

DINAMIKA UKUPNOG BROJA MIKROORGANIZAMA I  
DEHIDROGENAZNA AKTIVNOST U RIZOSFERI ŠEĆERNE REPE  
U ZAVISNOSTI OD NPK ĐUBRIVA

THE DYNAMICS OF TOTAL NUMBER OF MICROORGANISMS AND  
DEHYDROGENASE ACTIVITY IN RHIZOSPHERE OF SUGAR BEET  
DEPENDING ON NPK FERTILIZERS

Nada Milošević, Mirjana Jarak, Govedarica M.

UVOD

Dehidrogenaze (1, 1., 1, 2. itd.) su velika grupa enzima disanja, koje katalizuju reakcije odcepljenja vodonika tj. dehidrogenaciju organske materije i prenose vodonik do akceptora.

Mikroorganizmi za vreme svog života izdvajaju u okolnu sredinu veću količinu aktivnih enzima-egzoenzima nego više biljke i životinje (*Mišustin et. al. 1968, Zvjangincevi Velikanov, 1968*). Međutim i izumrle ćelije mikroorganizama mogu biti izvor enzima-endoenzimi (*Peterson, 1961.*).

Dehidrogenaza je oksidoredukcioni enzim, koji ima važnu ulogu u procesima zemljišta i kao takav se može koristiti kao opšti pokazatelj biogenosti zemljišta (*Casida et al, 1964., Kuprevič i Šćerbakova, 1966, Russel i Kobus, 1974*).

Aktivnost enzima zavisi od tipa zemljišta, količine i kombinacije đubriva, sadržaja organske materije, upotrebe herbicida (*Mathur, 1982., Stefanic et. al, 1972*).

Dehidrogenazna aktivnost je u korelaciji sa unetom organskom materijom što pokazuju rezultati *Galstyan-a i Avundzjan-a (1970)* i *Laugese-a i Mikkelsen-a (1973)*. Aktivnost enzima takođe i sezonski varira (*Ross i Roberts, 1970*).

Aktivnost dehidrogenaze zvisi od načina iskorišćavanja zemljišta (*Mišković et al, 1981.*), kao i od unetih azotnih đubriva i zaoravanja žetvenih ostataka (*Mišković et. al, 1977., Milošević, 1987*).

Literarni podaci o enzimatskoj aktivnosti rizosfere nisu tako obimni kao o enzimatskoj aktivnosti zemljišta. Korenske izlučevine utiču na mikrobiološke procese, tako da rizosferna mikroflora ima veću aktivnost od okolnog zemljišta (*Mišković et al, 1977., 1981*).

S obzirom na važnost primene mineralnih đubriva i proizvodnje šećerne repe, ovim radom smo pokušali da damo doprinos rešavanju složenog mozaika ovog problema.

Cilj rada je bio da dehidrogenaznom aktivnošću i brojem ukupne mikroflore u zemljištu i rizosferi tokom vegetacije šećerne repe pratimo biogenost pod uticajem različitih doza i kombinacija NPK.

## MATERIJAL I METODIKA

Uzorci za mikrobiološka ispitivanja uzimani su sa oglada dugog trajanja sa mineralnim đubrivima na oglednom polju Instituta za ratarstvo i povrtarstvo iz Novog Sada. Oglad je postavljen na zemljištu tipa černozem 1965. godine.

Uzorci su uzimani aseptično na dubini od 0 do 30 cm. Za određivanje rizosfere mikroflore i njene aktivnosti zemljište je skidano na udaljenosti od korena 0,5 do 1 cm.

Ukupan broj mikroorganizama određivan je metodom razređenja na zemljišnom agaru po *Pochon-u*. Efektivna aktivnost dehidrogenaze radena je po metodi *Lenhard-a* (1956) uz modifikaciju *Tholman-a* (1968). Princip ove metode detaljno je opisan u radu *Mišković et al* (1977).

