

Pasković, I.<sup>1</sup>, Mirjana Herak Čustić<sup>2</sup>, Marija Pecina<sup>2</sup>, Bronić, J.<sup>3</sup>,  
Palčić, I.<sup>2</sup>, Katarina Hančević<sup>1</sup>, Radić, T.<sup>1</sup>

stručni rad

## Utjecaj modificiranog sintetskog zeolita, a i mikoriznih gljiva na mineralni sastav lista masline

### Sažetak

Maslina se većinom uzgaja u manje pogodnim agroekološkim uvjetima, karakteriziranim između ostalog slabijom dostupnošću biljnih hraniva.

Zbog navedenog, cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj primjene mješavine modificiranih sintetskih zeolita tipa A (ZA), u kojima su originalni Na<sup>+</sup> ioni zamijenjeni kationima Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> i Fe<sup>2+</sup> (Fe<sup>3+</sup>), i endomikoriznih gljiva (AMF) na mineralni sastav lista masline sorte Leccino uzgajane na alkalnom, karbonatnom tlu. Rezultati su pokazali pozitivno djelovanje Mn-ZA na količinu Mn u suhoj tvari lista masline, dok učinak primjene ostalih modificiranih zeolita (Zn-ZA i Fe-ZA) kao i arbuskularnih mikoriznih gljiva na mineralni sastav lista masline nije zabilježen.

**Cljučne riječi:** Leccino, mikoriza, mangan, zeolit, alkalno tlo

### Uvod

Maslina, kao i druge više biljke, zahtjeva odgovarajuće količine makro i mikro hraniva, koji su joj potrebni za normalan rast i razvoj. S iznimkom C, H i O koje prima iz zraka i vode, ostatak je hraniva obično usvojen preko korijena u tlu (Connor i Fereres, 2005). Naravno, tome se može pridodati usvajanje hraniva putem lista nakon folijarne primjene gnojiva ili pak primanje hraniva injektiranjem u deblo tj. vaskularna tkiva masline koje se može primjeniti u iznimnim slučajevima, primjerice jake deficijencije određenog hraniva, npr. Fe (Fernandez-Escobar, 2007). Kao višegodišnja kultura, maslina također ima mogućnost mobilizirati i skladištiti hraniva, primjerice koristeći ih iz senescentnih organa, posebno listova (Connor i Fereres, 2005). Ipak, maslina se većinom uzgaja u manje pogodnim agroekološkim uvjetima, karakteriziranih između ostalog slabijom dostupnošću biljnih hraniva. Tako se primjerice u Dalmaciji maslina pretežno uzgaja na alkalnim, karbonatnim tlima (Bulj i sur., 2011) u kojima upravo visoki pH utječe na fiksaciju gotovo svih biljci potrebnih hraniva (Imas, 2000).

S toga, kombinirana upotreba endomikoriznih gljiva (Estaun i sur., 2003) i sintetskih zeolita (Pasković i sur., 2012) nameće se kao jedno od mogućih rješenja za dugoročniju optimalnu opskrbljenost masline hranivima. Endomikorizne gljive, naime, povećavaju usvajanje P i mikroelemenata (Turk i sur., 2006) dok su istraživanja primjene modificiranih zeolita na radiču (Pasković i sur., 2013), lupini (Pasković i sur., 2012<sup>b</sup>) i maslini (Pasković i sur., 2012<sup>a</sup>; Pasković, 2013) pokazala njihov pozitivan utjecaj na koncentraciju P, Zn i Mn u suhoj tvari listova odnosno nadzemnih dijelova proučavanih biljaka.

Zbog navedenih razloga, cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj primjene mješavine modificiranih sintetskih zeolita tipa A (ZA) napunjenih kationima Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> i Fe<sup>2+</sup> (Fe<sup>3+</sup>) i endomikoriznih gljiva na mineralni sastav lista masline sorte „Leccino“ uzgajane na alkalnom, karbonatnom tlu.

