

## DINAMIKA RIZOSFERNE MIKROFLORE V. GOLDEN CURE I RAVNJAKA

### U V O D

Značaj i uloga mikroorganizama u zemljištu je prilično proučen. Mikroorganizmi aktivno učestvuju u pripremanju biljnih asimilativa u zemljištu, u održavanju povoljne strukture, u mineralizaciji organskih materija i sl. Ima i nepoželjnih mikroorganizama u zemljištu. Oni svojom aktivnošću ometaju ili onemogućavaju druge mikroorganizme, ili izlučuju tvari koje štetno utječu na više biljke, ili su pak paraziti.

Više biljke koriste proizvode životne aktivnosti (a one su samo produkt razmjene materije) mikroorganizama, ali i same vrše razmjenu materije s vanjskom sredinom. Biljke na razne načine izlučuju u zemlju tvari koje su veoma potrebne mikroorganizmima zemljišta. To su razni otpaci dijelova korijena, korijenovih dlačica, pa i izlučivanja raznih kiselina, šećera i slično.

Zapazilo se da ima mnogo više mikroorganizama u sferi korijena nego u zemljištu koje je izvan te sfere. I ne samo da ih u ovoj zoni ima znatno više, nego ti mikroorganizmi mogu biti i različiti po svojim osobinama od onih koji žive u zemljištu dalje od biljnog korijena. Proučavajući osobine i naseljenost tih mikroorganizama, našlo se da njihova brojnost i sastav zavise o vrsti biljke, fazi razvoja i o staništu na kome ta biljka živi itd. Proučavanjem zemljišta, koje je pod utjecajem korijena, saznalo se da ima ne samo mnogo više mikroorganizama u sferi korijena, nego da se razlikuju nalazi u samoj sferi. Tako se našlo da ima najviše mikroorganizama na samoj površini korijena, a nešto manji je broj u zemlji koja se nalazi u tankom sloju oko samog korijena. Te razlike također nisu samo u broju, nego i u kvalitetnom sastavu (1, 2, 3, 8, 9, 10, 13, 14, 18, 19 20).

Iako je problem rizosferne mikroflore relativno novijeg datuma, ipak ima povelik broj istraživača na ovom polju rada. *Krasiljnikov* i njegovi saradnici su proučavali rizosferu nekih žitarica, *Berezova* rizosferu lana, *Timonin* rizosferu žitarica, duhana, lana itd. Od naših mikrobiologa jedino je Micev (10, 12) vršio ispitivanja rizosfere pšenice, ječma, graška i lucerke.

### MATERIJAL I METODIKA

#### Materijal

Duhanski Institut u Mostaru je imao u 1960. godini masovni ogled sa duhanskom sortom Virginia Golden Cure na Vidovom polju kod Stoca, i na Oglednom polju u Trnu kod Lišice sa sortom Ravnjak. Uzorke za ispitivanje rizosferne mikroflore uzimali smo sa tih polja. U Vidovom polju je aluvijalno zemljište na obali Bregave. Uslijed stalnog gnojenja prethodnih godina radi uzgoja povrća, zemljište je plodno i bogato hranjivim materijama. To se odrazilo i na uzrastu i prinosu duhana. Zemljište je tretirano sa 100 kg/ha Aldrina.

U Trnu je deluvijalna posmeđena crvenica, relativno dosta duboka s fizičkim i kemijskim svojstvima karakterističnim za ovu vrstu zemljišta u Hercegovini. Zemljište je tretirano sa 100 kg/ha Aldrina i dodato je 800 kg/ha superfosfata, 200 kg/ha kalijevog sulfata.

#### Metodika

Izraze rizosfera i rizoplan uzeli smo po preporuci Američkog društva za proučavanje zemljišta, te ćemo ispitivati mikrofloru rizosfere (mikroflore koja naseljava zemlju uz korijen) i rizoplana (tj. mikrofloru koja naseljava samu površinu korijena) navedenih biljaka. Radi usporedjenja naseljenosti rizosferne mikroflore sa mikro-

florom zemljišta, ispitivali smo zemljište na kome se biljke nalaze, samo smo uzorke zemljišta uzimali sa rastojanja jedan metar od biljke da bismo izbjegli utjecaj rizosferne mikroflore na naseljenost u zemljištu.

#### 1. Uzimanje uzoraka

a) Uzorke zemljišta smo uzimali sterilnim priborom u sterilne limene kutije sa dubine 0–20 cm. Ove uzorke smo uzimali u isto vrijeme kad i uzorke za rizosferu;

b) Za ispitivanje rizosferne mikroflore uzimali smo uzorke dva puta. Prvi put za V. Golden Cure (u početku bujnog porasta) 7. VI 1960., a drugi put (u punom bujnom porastu) 22. VII 1960. godine.