Varijante ispitivane u ovom radu su sledeće:

1. kontrola., 2. N<sub>2</sub>., 3. P<sub>2</sub>., 4. K<sub>2</sub>., 5. N<sub>2</sub>P<sub>2</sub>., 6. N<sub>2</sub>K<sub>2</sub>., 7. P<sub>2</sub>K<sub>2</sub>., 8. N<sub>1</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>., 9. N<sub>2</sub>P<sub>2</sub>K<sub>2</sub>., 10. N<sub>3</sub>P<sub>3</sub>K<sub>3</sub> a sadržale su slijedeće količine azota, fosfora i kalijuma:

N <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>	K <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>	K <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	P <sub>3</sub>	K <sub>3</sub>
50	50	50	100	100	100	150	150	150

## REZULTATI I DISKUSIJA

Broj ukupne mikroflore i efektivne aktivnosti dehidrogenaze varirala je u zavisnosti od primenjene količine i kombinacije mineralnih đubriva, faze razvića šećerne repe i zone uzimanja uzoraka.

Prema dobivenim rezultatima uočava se da različite kombinacije i doze NPK utiču na opštu biogenost černozema tokom vegetacije šećerne repe a što je u skladu sa rezultatima *Sarić* (1972).

Dinamika ukupnog broja u zemljištu i rizosferi tokom vegetacije biljke prikazan je u tabelama 1. i 2.

Tab. 1. Zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama u zemljištu pod šećernom repom (u 10<sup>6</sup>/g zemljišta)

*Total number of microorganisms in the soil of sugar beet /in 10<sup>6</sup>/g soil)*

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
1.	kontrola	432,94	403,67	213,14
2.	N <sub>2</sub>	674,49	405,21	655,23
3.	P <sub>2</sub>	568,48	455,11	488,72

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
4.	K <sub>2</sub>	611,74	421,54	670,06
5.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	428,85	252,88	325,25
6.	N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	445,28	288,05	303,43
7.	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	535,26	615,44	400,70
8.	N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	590,90	746,66	520,72
9.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	332,76	246,66	271,33
10.	N <sub>3</sub> P <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	205,20	107,05	211,75
	Prosjek / Average	482,59	394,22	400,63

Različite doze i kombinacije NPK đubriva imale su različit efekat na zastupljenost ukupne mikroflore u obe zone.

Rizosferna mikroflora bila je brojnija u odnosu na okolno zemljište, što je posebno naglašeno na kraju vegetacije.

Rezultati ispitivanja rizosferne mikroflore šećerne repe u istraživanjima *Sarić (1968)* pokazuju tendenciju sličnu našim rezultatima.

Unošenje mineralnih đubriva uslovalo je promenu biogenosti zemljišta u toku razvika biljke (tab. 1). Pojedinačna đubriva kao i najmanja doza NPK imala su pozitivan efekat na zastupljenost ukupnog broja. Međutim, izrazito nepovoljan efekat izazvale su veće doze NPK. Početkom vegetacije dobiven je veći broj ukupne mikroflore, dok je sa razvićem biljke došlo do smanjenja broja. Broj ukupne mikroflore u rizosferi šećerne repe bio je u proseku najmanji na početku vegetacije a najveći u fazi intenzivnog rasta biljke. Na kraju vegetacije dobiveno je izvesno smanjenje ove mikroflore (tab. 2). Izrazito visok broj ukupne mikroflore u fazi intenzivnog rasta i na kraju vegetacije šećerne repe dobili su i *Mišković et al (1981)* i *Sarić (1968)*. Jedan od razloga ovako brojne mikroflore je stimulativan uticaj korenskih izlučevina koje sadrže različite organske materije.

