулата.
- Бактеризација је утицала на повећање свих испитиваних параметара, неког више неког мање. Основни показатељи промена у земљишту јесу повећан укупан број бактерија просеку од 10,6 % до 73,5 % и повећање бројности *Azotobacteria* од 5,1 % до 21 8%.
- Број бактерија фосфоминерализатора из циклуса кружења фосфора повећао се само при бактеризацији инокулумом 4 (7,4%) и инокулу-

мом 5 (16,2%), док је број фосфомобилизатора био повећан од 12,0 % до 35,5%

- Принос као крајњи циљ производње применом бактеријације био је повећан од 3,0 % до 5,4%.
- Сви испитивани параметри највише су повећани ђубрењем са 60 и 90 кг N.ha⁻¹
- Примена диазотрофа као биофертилизатора као алтернатива и/или допуна минералном ђубрењу неминовна је у будуће.
- Бактеријација омогућава економичнију производњу, стабилан принос и очување животне средине у систему одрживе пољопривреде.

Литература

1. Broadbent, P., Baker, K. F., Franky, N., Holland, J. (1977): *Effect Bacillus spp. Onincreased growth of seedlings in steamed and notreated soil.* Phytopatolog 57, 1027–1034.
2. Burns, R. G. (1991): *Nitrogenases (minireview)*, the Journal of Biological Chemistry, Vol 266, No 15 9339–9342.
3. Ђорђевић, С. (1998): *Активност фосфомоноестераза у земљишту под усевом кукуруза*, докторска дисертација, Пољопривредни факултет у Новом Саду.
4. Говедарица, М. (1986): *Азотофиксатори и њихова активност код кукуруза*, докторска дисертација, Нови Сад.
5. Говедарица, М. (1992а): *Azotobacter fequeny and its effect on some maize hybrids.* Microbiologia, Vol.29, No 2, 129–130.
6. Говедарица, М., Ђурић, С., Стаменковић-Јовановић, С., Секулић, Г. Антић,Т.(1997): *Перспективебиолошкогазотаубильнојпроизводњи. Уређење, коришћење и очување земљишта*, Нови Сад.
7. Говедарица, М., Јарак, М. (1995): *Микробиологија земљишта*, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Нови Сад.
8. Милочевић, Н., Говедарица, М., Убавић, М., Чувардић, М., Војин, С. (2003): *Микроби значајно својство за карактеризацију плодности пољопривредног земљишта*, Агрознање, Бања Лука 2, 81–88.
9. Милошевић, Н., Говедарица, М., Јарак, М (1997а): *Микробиолошка активност – важно својство у одређивању плодности земљишта*, Зборник радова, Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, Свеска 29, 45–32.

10. Pochon, J., Tardieux, (1962): *Tehnickues d analyse en microbiologique du Soil edit de la tourele*, Paris.
11. Раичевић, В., Васић, Г., Ђорђевић, С., Толимир, М. (1998): *Утицај инокулације семена кукуруза сојевима Azotobacter на биолошку активност земљишта*. Архив пољопривредне науке 59, 209, 5–14.
12. Јемцев В. Т. Селицкая О. Б., Кубарева О. Г. (1994): *Ассоцијативный симбиоз и его роль в продуктивности с-х. растений* – Сб: Тимирязеви биологическая наука. М, :МСХА, 1994, с.106–119.

Примљено: 12.06.2007.

Редиговано: 22.06.2007.

THE BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION AS AN IMPERATIVE IN THE TENABILITY SUSTEM

Cvijanović, G., Milošević, N., Cvijanović, D., Todorović, G.

UDC: 631.147
631.461.5

Summary

The information on the biological nitrogen fixation has been having an increasing application within the system of organic food production. The application of inoculates with certain groups of diazotrophs results in saving expensive mineral fertilisers, preserving soil biogeny, reducing financial inputs, which represents one of the major principles of sustainable agriculture.

Bacterisation was performed with the liquid seed inoculum of the maize hybrid ZP SC 704 and the wheat variety Leda. The inoculum consisted of a mixture of selected diazotrophs and their highly effective strains. The following variants of mineral N fertilisers were used in the trial: control K, $N_1 - 80 \text{ kg ha}^{-1}$, $N_2 - 120 \text{ kg ha}^{-1}$. Values of parameters of soil biogeny (total number, abundance of diazotrophs, ammonifier, enzymic activities), were higher under bacterisation conditions in both plant species, and were accompanied with higher grain yields. There were no significant differences in value increases of investigated parameters between fertilising variants N_1 and N_2 hence it can be concluded that the application of bacterisation can rationalise the utilisation of mineral fertilisers, what is of a significance for sustainable agriculture.

Key words: microorganisms, fertilising, maize, wheat, yield.

Author's address:

Gorica Cvijanović
Institut za kukuruz Zemun Polje
Slobodana Bajića 11080 Zemun

Received: 12.06.2007.

Accepted: 22.06.2007.