Uzorke za sortu Ravnjak u Trnu, prvi put smo uzeli 23. VI 1960. (u početku bujnog porasta) i drugi put 18. VII 1960. godine (u punom bujnom porastu).

Uzorci su istog dana preneseni u laboratorij i odmah obrađivani.

#### 2. Mikrobiološke analize

Mikrobiološke analize smo vršili ovim metodama:

a) Obradu rizosfernog materijala i zemljišta obavili smo po preporuci »VASHNIL« (16) na ovaj način.

Od svake biljne sorte uzeli smo po tri uzorka, u prvom periodu, jer su biljke manje i mlađe, a u drugom periodu smo uzimali po dva uzorka, jer su biljke velike, korijen im je bogat žilama.

Prilikom uzimanja uzoraka vodili smo računa da zahvatimo zemlje oko 30–40 cm, a u dubinu oko 25 cm. Uzorke smo umotali u polivinilsku plahu. Nadzemni dio biljke smo otkinuli, ali smo uvijek ostavili na stabljici po 2–3 dijela od lista da bismo mogli vidjeti da li je biljka uvenula. Uzorke smo istog dana dopremili u laboratorij i odmah obrađili.

Materijal za mikrobiološke analize rizosfere obrađili smo na ovaj način.

Donesene uzorke smo stavili u široku posudu u kojoj je bilo nešto malo vode. Voda je zemlju omekšala te smo lako odvojili korijen biljke sa prilijepljenom rizosfernom zemljom. Sterilnim škarama smo odrezali mlade tanke žile i pomoću pinceta ih zajedno sa prilijepljenom zemljom prenijeli u tačno odmjerenu erlenmajericu od 200 ccm. Kad smo utvrdili da je u erlenmajerici oko 12–13 grama žila i zemlje, onda smo dodali 60 ccm sterilne vodovodske vode. Dobro smo na stolu ručno promućkali 5 minuta, zatim pincetama vadili sprano korijenje i ispirali ga sa još 30 ccm sterilne vode a zatim još malo mućkali. Na takav način smo dobili prvo razrjeđenje 1:10. Iz ovog razrjeđenja smo uzeli sterilnom pipetom 10 ccm i prenijeli u drugu erlenmajericu sa 90 ccm sterilne vode te tako dobili razrjeđenje  $10^{-2}$ , mućkali 1 minutu pa na isti način uradili za  $10^{-3}$  itd. Zasijavali smo po 1 ccm određene suspenzije na dno sterilne petrijeve kutije u koju smo naknadno nasuli agar sa hranjivim supstratom a zatim smo na stolu petrijevke pokretali da bi se dobro izmiješala suspenzija i agar. Preračunavanje na apsolutno suhu rizosfernu zemlju obavili smo tako, da smo vodu isparili, a zatim erlenmajericu sa zemljom stavili u sušionik na 105°C za 5 sati, odvagali suhu zemlju i erlenmajericu te tako dobili težinu apsolutno suhe rizosferne zemlje.

Materijal za mikrofloru rizoplana dobili smo na ovaj način. Uzeli smo korijenje sa koga smo sprali zemlju za rizosferu i još smo dodali potrebnu količinu korijena, dobro oprali od zemlje, zatim smo prepirali korijen u sterilnoj vodi sve dok nije bio čist i prirodno žučkasto-bijel. Tako opran korijen stavili smo u sterilan porculanski tarrionik (avan) te sa isto tako sterilnim porculanskim maljem korijen dobro izgnječili. Satrto korijenje smo prenijeli u odmjerenu erlenmajericu od 200 ccm, isprali avančić i maljicu odmjerenom sterilnom vodom i prelihi u erlenmajericu. U nju smo još nadodali sterilne vode do



99 cm, jer će, kad se korijen osuši na 105°C, ostati suhe mase oko 1 gram. Rukom smo mučkali 5 minuta. Svako drugo mučkanje je trajalo 1 minutu. Sva ostala razrjeđenja su izvođena u razmjeru 1 : 10.