Tab. 2. Zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama u rizosferi šećerne repe (u 10<sup>6</sup>/g zemljišta)  
Total number of microorganisms in rhizosphere sugar beet (in 10<sup>6</sup>/g soil)

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
1.	kontrola	586,94	687,63	764,47

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
2.	N <sub>2</sub>	727,22	867,58	988,75
3.	P <sub>2</sub>	617,18	721,84	794,46
4.	K <sub>2</sub>	540,60	352,43	691,64
5.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	498,30	458,76	435,78
6.	N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	497,17	574,66	537,26
7.	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	674,41	947,04	812,64
8.	N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	664,01	694,17	897,01
9.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	794,01	712,60	900,91
10.	N <sub>3</sub> P <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	385,91	546,17	306,33
	Prosjek / Average	482,60	589,30	573,10

**Efektivna aktivnost dehidrogenaze** određivana je modifikovanom *metodom Lenhard-a*. Ova metoda omogućava da se za određivanje dehidrogenaze koriste bezbojne soli 2,3, 5- trifeniltetrazoliumhlorid (TTC). TTC primajući vodonik prelazi u trifenil-formacan (TPF), koji je crvene boje. Intenzitet crvene boje meri se spektrofotometrijski na talasnoj dužini 545 nm, a aktivnost dehidrogenaze izražava se u mikrogramima TPF na 10 grama zemljišta.

Iz rezultata se vidi da je na aktivnost ovog enzima uticalo unošenje NPK đubriva i da se aktivnost menjala u zavisnosti od zone ispitivanja (tab. 3 i 4.)

Tab. 3. Dehidrogenazna aktivnost u zemljištu pod šećernom repom (u ug TPF/10 g zemljišta)

*Dehydrogenase activity in the soil of sugar beet (in ug TPF/10 soil)*

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
1.	kontrola	410	390	382
2.	N <sub>2</sub>	570	412	460
3.	P <sub>2</sub>	425	365	438
4.	K <sub>2</sub>	492	400	506
5.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	360	200	308

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
6.	N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	326	260	300
7.	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	374	310	412
8.	100G N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	495	495	416
9.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	310	312	240
10.	N <sub>3</sub> P <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	270	276	178
	Prosjek / Average	404	341	363

Dehidrogenazna aktivnost u zemljištu zavisila je ne samo od količine i kombinacije mineralnih đubriva, već i od faze razvika biljke (tab. 3.). Najveće vrednosti izmerene su početkom vegetacije u varijantama sa pojedinačnim đubrivima a najmanje u varijantama sa većim dozama NPK. Sa razvićem biljke došlo je do smanjenja dehidrogenazne aktivnosti, ali je i dalje prisutna tendencija stimulacije sa pojedinačnim đubrivima kao i inhibicija sa većim dozama NPK. Dehidrogenazna aktivnost u kontrolnoj varijanti (bez đubriva) je dosta visoka i nije se mnogo menjala tokom vegetacije.

Tab. 4. Dehidrogenazna aktivnost u rizosferi repe (u ug TPF/10 g zemljišta)  
*Dehydrogenase activity in the rhizosphere of sugar beet (in ug TPF/10 g soil)*

Broj / Number	Varijanta / Variants	Početak vegetacije / Beginning of vegetation	Faza intenzivnog rasta / Stage of intensive growth	Kraj vegetacije / End of vegetation
1.	kontrola	306	412	536
2.	N <sub>2</sub>	622	710	590
3.	P <sub>2</sub>	500	611	534
4.	K <sub>2</sub>	500	638	540
5.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	490	540	500
6.	N <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	378	436	500
7.	P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	400	526	498
8.	N <sub>1</sub> P <sub>1</sub> K <sub>1</sub>	512	660	605
9.	N <sub>2</sub> P <sub>2</sub> K <sub>2</sub>	398	404	518
10.	N <sub>3</sub> P <sub>3</sub> K <sub>3</sub>	300	392	376
	Prosjek / Average	440	534	506

Najveća aktivnost enzima dobivena je u rizosferi početkom vegetacije u varijantama sa azotom i najmanjom dozom NPK, dok je u varijantama sa većom dozom NPK došlo do smanjenja (tab. 4.). U fazi intenzivnog rasta biljke izmerene su najveće vrednosti dehidrogenaze. U svim varijantama kao i na kontroli dehidrogenazna aktivnost bila je visoka, osim u varijanti sa najvećom dozom NPK, gde je došlo do izrazitog smanjenja. Azotna i fosforna đubriva kao i najmanja i srednja doza NPK stimulisala su dehidrogenaznu aktivnost.