### Materijali i metode

Priprema modificiranog zeolita obavljena je u Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu. Industrijski proizveden zeolit A (ZA) modificiran je posebno razvijenim postupkom ionske zamjene na tankom sloju (Biškup i Subotić, 1999; Biškup i Subotić, 2000), tako da su se dobili zeoliti u kojima su originalni kompenzacijski kationi (Na<sup>+</sup>) potpuno zamijenjeni s Zn<sup>2+</sup> (Zn-ZA), Mn<sup>2+</sup> (Mn-ZA) i Fe<sup>2+</sup> (Fe<sup>3+</sup>) (Fe-ZA) ionima.

Ukorijenjene reznice masline *Olea europaea* L. sorte „Leccino“ posađene su u lonce zapremine 3,6 l koji su sadržavali alkalno tlo (pH<sub>(KCl)</sub> 7,4 s 41,6% CaCO<sub>3</sub>) u koje je dodano po 1 g uree i 2 g KCl. Pokus je proveden po potpuno slučajnom rasporedu s 3 gnojdbena tremana (Kontrola, AMF, AMF + ZeoMIX) na ukupno 18 biljaka. Osnovna eksperimentalna jedinica sadržavala je 2 biljke.

U lonce predviđene za gnojdbeni tretman s mikoriznim gljivama (AMF) dodano je 54 g mikoriznog pripravka Symbivit, dok je u gnojdbenom tretmanu AMF + ZeoMIX uz istu količinu mikoriza dodano još po 21,6 g mješavine modificiranog zeolita A i to po 7,2 g Zn-ZA, Mn-ZA i Fe-ZA. Pripravak Symbivit sadrži šest vrsta AMF najčešće prisutnih u tlima u Europi: *Glomus etunicatum*, *G. microagregatum*, *G. intraradices*, *G. claroideum*, *G. mosseae*, *G. geosporum*. Ostali lonci, bez dodatka AMF, odnosno AMF i zeolita, služili su kao Kontrola.

Biljke su tijekom 200 dana rasle u vegetacijskoj komori u Institutu za jadranske kulture i melioraciju krša, Split, pri temperaturi 21–25°C, u uvjetima trajanja dana 16 h i noći 8 h te relativnoj vlažnosti zraka 48–70%. Biljke su navodnjavanje s 200 ml vode jedan put tjedno.

Nakon 200 dana uzorkovano je lišće masline sa središnjeg dijela mladice. Nakon sušenja, na 75°C do postizanja konstantne mase, svi uzorci lišća samljeveni su u fini prah, a dobiveni biljni materijal korišten je za daljnje analize minerala.

<sup>1</sup> mag. ing. agr. Igor Pasković, dr. sc. Katarina Hančević, dr. sc. Tomislav Radić; Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Put Duilova 11, Split, Hrvatska (e-mail:igor.paskovic@krs.hr)

<sup>2</sup> prof. dr. sc. Mirjana Herak Čustić, prof. dr. sc. Marija Pecina, mag. ing. agr. Igor Palčić; Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup> dr. sc. Josip Bronić; Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, Zagreb, Hrvatska

Nakon digestije lišća s koncentriranom  $\text{HNO}_3$  i  $\text{HClO}_4$  (Milestone 1200 Mega Microwave Digester) P je određen spektrofotometrijski, K plamenofotometrijski, sadržaji željeza (Fe), cinka (Zn) i mangana (Mn) su određeni atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom – AAS (AOAC, 1995).

Inficiranost korijena masline s AMF određena je upotrebom svjetlosnog mikroskopa, nakon izbjeljivanja uzorka i bojanja s Trypan blue (Philipy i Hayman, 1970; McGonigle i sur., 1990).

Podaci su statistički obrađeni jednosmjernom analizom varijance.

## Rezultati i rasprava

Tablica 1. Mineralni sastav suhe tvari lista masline sorte „Leccino“ i prosječni stupanj koloniziranosti mikoriznim gljivama (% AMF)

Tretman	% P	%K	Fe mgkg <sup>-1</sup>	Zn mgkg <sup>-1</sup>	Mn mgkg <sup>-1</sup>	% AMF
Kontrola	0,05	1,4	41	29	35 b	72,5
AMF	0,06	1,6	41	26	32 b	69,8
AMF+ZeoMIX	0,05	1,5	39	34	43 a	73,5
LSD	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	7,2	n.s.

Različita slova pridružena srednjim vrijednostima značajno se razlikuju za  $p \leq 0,05$ .