Na opisu ove metodike zadržali smo se nešto duže radi toga, što u našoj objavljenoj literaturi još nije dat ovako detaljan opis;

b) Aerobne heterotrofne bakterije smo brojili na ravnom agaru. Hranjivi supstrat za te bakterije pripremili smo po Fedorovu (4), sa štirkom kao izvorom ugljikove hrane. Razrjeđenje za rizoplan i rizosferu 10<sup>-8</sup>, za zemljište 10<sup>-6</sup>. Inkubacija na 28°C za 7 dana, pH 7, četiri ponavljanja.

c) Aktinomicete smo brojili također na ravnom agaru sa štirkinim hranjivim supstratom po Krasiljnikovu. Razrjeđenje za rizoplan i rizosferu 10<sup>-6</sup>, za zemljište 10<sup>-4</sup>, pH 7,2 a inkubacija je na 28°C za 12 dana. Četiri ponavljanja;

d) Gljivice smo brojili na ravnom agaru sa supstratom po Czapek-u (4). Razrjeđenje za rizosferu 10<sup>-5</sup>, za rizoplan i zemljište 10<sup>-4</sup>. Inkubacija 28°C za 5 dana, pH 5. Četiri ponavljanja.

e) Aerobne celulolitične mikroorganizme smo brojili na ravnom agaru sa supstratom pripremljenim po preporuci O. I. Puškinskaja (15) sa filter papirom kao izvorom celuloze. Razrjeđenje 10<sup>-4</sup>. Inkubacija u vlažnoj komori na 28°C za 20 dana. Dva ponavljanja.

f) Sporogene bakterije smo brojili na istom supstratu kao i za heterotrofne aerobne bakterije, samo smo sušpenziju prije zasijavanja pasterizirali 10 minuta na 80°C. Razrijeđene 10<sup>-4</sup> za sve uzorke. Dva ponavljanja.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati naših ispitivanja su izneseni u tabeli 1 za uzorke uzete sa Vidovog polja (biljke V. Golden Cure), dok su rezultati uzoraka uzetih sa Trna (biljke Ravnjak) izneseni u tabeli br. 2.

Ukupan broj mikroorganizama uzoraka zemljišta u Vidovom polju je dva puta veći nego uzoraka zemljišta sa Trna. Po broju mikroorganizama, zemljište u Trnu se jako približava crvenicama u Domanovićima (17), ali je po tim osobinama još bliže crvenicama na otoku Visu (5).

Ukupan broj mikroorganizama rizosfere, u početku bujnog porasta, (tabela 1) biljke V. Golden Cure je znatno veći nego u zemljištu udaljenom 1 metar od biljke. Zapažamo da je procentualni odnos gljivica prema ukupnom broju mikroorganizama u zemljištu vrlo malen (0,2%), dok aktinomicete učestvuju sa oko 25%. Heterotrofne aerobne bakterije čine najveći broj u toj naseļjenosti.

Tabela 1

Sorta duhana: V. Golden Cure;

Faze razvoja biljke; Početak bujnog porasta i pun bujni porast;

Duhaništa: Vidovo polje, Stolac

Datum uzimanja uzoraka: 7. VI 1960. i 22. VII 1960. god.

Redni broj	Vrsta uzorka	Temperatura zemljišta za vrijeme uzimanja uzoraka	Broj mikroorganizama u hiljadama, na 1 gr apsolutno suhog zemljišta, rizosferne zemlje i korijena						Faza razvoja biljke
			Gljivice	Aktinomicete	Heterotrofne aerobne bakterije	Sporogene bakter.	Celulolitični mikroorganizmi	Svega mikroorganizama	
1	Zemljište 0-20 cm	23°C	21,4 0,2%	2.610 25,2%	7.600 73,2%	—	142 1,4%	10.373,4 100%	Početak
2	Rizosferna zemlja		35,0 0,07%	3.550 7,0%	47.400 92,9%	—	2 —	50.987,0 100%	bujnog
3	Rizoplan		18,0 0,01%	21.500 12,2%	155.000 87,8%	—	0 —	176.518 100%	porasta
4	Zemljište 0-20 cm	24°C	51,0 0,3%	2.550 15,8%	13.600 83,9%	2.100 —	— 0	16.201 100%	Pun
5	Rizosferna zemlja		48,0 0,06%	5.000 6,6%	71.000 93,4%	470 —	— 0	76.048 100%	bujni
6	Rizoplan		22,0 0,005%	12.500 2,9%	407.000 97,1%	62 —	— 0	419.522 100%	porast

U rizosferi V. Golden Cure brojna vrijednost gljivica je viša u odnosu na broj u zemljištu, ma da je procentualno učešće (gljivica) znatno manje (oko tri puta) u odnosu na ukupnu naseljenost mikroorganizama rizosfere. Aktinomicete su također brojnije zastupljene u rizosferi nego u zemljištu, ali procentualno učešće tih mikroorganizama je također smanjeno za nešto više od tri puta. Heterotrofne aerobne bakterije su povećale brojnost skoro sedam puta, ali su one povećale i procentualno učešće u ukupnom broju.