Visoka dehidrogenazna aktivnost u rizosferi biljke utvrđena je i u radovima *Mišković et al (1981)* i *Milošević (1987)*, a što je uslovljeno uticajem korenskih izlučevina. Također, *Mathur, (1982)*, ukazuje da primena NPK đubriva može imati pozitivan a i negativan uticaj na aktivnost dehidrogenaze u toku dužeg vremenskog perioda.

Aktivnost enzima može i sezonski varirati u zavisnosti od ekoloških uslova (*Ross i Roberts, 1970*). Godina u kojoj su izvršena ova istraživanja bila je sa mnogo vodenog taloga (tab. 5.), pa je verovatno pored gore navedenih pokazatelja i količina padavina uticala na dehidrogenaznu aktivnost. Po mnogim autorima smanjenje vlage dovodi do niže aktivnosti ovog enzima (*Cerna, 1972, Pancholy i Rice, 1972*).

Odnos između dehidrogenazne aktivnosti i biogenosti zemljišta može biti pozitivan ili negativan (*Skujinš, 1978*), ali dinamika ukupnog broja i dehidrogenazna aktivnost tokom vegetacije biljke mogu se koristiti kao opšti pokazatelji biogenosti a samim tim i plodnosti zemljišta (*Galstjan, 1962, 1964., Casida et al, 1964, Skujinš, 1978*).

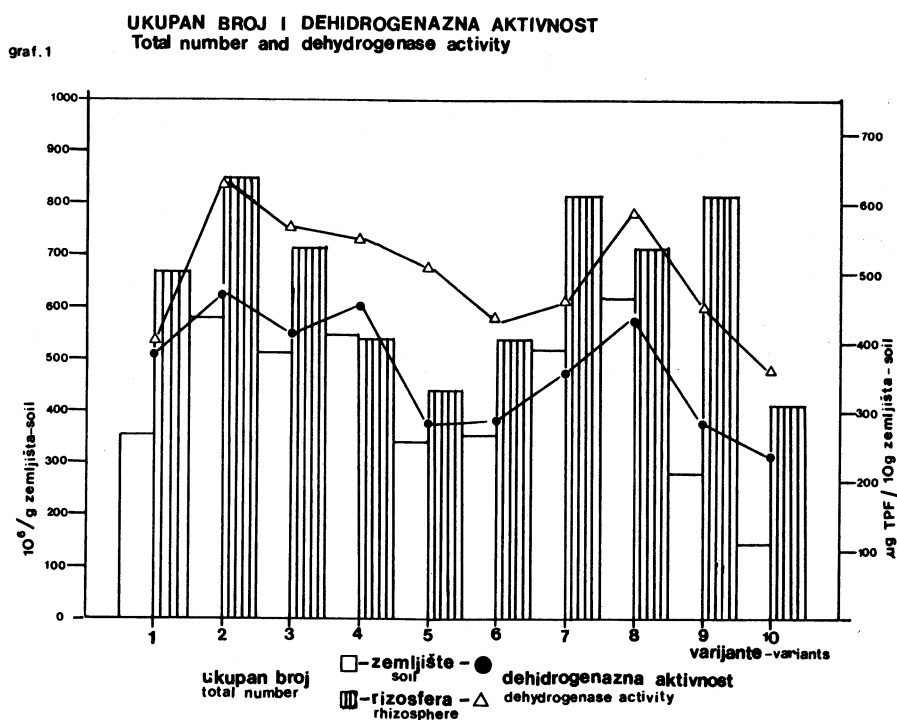
Tab. 5. Raspored padavina na ispitivanom polju u toku 1978. godine  
*Distribution of precipitation at experimental field in 1978. (mm)*

Mjesec / Month	mm
Oktoba - Mart / October - March	323
April / April	36
Maj / May	126
Juni / June	128
Juli / July	26
Avgust / August	12
Septembar / Septembre	71
April - Septembar / April - Septembre	399
1. X 1977. - 30. IX 1978.	622

Poseban problem je korelacija dehidrogenazne aktivnosti sa mikrobiološkom populacijom, koja može biti pozitivna ili negativna (*Skujinš, 1978*). Na osnovu naših rezultata pokušali smo naći uzajamnu vezu između enzimatske aktivnosti i broja ukupne mikroflora (graf. 1.) u zavisnosti od unetog NPK đubriva, faze razvića biljke kao i zone udaljenosti od biljke.