U tablici 1. prikazani su rezultati mineralnog sastava suhe tvari lista masline i prosječni stupanj koloniziranosti mikoriznim gljivama. Iz rezultata je vidljivo da je gnojdbeni tretman AMF+ZeoMix pokazao signifikantno najveću količinu Mn u odnosu na ostale gnojdbene tretmane te da nije postojala signifikantna razlika između gnojdbenih tretmana u prosječnom stupnju koloniziranosti mikoriznim gljivama. S toga, iz prikazanih podataka može se pretpostaviti da je povećana količina Mn u gnojdbenom tretmanu AMF+ZeoMIX nastala pod utjecajem djelovanja zeolita Mn-Z. Količina Mn u našem istraživanju kretala se u rasponu od 32-43 mgkg<sup>-1</sup> što prema Bouatu (1968, citirano prema Lasram i Tnani, 1992) odgovara prosječnoj količini Mn od 36 mgkg<sup>-1</sup> u suhoj tvari lista u mediteranskim zemljama. Također, razni autori navode da su optimalne količine Mn kod masline veće od 20 mgkg<sup>-1</sup> suhe tvari lista (Freeman i sur., 1994, Connor i Ferreres, 2005) dok Therios (2009) optimalne količine smatra vrijednostima u rasponu vrijednosti od 20-150 mgkg<sup>-1</sup>. Iako se u našem istraživanju koristilo alkalno tlo, iz rezultata dakle moguće je primjetiti da su količine Mn u svim gnojdbenim tretmanima veće od granica deficijencije što je u suprotnosti s navodima Obreze i sur. (1993) da se u alkalnim, karbonatnim tlima, stvaraju teško topivi spojevi koji značajno smanjuju njihovu dostupnost biljkama. Ipak, iako je poznato da se svakim jediničnim porastom pH vrijednosti smanjuje dostupnost Mn i do 100 puta (Lindsay, 1992), relativno visoka količina Mn u listovima svih gnojdbenih tretmana vjerojatno

se može pripisati postojanju reduktivnih uvjeta u tlu uvjetovanih nepovoljnim vodozdračnim odnosima korištenog tla (Mengel i Kirkby, 2001) koje je po teksturnoj oznaci glina (FAO, 2006).

Količina Zn u suhoj tvari lista kretala se u rasponu od 26-34 mgkg<sup>-1</sup> što također odgovara optimalnim razinama Zn u listu masline (Jones i sur., 2001). Iako ne postoje statistički značajne razlike između gnojdbenih tretmana, relativno najveća vrijednost Zn ponovno je zabilježena u gnojdbenom tretmanu s AMF i zeolitima, ukazujući pri tom da je dodatak zeolita možda imao utjecaj na prikazane rezultate. Naime, iako se moglo očekivati da će dodatak arbuskularnih mikoriznih gljiva pozitivno utjecati na količinu Zn u listu masline (Estaun i sur., 2003) tretman AMF nije pokazao povećanje količine Zn. Postojanje relativne ali ne i signifikantne razlike pri primjeni zeolita u skladu je s rezultatima Paskovića (2013) o učinkovitosti primjene Zn tek nakon 365 dana što je više od 200 dana koliko je trajalo ovo istraživanje, ali i mogućem antagonizmu Zn s Mn koji razni autori navode kod primjere kukuruza (Adilogu, 2006), limuna (Rajaie i sur., 2009), masline (Pasković i sur., 2012<sup>a</sup>) ili radiča (Pasković i sur., 2013). Također, izostanak rezultata vezanih uz povećanje količine Zn i primjenu arbuskularnih mikoriznih gljiva u tretmanima AMF i AMF+ZeoMIX vjerojatno je povezan s relativno kratkim vremenom istraživanja. Naime Estaun i sur. (2003) pozitivan učinak primjene mikoriznih gljiva na količinu cinka u listu masline navode u istraživanju koje je u uvjetima staklenika trajalo dvije godine.

Količina Fe nije pokazala signifikantne razlike s obzirom na gnojdbene tretmane što je u skladu s rezultatima Paskovića i sur. (2013) o nejasnom djelovanju Fe-ZA kod radiča. Ukupno gledano, svi gnojdbeni tretmani pokazali su relativni nedostatak željeza u suhoj tvari lista masline koji se po Theriosu (2009) kreće od 20-50 mgkg<sup>-1</sup>.