Gljivice u rizoplanu su i brojno i procentualnim učešćem u opadanju u usporedbi sa brojem gljivica u zemljištu i u rizosferi. Aktinomicete su u znatnom porastu, ali procentualnim učešćem nisu postigle učešće u zemljištu, ma da učestvuju s višim procentom nego u rizosferi. He-

terotrofne aerobne bakterije su povećale brojnost, ali su procentualnim učešćem u odnosu na ukupan broj mikroorganizama rizoplana u znatnom padu. Ovo su analitički podaci za biljku u vegetativnoj fazi početka bujnog porasta, tj. onda kad se biljka primila, ukorijenila i stvorila osnovnu asimilacionu površinu (7).

Druga faza, bujni porast, daje drugačiju sliku. Ukupan broj mikroorganizama zemljišta je tek nešto povećan u odnosu na stanje u doba prvog uzimanja uzoraka. Gljivice su nešto brojnije nego u uzorku uzetom 7. VI 1960. g. pa im je i procentualno učešće veće. Aktinomicete su brojno u neznatnom opadanju, ali je njihovo procentualno učešće u ovom uzorku znatno manje nego kod onoga od 7. VI. Heterotrofne aerobne bakterije su povećale svoje učešće u ukupnom broju mikroflora zemljišta.



*Rizosferna* mikroflora je svojim sveukupnim brojem znatno povećana u odnosu na broj mikroflora rizosfere od 7. VI. Procentualno učešće gljivica, aktinomiceta i bakterija skoro se nije izmijenilo prema njihovom učešću u rizosferi ranijeg perioda.

Mikroflora *rizoplana* se mnogo povećala, ali se znatno izmijenilo i učešće pojedinih grupa mikroorganizama u ukupnom broju, u odnosu na rizoplan od 7. VI. Gljivice su uglavnom na istom nivou, ma da ih je procentualno 12 puta manje, a brojno ih je manje samo 2 puta. Sveukupni broj gljivica je neznatan prema ukupnom broju mikroflora rizoplana. Aktinomicete su brojno u opadanju, ali i procentualno znatno manje učestvuju u ukupnom broju mikroflora rizoplana nego u rizoplanu od 7. VI. Heterotrofne aerobne bakterije su povećale i brojnost i procentualno učešće.

Ukupan broj mikroorganizama *zemljišta* (uzetog 23. VI) u *Trnu* je relativno malen, tabela br. 2. U ovom zemljištu smo našli veći broj gljivica nego u aluvijalnom zemljištu

u *Stocu* (Vidovo polje). Procentualno učešće je znatno (0,5%). Aktinomicete učestvuju sa 25%, a heterotrofne aerobne bakterije sa 72,4% od ukupnog broja mikroflora u zemljištu udaljenom jedan metar od biljke čiju rizosfernu mikrofloru ispituje. Aktinomicete i bakterije su procentualno jednako zastupljene kao i u zemljištu u *Stocu*.

U *rizosferi Ravnjaka* našli smo oko 8 puta više gljivica nego u zemljištu izvan utjecaja korijena. Procentualno učešće gljivica rizosferne mikroflora je isto kao u zemljištu. Broj aktinomiceta je znatno veći (oko 6,5 puta) nego u zemljištu, ali je procentualno učešće aktinomiceta u ukupnom broju rizosferne mikroflora znatno manje nego je učešće aktinomiceta u ukupnom broju mikroorganizama u zemljištu. Heterotrofne aerobne bakterije su povećale brojnost oko 10 puta, a i procentualno učešće je veće (oko 8 puta).

Broj gljivica u *rizoplanu* je opao. Oko 10 puta je manji nego u rizosferi. Procentualno učešće gljivica je manje

Tabela 2

Sorta duhana: *Ravnjak*;

Faze razvoja biljke: Početak bujnog porasta i pun bujni porast;

Duhanište: *Trn, Lištica*;

Datum uzimanja uzoraka: 23. VI 1960. i 18. VII 1960. g.

Redni broj	Vrsta uzorka	Temperatura zemljišta za vrijeme uzimanja uzoraka	Broj mikroorganizama u hiljadama na 1 gr apsolutno suhog zemljišta, rizosferne zemlje, i korijena						
			Gljivice	Aktinomicete	Heterotrofne aerobne bakterije	Sporogene bakterije	Celulolitični mikroorganizmi	Svega mikroorganizama	Faza razvoja biljke
1	Zemljište 0-20 cm	23°C	36 0,5%	1.530 25,1%	4.430 72,4%	20	120 2,0%	6.136 100%	Početak
2	Rizosferna zemlja		287 0,5%	10.000 18,7%	43.000 80,5%	28	100 0,3%	53.387 100%	bujnog
3	Rizoplan		28 0,02%	26.000 22,0%	92.000 78,0%	13	0 0	118.028 100%	porasta
4	Zemljište 0-20 cm	24°C	5 0,1%	1.250 23,5%	3.950 74,1%	5	120 2,3%	5.325 100%	Pun
5	Rizosferna zemlja		157 0,1%	11.800 9,8%	108.000 90,1%	150	50 0,0004%	120.007 100%	bujni
6	Rizoplan		84,6 0,02%	38.500 10,0%	346.000 90,0%	30	0 0	384.584 100%	porast