Iz grafičkog prikaza (graf. 1) koji predstavlja prosek vrednosti za sva tri roka ispitivanja u zemljištu i rizosferi, uočava se da je ukupan broj i dehidrogenazna aktivnost

veća u rizosferi. Izrazit pozitivan odnos može se uočiti u varijantama sa pojedinačnim đubrivima kao i u varijanti sa najmanjom dozom NPK u obe zone. Najveća doza NPK uticala je na smanjenje ukupne mikroflore i dehidrogenazne aktivnosti.



## ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti:

- Pojedinačna đubriva kao i manja doza NPK stimulisala su ukupnu mikrofloru i dehidrogenaznu aktivnost. U varijanti sa najvećom dozom NPK dobivene su najmanje vrednosti ukupnog broja i aktivnosti dehidrogenaze.

- Korenske izlučevine su stimulisale ukupnu mikrofloru i dehidrogenaznu aktivnost tako da su u rizosferi konstatovane veće vrednosti oba ispitivana parametra tokom vegetacije biljke.

- Krajem vegetacije šećerne repe i u fazi intenzivnog rasta dobivene su veće vrednosti ukupnog broja i enzima u rizosfernoj zoni, dok su u okolnom zemljištu ove vrednosti veće na početku vegetacije.

## SAŽETAK

U radu je proučena dinamika ukupne mikroflore i dehidrogenazne aktivnosti u zemljištu i rizosferi šećerne repe u zavisnosti od različitih kombinacija i doza NPK. Tip zemljišta je černozem.

Pojedinačna đubriva kao i manje doze NPK stimulisala su ukupnu mikrofloru i dehidrogenaznu aktivnost, dok su najmanje vrednosti dobivene u varijanti sa najvećom dozom NPK.

Rizosfera biljke stimulisala je ukupan broj mikroorganizama i dehidrogenaznu aktivnost.

## SUMMARY

We studied total number of microorganisms and dehydrogenase activity in the soil and rhizosphere of sugar beet.

The activity of dehydrogenase is determined by spectrophotometry method of Lanhard (1956) as modified by Tholman (1968). The method is based on the extraction of triphenylformasane (TPF) previously reduced from 2,3, 5- triphenyltetrazolium chloride (TTC).

The highest activity of dehydrogenase and the total number of microorganisms was obtained on the variants with N<sub>2</sub>, P<sub>2</sub>, K<sub>2</sub> and N<sub>1</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub> fertilizers. N<sub>3</sub>P<sub>3</sub>K<sub>3</sub> fertilizers inhibited dehydrogenase activity and the total number.

The results obtained in all test variants indicate a higher dehydrogenase activity and total number in rhizosphere than in the soil.

## LITERATURA

1. **Casida, L.E., Klein, Jr.D.A. and Santoro, Th. (1964):** Soil dehydrogenase activity. *Soil Science*, 98, 371-376.
2. **Černa, S. (1972):** Vliv nektarych ekologickych factoru na dehydrogenazovu aktivitu v pude. *Rastlinna Vyroba*, 18, 101-106,
3. **Galstjan, A.Š. (1962):** K metodike opredelenie aktivnost dehidrogenaz v počvi. *Dokladi Akademii nauk ARM, SSR*, 35, 181- 184,
4. **Galstjan, A.Š. Avundžjan, Z.S. (1970):** O dehidrogenazah ilistoj frakcii počvi. *Dokladi Akademii nauk SSSR*, 195, 3, 707-709,
6. **Kuprevič, V.F., Ščerbakova, T.A. (1966):** Počvenaja enzimologija, Minsk,
7. **Laugese, N.K. and Mikelsen, J.P. (1973):** Dehydrogenase activity in Danisa soils, *Tidsskr. Pl.* 77, 516-526,
8. **Lenhard, G. (1956):** Die dehydrogenase aktivitat des Bodens als Mass fur die Mikroorganismenatitigkeit im Boden. *Z. Pflanzenern. Dung. Bodenkunde*, 73, 1-11,
9. **Mathur, S.P. (1982):** The role of soil enzymes in the degradation of Organic Matter in the Tropics, Subtropics end Temperature Zones. 12. th Intern. Congr. of Soil-Science, New Delhi,