Relativno najveću količinu P u suhoj tvari lista u odnosu na ostale tretmane imao je gnojdbeni tretman AMF. Ipak izostanak signifikantne razlike s obzirom na tretman Kontrola može se vjerojatno također pripisati kraćem razdoblju provođenja eksperimenta (Estaun i sur., 2003). Također, u odnosu na tretman AMF + ZeoMIX relativno viša količina P moguće se očituje kroz potencijani antagonizam P i Mn (Barben i sur., 2011). Prikazane količine P neovisno o gnojdbenom tretmanu pokazale su relativnu deficijenciju P, što je u skladu s navodima raznih autora (Hopkins i Ellsworth, 2005; Bergmann, 1992; Mortvedt i sur., 1999) o smanjenoj topivosti fosfora u pH vrijednostima većim od 6,5.

Količine K u našem istraživanju također se nisu razlikovale između gnojdbenih tretmana te prema Connor i Ferreresu (2005) ukazuju na optimalnu opskbljenost masline K.

## Zaključak

Vrijeme trajanje ovog pokusa bilo dovoljno je za ekspresiju djelovanja Mn-ZA na količinu Mn u suhoj tvari lista masline, dok je za djelovanje ostalih modificiranih zeolita (Zn-ZA i Fe-ZA), kao i učinkovitost arbuskularnih mikoriznih gljiva, pretpostavljamo potrebno

duže vremensko razdoblje. Slijedom navedenog istraživanja kombinirane primjene AMF i modificiranih zeolita će se nastaviti uzimajući u obzir potrebu za širim vremenskim okvirom provođenja eksperimenta.

## Literatura

- Adilogu, S.** (2006). The Effect of Increasing Nitrogen and Zinc Doses on the Iron, Copper and Manganese Contents of Maize Plant in Calcareous and Zinc Deficient Soils. *Asian J. Plant Sci.* 5: 504-507.
- AOAC** (1995). Official method of analysis of AOAC International. AOAC International, Arlington.
- Barben, S.A., Hopkins, B.G., Jolley, V. D., Webb, B.L., Nichols, B.A., Buxton, E.A.** (2011). Zinc, manganese and phosphorus interrelationships and their effects on iron and copper in chelator-buffered solution grown Russet Burbank potato. *Journal of Plant Nutrition*, 34 (8): 1144-1163.
- Bergmann, W.** (1992). Nutritional Disorders of Plants. Development, Visual and Analytical Diagnosis. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart-New York.
- Biškup, B., Subotić B.** (1999). Kinetics of Continuous Exchange of Zn<sup>2+</sup> Ions from Solution with Na<sup>+</sup> Ions from Thin Layers of Zeolite A. *Stud. Surf. Sci. Catal.* 125: 745-752.
- Biškup, B., Subotić B.** (2000). Development of a Simplified Model of Dynamic Exchange of Cations in a Thin Layer of Zeolite. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2: 4728-4733.
- Bulj, M., Brkljača M., Milišić S., Bogdanović, I., Urlić, B., Pasković, I.** (2011): Prijemna knjiga kemijskih analiza tla za razdoblje 2003-2011. Institut za Jadranske kulture i melioraciju krša, Split.
- Conor, D.J., Fereres, E.** (2005). The Physiology of Adaptation and Yield Expression in Olive. In: Janick, J. (Ed.). *Horticultural Reviews* (31): 155-229.
- Estauan, V., Camprubi, A., Calvet, C.** (2003). Nursery and Field Response of Olive Trees Inoculated with two Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128 (5): 767-775.
- FAO** (2006). Guidelines for soil description. 4th edition. Rome.
- Fernandez-Escobar, R.** (2007). Fertilization. In: Production techniques in olive growing. International Olive council, Madrid, Spain: 145-164.
- Freeman, M., K. Uriu, Hartmann, H. T.** (2005). Diagnosing and correcting nutrient problems. In: G. S. Sibbett, L. F. Ferguson (eds.) *Olive production manual 2nd ed.*, Univ. California, Publication 3353. pp. 83-100.
- Hopkins, B., Ellsworth, J.** (2005). Phosphorus availability with alkaline/calcareous soil. *Western nutrient Management Conference*, Vol. (6). Salt Lake City, UT.
- Imas, P.** (2000). Integrated Nutrient Management for Sustaining Crop Yields in Calcareous Soils. GAU-PRII-IPI National Symposium. September 19-22, Junagadh, Gujarat, India.
- Jones, J.B., W. Benjamin and H.A. Mills.** 1991. Plant analysis handbook I. Methods of plant analysis and interpretation. Micro-Macro Publishing, Athens, Ga.
- Lasram M., Tnani M.T.** (1992). Olive. In: IFA World Fertilizer Use Manual (Halliday, D. J., Trenkel, M. E. and Wichmann, W., eds.). International Fertilizer Industry Association, Paris, pp. 229-233.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., Swan, J.A.** (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- Mengel, K. and Kirkby, E. A.** 2001. Principles of Plant Nutrition. 5th edn. Kluwer Academic Publication, Dordrecht, 849 p.
- Mortvedt, J.J., Murphy, L.S., Follet, R.H.** (1999). Fertilizer Technology and Application. Meister Publishing, Willoughby, Ohio.