oko 25 puta nego u rizosferi. Broj aktinomiceta je povećan oko 2,6 puta, dok je procentualno učešće aktinomiceta u ukupnom broju mikroorganizama rizoplana, prema ukupnom broju rizosfere, povećano za 4,3%. Heterotrofni aerobni bakterija ima više za 49 milijuna a to je za oko 2,1 puta više nego u rizosferi. Te bakterije učestvuju u ukupnom broju mikroflora rizoplana sa 78%, dakle, nešto manje nego u ukupnom broju rizosfere.

Druga faza razvoja biljke (18. VII 1960.), *faza bujnog porasta*, ima nešto drugačiju sliku. *Zemljišna* mikroflora je nešto manja u ukupnom broju mikroorganizama nego je ona iz prvog uzimanja (26. VI). Procentualno učešće pojedinih grupa mikroorganizama je također nešto smanjeno.

Mikroflora *rizosfere* se jako povećala. Broj gljivica se povećao za 152 hiljade, a to je oko 30 puta više. Procentualno učešće gljivica je isto kao i kod zemljišta (0,1%). Broj aktinomiceta se povećao za oko 10,6 mili-

juna, a to je skoro 10 puta više nego u zemljištu. Procentualno učešće aktinomiceta u ukupnom broju rizosferne mikroflora je ipak manje nego je njihovo učešće u ukupnom broju u zemljištu. Heterotrofni aerobni bakterija ima 104 milijuna više nego u zemljištu, a to je 27,4 puta više. Procentualno učešće tih bakterija je povećano za 16% u odnosu na njihovo učešće u zemljištu.

Gljivice *rizoplana* su u znatnom padu i po apsolutnoj i procentualnoj vrijednosti. Apsolutni broj aktinomiceta se znatno povećao u usporedbi sa brojem u rizosferi. Za 27 milijuna ih je više. Ipak, procentualno učešće aktinomiceta je kao i u rizosferi. Broj heterotrofni aerobni bakterija je viši za 238 milijuna, dok se procentualno učešće tih bakterija nije izmijenilo prema njihovom učešću u rizosferi.

Brojni odnos pojedinih grupa mikroorganizama rizosfere i rizoplana prema istim mikroorganizmima u zemljištu toga perioda dat je u tabeli 3.



Tabela 3

Brojni odnos mikroorganizama rizosfere (Rf) i rizoplana (Rp) prema mikroorganizmima u zemljištu (Z)

Biljka	Vrsta uzorka	Početak bujnog porasta				Pun bujni porast			
		Gljivice	Aktinomicete	Heterotrofne aerobne bakterije	Ukupan broj	Gljivice	Aktinomicete	Heterotrofne aerobne bakterije	Ukupan broj
V. Golden Cure	Zemljište	1	1	1	1	1	1	1	1
	Rizosfera	$\frac{Rf}{Z} = 1,7$	$\frac{Rf}{Z} = 1,3$	$\frac{Rf}{Z} = 6,2$	$\frac{Rf}{Z} = 4,9$	$\frac{Rf}{Z} = 0,9$	$\frac{Rf}{Z} = 2,0$	$\frac{Rf}{Z} = 5,2$	$\frac{Rf}{Z} = 4,7$
	Rizoplan	$\frac{Rp}{Z} = 0,9$	$\frac{Rp}{Z} = 8,3$	$\frac{Rp}{Z} = 20,4$	$\frac{Rp}{Z} = 17,0$	$\frac{Rp}{Z} = 0,4$	$\frac{Rp}{Z} = 5,0$	$\frac{Rp}{Z} = 29,9$	$\frac{Rp}{Z} = 25,9$
	Zemljište	1	1	1	1	1	1	1	1
Ravnjak	Rizosfera	$\frac{Rf}{Z} = 7,9$	$\frac{Rf}{Z} = 6,6$	$\frac{Rf}{Z} = 9,8$	$\frac{Rf}{Z} = 8,7$	$\frac{Rf}{Z} = 31$	$\frac{Rf}{Z} = 9,5$	$\frac{Rf}{Z} = 27,4$	$\frac{Rf}{Z} = 22,5$
	Rizoplan	$\frac{Rp}{Z} = 0,8$	$\frac{Rp}{Z} = 17,0$	$\frac{Rp}{Z} = 20,9$	$\frac{Rp}{Z} = 19,7$	$\frac{Rp}{Z} = 17,0$	$\frac{Rp}{Z} = 31,8$	$\frac{Rp}{Z} = 87,8$	$\frac{Rp}{Z} = 72,4$