10. Milošević, N. (1987): Mikrobiološke promene i dehidrogenazna aktivnost černozema u zavisnosti od unetih azotnih đubriva i organske materije. Agronomski glasnik, No 6, 33-43.
11. Mišković, K., Rašović, B., Starčević, Lj., Milošević, N. (1977): Uticaj azota na aktivnost dehidrogenaze, broj ektinomiceta i gljiva u zeljištu i rizosferi kukuruza. Mikrobiologija, V. 14, No 2, 105-115.
12. Mišković, K., Rašović, B., Turčić, M., Milošević, N., Stanačev, S., (1981): Dehidrogenazna aktivnost u zemljištu i rizosferi šećerne repe u monokulturi, petopoljnom i dvopoljnom plodoredu. Zbornik radova sa naučnog skupa Ekosistemi i mogućnosti njihovog racionalnog korišćenja.
13. Mišustin, E., Nikitin, D.I., Vostrov, I.S. (1968): Prja moj metod opredelenija sumarnoj proteaznoj aktivnosti počvi. Sb. dokladov simpoziuma po fermentam počvi, 144-150.
14. Panchly, S.K. and Rice, E.L. 1972: Effect of storage conditions on activities of urease, invertase, amylase and dehydrogenase in soil. Soil. Sci. Soc. Am. Proc. 36, 536-537,
15. Peterson, N.V. 1961: Istočniki obogašćenija počvi fermentami. Mikrobiol. ž. 23, 6, 5-11,
16. Ross, D.J. and Roberts, H.S. 1970: Enzyme activities and oxygen uptates of soils under pastur in temperature and rainfallseqmences. J. Soil. Sci. R-1.
17. Russel, S., Kobus, J. 1974: Kulonbozo talajok dehidrogenaz aktivitasa agrrtudományok. A Maydar Tudományos Akadémia Agrartudományok Osztályanak Közleményei, 33, 1,
18. Sarić, Z. 1968: Kvantitativna karakteristika rizosferne mikroflore šećerne repe. Zbornik radova Instituta za polj. istraživanja, Novi Sad, sv. 6,
19. Sarić, Z. 1977: Uticaj različitih količina i odnosa nekih doza i kombinacija NPK na biogenost černozema pod šećernom repom. Agrohemija, No. 9-12,
20. Skujinš, J. 1978: Hystory of abiontic soil enzyme research. Soil enzymes (ed. Buris, R.G.), 1-33, 1978.
21. Stefanic, G., Eliade, G., Petersen, R., Picu, J. 1972: Influence of ploughing depth and of fertilizers on soil biology. Changes in the dehydrogenase activity and total carbon and avialable phosphorus content. 3.th Symp. on Soil Biology, Bucharest,
22. Thalmann, A.: Zur methodik der Bestimmung der Dehydrogenase aktivitat im Boden Mittels Tripheniltetrazolium chlorid (TTC).
23. Tvajincev, D.G., Velikanov, L.L. 1968: Vlijanije adsorpcii fermentov napočvennih časticah. Sb. Dokladov Simpoziuma po fermentam počvi, 108-119,

**Adresa autora -Authors address:**

Nada Milošević, dipl. biolog  
Mr Mirjana Jarak,  
Dr Mitar Govedarica,  
Poljoprivredni fakultet  
OOUR Institut za ratarstvo i povrtarstvo  
21000 Novi Sad  
Maksima Gorkog 30