**Obreza, T.A., A. K. Alva and D.V. Calvert.** (1993). Citrus fertilizer management on calcareous soils. Circular 1127, Soil and Water Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

**Pasković, I.** (2013). Mineralni sastav tkiva masline pri primjeni modificiranih zeolita u alkalnom tlu. Doktorski rad, Agronomski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 104 p.

**Pasković, I., Bronić, J., Subotić, B., Radić, T., Herak Ćustić, M.** (2012)<sup>b</sup>. The influence of synthetic zeolites fertilization on white lupine (*Lupinus albus* L.) mineral composition. Book of Abstracts: International conference 14 th Ružička days "Today science-tomorrow industry" / Jukić Ante (ur.). Kutina : Petrokemija Kutina: pp 103.

**Pasković, I., Bronić, J., Subotić, B., Pecina, M., Perica, S., Palčić, I., Herak Ćustić, M.** (2013). Impact of synthetic zeolite fertilization on radicchio mineral composition and nutritive value. *Journal of Food Agriculture & Environment* (11): 498-502

**Pasković, I., Herak Ćustić, M., Pecina, M., Bronić, J., Subotić, B., Hančević, K., Radić, T.** (2012)<sup>a</sup>. Utjecaj gnojbe sintetskim zeolitima na mineralni sastav lista masline sorte Leccino. *Pomologia Croatica* 18: 33-44.

**Phillips, J.M., Hayman, D.S.** (1970) Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 159-161.

**Rajaie, M., Ejraie, A.K., Owliaie, H.R., and Tavakoli, A.R.** 2009. Effect of zinc and boron interaction on growth and mineral composition of lemon seedlings in a calcareous soil. *Int. J. Plant Prod.* 3(1):39-49.

**Therios, I.** (2009): Olives. Crop production science in horticulture: 18. CAB International, Oxfordshire, UK.

**Turk, M.A., Assaf, T.A., Hameed, K.M., Al-Tawaha, A.M.** (2006). Significance of Mycorrhizae. *World Journal of Agricultural Sciences* 2 (1): 16-20.

surveying study

### Impact of modified synthetic zeolite A and mycorrhizal fungi on olive leaf mineral content

#### Summary

*Olive growing is mainly associated with poor agroecological conditions, characterized mostly with lower nutrient availability.*

*Thus, the objective of this experiment was to determine the influence of synthetic zeolite A mixture (ZA), in which the original Na<sup>+</sup> ions were exchanged with Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> (Fe<sup>3+</sup>) ions from solutions, and endomycorrhizal fungi (AMF) on olive leaf mineral content of Leccino cultivar grown on alkaline, calcareous soil.*

*Results have shown that zeolite fertilization significantly increased Mn content in olive leaf, while other modified zeolites application (Zn-ZA i Fe-ZA) as well as arbuscular mycorrhizal fungi application had no influence on olive leaf mineral content.*

**Keywords:** Leccino, mycorrhize, manganese, zeolite, alkaline soil