Iz ukupnog broja mikroorganizama (tabela 6) možemo utvrditi da je rizosferna mikroflora u oba perioda i kod obje biljke brojnija nego mikroflora istog perioda u zemljištu. Ukupni brojni odnos mikroorganizama, rizosfere i zemljišta, kod biljke V. Golden Cure je podjednak, odnosno prvi je period 4,9 a drugi je 4,7. Okruglo u rizosferi V. Golden Cure može se naći 5 puta više mikroorganizama nego u zemljištu u istom periodu. Odnos rizoplana prema zemljištu je nešto veći. U prvom periodu je taj odnos u ukupnom broju mikroflora 17,0 dok je u drugom periodu 25,9 za V. Golden Cure. Ovi podaci nam govore o veoma velikoj naseljenosti mikroflora na površini korišćena. Dalje, možemo vidjeti da se ta naseljenost povećava kako biljka ulazi u fazu stvaranja reproduktivnih organa. Analizirajući brojno stanje pojedinih grupa mikroorganizama, zapažamo da najveće brojno povećanje imaju heterotrofne aerobne bakterije. U prvom periodu te bakterije imaju 20,4 puta višu naseljenost, dok je u drugom periodu ta naseljenost 29,9 puta veća nego u zemljištu. U ovom istom odnosu (rizoplan : zemljište) gljivice pokazuju i u relativnom odnosu i u apsolutnim ciframa manju brojnu naseljenost. Aktinomicete povećavaju brojnost u rizoplanu. Mnogo je više aktinomiceta u rizoplanu nego u rizosferi (oko 6 puta).

Podaci u tabeli 5, za hercegovačku sortu duhana Ravnjak, pokazuju da je procentualni odnos rizosfera : zemljište veći u korist i rizosfere i rizoplana Ravnjaka, nego što je bio kod V. Golden Cure. Posmatrajući apsolutne brojeve ne bismo to mogli reći, jer ukupan broj mikroflora rizoplana V. Golden Cure veći je nego u Ravnjaka. Procentualni odnos Ravnjaka je veći i radi toga što je zemljište na kome je Ravnjak zasaden siromašniji u ukupnom broju mikroorganizama. Da bi se uočile karakteristike Ravnjaka i uporedile sa V. Golden Cure, potrebno je pogledati rezultate u tabeli 2. U tabeli 2 vidimo da aktinomicete u prvom periodu učestvuju sa skoro 19% u rizosferi, a sa 22% u rizoplanu od ukupnog broja odgovarajuće mikroflora. Ako taj nalaz uporedimo s nalazima u tabeli 1, za V. Golden Cure, opazit ćemo da u toj fazi razvoja aktinomicete učestvuju samo sa 7% za rizosferu, a 12,2% za rizoplan. U rizosferi, a naročito rizoplanu V. Golden Cure dominiraju bakterije. Bakterije su brojnije i u mikroflori Ravnjaka, ali aktinomicete učestvuju sa mnogo većim postotkom nego kod virdžinske sorte. To je u ranoj fazi. U drugoj fazi razvoja Ravnjaka bakterije podižu procentualni udio, ali nikad ne postižu vrijednost kao kod V. Golden Cure. Učešće aktinomiceta u drugoj

Tabela 4.

Brojni odnos (u hiljadama) mikroorganizama rizosfere (Rf) i rizoplana (Rp) prema broju mikroorganizama u zemljištu (Z)

Biljka	Vrsta uzorka	Početak bujnog porasta		Pun bujni porast	
		Ukupan broj m. o.	Brojni odnos	Ukupan broj m. o.	Brojni odnos
V. Golden Cure	Zemljište	10.373	—	16.201	—
	Rizosfera	50.987	$\frac{Rf}{Z} 4,9$	76.048	$\frac{Rf}{Z} 4,7$
	Rizoplan	176.518	$\frac{Rp}{Z} 17,0$	419.522	$\frac{Rp}{Z} 25,9$
Ravnjak	Zemljište	6.136	—	5.325	—
	Rizosfera	53.387	$\frac{Rf}{Z} 8,7$	120.007	$\frac{Rf}{Z} 22,5$
	Rizoplan	110.028	$\frac{Rp}{Z} 19,7$	384.584	$\frac{Rp}{Z} 72,4$

fazi razvoja Ravnjaka izgleda ne opada, ma da procentualno slabo raste, dok kod V. Golden Cure procentualno vidno opada i učešće tih mikroorganizama.

Ove nalaze o povećanom učešću aktinomiceta u rizosferi i rizoplanu Ravnjaka mogli bismo pripisati osobinama hercegovačkog tipa duhana.

Sporogene bakterije smo obradili samo na uzorcima Ravnjaka. U prvoj fazi razvoja biljke (23. VI) mala je razlika u nalazima sporogenih bakterija u zemljištu, rizosferi i rizoplanu. Ipak, zapažamo da je u rizoplanu manje bacila nego ih ima u rizosferi, pa ih je manje nego i u zemljištu. Procentualno učešće sporogenih bakterija, prema broju bakterija zemljišta rizosfere i rizoplana je veoma neznatno. Sporogene bakterije u zemljištu učestvuju sa 0,4%, u rizosferi sa 0,07%, a u rizoplanu sa 0,01% odgovarajućeg broja bakterija.



U drugom uzimanju uzoraka našli smo da je smanjen broj spороgenih bakterija u zemljištu za 4 puta, ali je u rizosferi toga perioda povećan za skoro 5,4 puta. U rizoplani je također povećana brojna vrijednost za 2,3 puta prema brojnom stanju tih bakterija u prvom periodu. Premda je brojnost spороgenih bakterija povećana, njihovo procentualno učestće je veoma smanjeno. U rizosferi je procentualno učestće smanjeno 70 puta, a u rizoplani oko 100 puta.

Iz ovih analiza vidimo da je vrlo malo učestće spороgenih bakterija u mikroflori rizosfere i rizoplana.

Celulolitičnih mikroorganizama ima u zemljištu Trna znatna količina. Broj aerobnih mikroorganizama koji razlažu celulozu u zemljištu je podjednak u oba perioda. Procentualno učestće im je znatno, oko 2% (vidi tabelu 2). Broj aerobnih celulolitičnih mikroorganizama je znatno smanjen u rizosfernoj mikroflori Ravnjaka. U rizoplani Ravnjaka ih nismo našli. Za zemljište, rizosferu i rizoplan V. Golden Cure o broju ovih mikroorganizama nemamo podataka.

Timonin je ispitivao rizosfernu mikrofloru raznih varijanata Havana duhana, te možemo naše analize porediti sa nalazima koje je Timonin našao. Potrebno je napomenuti da se Timonin (21) u svojim ispitivanjima koristio Waksmanovim natrijevim albuminatskim agarom za bakterije i aktinomicete. Mi smo imali drugi supstrat. Naročito je važno naglasiti da je supstrat za gljivice bio također po Waksmanu, pepton-glukočni agar sa pH 3,8-4. Naš supstrat je po Czapeku i ima pH 5. Još je potrebno spomenuti, da je Timonin ispitivao samo mikrofloru rizosferne zemlje i zemlje udaljene od korijena, kao kontrolne zemlje, te on nema rezultata za mikrofloru rizoplana.

Uspoređujući naše rezultate s rezultatima koje je dobio Timonin, vidimo da se apsolutne brojne vrijednosti donekle podudaraju s našim nalazima u tabeli 1, a da veoma divergiraju s rezultatima u tabeli 2. To je razumljivo, jer su rezultati u tabeli br. 1 dobiveni od američke sorte duhana Virginiae Golden Cure, te je ta sorta (vjerojatno) i biološki bliža sorti Harrow Velvet nego je hercegovačka sorta Ravnjak. Naročito pada u oči velika razlika u brojnosti aktinomiceta i gljivica. Ravnjak ima 4 puta više aktinomiceta i 4,7 puta više gljivica nego Harrow Velvet, a koji je inače po broju bakterija vrlo blizak našem Ravnjaku. Da je veća sličnost između Harrow Velvet i V. Golden Cure vidi se po broju bakterija, aktinomiceta i gljivica u rizosferi tih duhana. Harrow Velvet ima 58,6 milijuna, a V. G. Cure ima 50,9 milijuna. Aktinomiceta ima Harrow Velvet 2,7 dok V. G. Cure ima 3,5 milijuna. Po broju gljivica se ove dvije sorte nešto više razlikuju, jer Harrow Velvet ima 60,5 hiljada, dok V. G. Cure 35,0 hiljada. Iako nisu sasvim isti nalazi, ipak su nalazi za V. G. Cure veoma blizu, za razliku od nalaza rizosferne mikroflore Ravnjaka koji se izrazito razlikuje u brojnosti i sastavu rizosferne mikroflore Harrow Velvet.

Ravnjak je adaptirani proizvod hercegovačke klime, zemljišta i ljudske želje. Virdžinska sorta se kod nas tek uvodi u proizvodnju. Ona ima svoje određene zahtjeve prema sredini pa i prema rizosfernoj mikroflori i mikroflori uopće.

Duhanski institut u Mostaru vrši mnogobrojna ukrštanja virdžinskih sorti duhana, te će biti od velikog inte-

resa da se prouče odnosi tih bastarda prema mikroflori zemljišta i rizosfere. - Na tom polju rada Institut već radi.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu dobivenih rezultata o ispitivanju dinamike rizosferne mikroflore V. Golden Cure i hercegovačke sorte Ravnjak možemo izvesti slijedeći zaključak:

1. Rizosferna mikroflora je uvijek znatno brojnija nego mikroflora zemljišta udaljenog 1 metar od biljke.

2. Mikroflora rizoplana je brojnija od mikroflore rizosfere.

3. Naseljenost mikroflore rizosfere i rizoplana je veća u jeku bujnog porasta biljke nego u početku ove faze.

4. Najveće brojno povećanje imaju heterotrofne aerobne bakterije. Bakterije imaju veći značaj u rizosfernoj i rizoplanskoj mikroflori kod biljke V. Golden Cure nego kod Ravnjaka.

5. Aktinomicete učestvuju većim procentom u rizosferi i rizoplani hercegovačke sorte duhana Ravnjak, nego kod V. G. Cure.

6. Gljivica ima uvijek manje u rizoplani nego u rizosferi. Više gljivica ima rizosfera Ravnjaka nego V. Golden Cure.

## LITERATURA

1. Berezova E. F.: Rol mikroorganizmov v seljskom hozjajstve. »SEL-HOZGIZ«, Moskva 1952.
2. Berezova E. F. i dr.: Primenenije bakterijalnih udobrenij. »SEL-HOZGIZ«, Moskva 1955.
3. Fedorov M. V.: Mikrobiologija. Moskva 1955.
4. Fedorov M. V.: Rukovodstvo k praktičeskim zanatijam po mikrobiologiji. Moskva 1957.
5. Gračanin M.: Pedologija III dio. Zagreb 1951.
6. Guščerov G. K.: Rasprostranjenje na azotobakter v rizosferata na tutuna od Stankedimitrovska. Sofija 1956.
7. Ivanović P. i Odić M.: Prilog poznavanju rasta i razvoja duhana hercegovačkog tipa. »Zbornik radova« Duvanskog instituta u Mostaru, 1954.
8. Krasilnikov N. A.: Mikroorganizmi počvi i višije rastenija. Moskva 1958.
9. Krasilnikov N. A.: Mikrobiološke osnove bakterijalnih đubriva. (Prevod: Tešić Z. Beograd 1948.)
10. Micev N.: Komparativno izučavanje na rizosferata mikroflora kaj pčenicata, jačmenot i graorot. »Godišen zbornik« Skopje 1952./53. i 1953./54.
11. Micev N.: Novija gledišta o rizosferi i njenoj mikroflori. »Zemljište biljke mikroorganizmi«, Beograd 1957.
12. Micev N.: Vlijaneto na superfosfatot i boraksot vrz rizosferata mikroflora kaj lucerkata. »Godišen zbornik«, Skopje 1956./57.
13. Novogradski A. N.: Počvannaja mikrobiologija. Alma-Ata 1956.
14. Pochon et De Barjac: Traité de Microbiologie des sols. »DUNOD« Paris 1958.
15. Puškinskaja O. I.: K metodike količestvennogo učeta mikroorganizmov sposobnih zazlagat kltčatku v počvah. »Mikrobiologija« 23, 1. Moskva 1949.
16. Prošireni plenum sekcije za đubriva »VASHNIL«: Metodika mikrobioloških ispitivanja zemljišta i korjenova sistema. Moskva 1953. (Prevod. Tešić Z.)
17. Rebac H.: Neke mikrobiološke analize crvenica u Heregovini. (Rukopis, 1960)
18. Silber G. L. i dr.: Mikrobiologija v opitah. Moskva 1953.
19. Tešić Z.: Ekološki pogled na zemljišnu mikrofloru i mikrofaunu. »Zemljište mikroorganizmi biljke«, Beograd 1957.
20. Tešić Z.: Novija gledišta o odnosima mikroorganizama i biljaka. »Zemljište mikroorganizmi biljke« Beograd 1957.
21. Timonin J. M.: The interaction of Higher Plants and soil Microorganisms II Study of the Microbial Population of the Rhizosphere in Relation to Plant to Soil-born diseases. Can. Jour. of Res., Vol 18 sept. 1940.