

# **Primjena nitrofiksirajućih bakterija u cilju redukcije mineralnih dušičnih gnojiva u uzgoju šećerne repe**

The application of nitrogen- fixing bacteria in order to reduce the mineral nitrogen fertilizers in sugar beet

**Kristek, S., Brkić, S., Jović, J., Stanković, A., Čupurdija, B., Brica, M., Karalić, K.**

**Poljoprivreda/Agriculture**

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

<https://doi.org/10.18047/poljo.26.2.8>



**Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Poljoprivredni institut Osijek**

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Agricultural Institute Osijek

# PRIMJENA NITROFIKSIRAJUĆIH BAKTERIJA U CILJU REDUKCIJE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA U UZGOJU ŠEĆERNE REPE

Kristek, S.<sup>(1)</sup>, Brkić, S.<sup>(2)</sup>, Jović, J.<sup>(1)</sup>, Stanković, A.<sup>(3)</sup>, Čupurdija, B.<sup>(4)</sup>, Brica, M.<sup>(1)</sup>, Karalić, K.<sup>(5)</sup>

Izvorni znanstveni članak

Original scientific paper

## SAŽETAK

**Cilj je provedenoga istraživanja ispitati mogućnosti redukcije mineralnih dušičnih gnojiva primjenom slobodnih (*Azotobacter chroococcum*) i asocijativnih (*Azospirillum brasilense*) dušičnih bakterija u kulturi šećerne repe, uz zadržavanje visokih prinosa i kvalitete korijena. Uz povrće, najviše nitrata skupljaju vrste porodice Chenopodiaceae, kojoj pripada i šećerna repa. Dušik je prinosotvorni element, pa se u gnojidbi koristi u velikim količinama; međutim on je i najnestabilniji makroelement koji se ispire u dublje slojeve tla i vrlo često dolazi do eutrofikacije podzemnih voda. Brojne bolesti povezuju se s visokom količinom nitrata, nitrata i nitroznih spojeva podrijetlom iz hrane biljnoga izvora, vode i suhomesnatih proizvoda. Rezultati istraživanja pokazali su da je moguće reducirati mineralnu gnojidbu dušikom primjenom nitrofiksirajućih bakterija, dapače s dobivanjem veće kvalitete istraživanih svojstava šećerne repe. Nitrofiksirajuće bakterije nastanile su rizosferu korijena i biljke su se mogle koristiti raspoloživim dušikom koji im u danome vegetacijskom periodu treba, što nije slučaj kod gnojidbe dušičnim gnojivima.**

**Ključne riječi:** dušične bakterije, prinos i kvaliteta repe, redukcija gnojidbe dušikom

## UVOD

Šećerna je repa kultura koja razvija ogromnu lisnu masu kako bi procesom fotosinteze njezini produkti bili translocirani u cilju razvoja korijena kao krajnjega proizvoda ove industrijske kulture. Iz navedenih razloga šećernoj repi treba velika količina dušika kao hraniva. Tu treba voditi računa o primijenjenoj količini dušičnih gnojiva zavisno od kemijskih i mikrobioloških svojstava tala. Nadalje, treba voditi računa o vremenskim prilikama, da bismo izbjegli neiskorištene količine dušika od strane biljaka koje će se, zbog izrazite nestabilnosti ovoga hraniva, isprati u dublje slojeve tla i dovesti do eutrofikacije podzemnih voda. Štoviše, prekomjerne količine dušičnih gnojiva negativno utječu na sadržaj melasotvornih tvari, a u prvome redu alfa-amino dušika. Također, u rezultatima brojnih autora navodi se kako visoke količine dušičnih gnojiva pogoduju razvoju bolesti

kako korijena šećerne repe (Hecker i Ruppel, 1980., Kristek i sur., 2017a; Luis i sur., 2017.), tako i lista repe (Dohmen-Vereijssen i sur., 2005.; Pytlarz-Kozicka, 2005.). Korištenjem nesimbiotskih i asocijativnih dušičnih bakterija u uzgoju šećerne repe postoji mogućnost redukcije mineralnih dušičnih gnojiva.

Brown i Burlingham (1968.), kao i Döbereiner (1988.), utvrdili su da se zanemaruje količina dušika koji nitrofiksirajuće bakterije usvajaju iz zraka i prevode

(1) Prof. dr. sc. Suzana Kristek (skristek@fazos.hr), dr. sc. Jurica Jović, Marina Brica, mag. ing. agr. – Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska, (2) Sandra Brkić, doktor medicine – Dom zdravlja Zagreb Zapad, Prilaz baruna Filipovića 11, 10000 Zagreb, Hrvatska, (3) Andrej Stanković, mag. ing. agr. – OPG Stanković, 52000 Pula, Hrvatska, (4) Boris Čupurdija, dipl. oec. – Žitar d.o.o., (5) izv. prof. dr. sc. Krunoslav Karalić – Ministarstvo poljoprivrede, Ulica grada Vukovara 78, 10000 Zagreb, Hrvatska

ga u amonijačni, pa u nitratni oblik, koji je pristupačan i biljkama i višim mikroorganizmima. Procijenili su da je količina dušika dobivena nitrofikacijom na svim površinama na svijetu i do pet puta veća od godišnje svjetske proizvodnje mineralnih dušičnih gnojiva. Dalje navode da kod prirodnoga ciklusa dušika nema suviška kao kod gnojidbe mineralnim dušičnim gnojivima, jer mikroorganizmi istovremeno provode sve faze oksidacije i redukcije oblika dušika (nitrofikacija – amonifikacija – nitrifikacija – denitrifikacija), te nema opasnosti od velikih količina nitrata u poljoprivrednim proizvodima, kao ni od eutrikacije podzemnih voda.

Cakmaci i sur. (2010.) navode da se primjenom nesimbiotskih nitrofikirajućih bakterija šećernoj repi može osigurati 50–80 kg/ha N<sub>2</sub>.

Zbog svega navedenoga, cilj provedenoga istraživanja jest ispitati mogućnosti redukcije mineralnih dušičnih gnojiva primjenom slobodnih i asocijativnih dušičnih bakterija u uzgoju šećerne repe, uz zadržavanje visokih prinosa i kvalitete korijena.

## MATERIJAL I METODE

Istraživanja su provedena tijekom 2017. i 2018. godine na humogleju i eutričnome smeđem tlu (Tablica 1.). Pokus je postavljen prema split-blok shemi u četirima ponavljanjima na dvama tipovima tla, na svakome u 12 različitih varijanata. Površina osnovne parcele iznosila je 72 m<sup>2</sup> (12 redova dužine 12 m; međuredni razmak 50 cm), dok je obračunska parcela iznosila 20 m<sup>2</sup>. Razmak u redu iznosio je 14 cm.

**Tablica 1. Kemijska svojstva tla**

*Table 1. Chemical properties of soil*

Ispitivana svojstva tla <i>Soil properties tested</i>	Tip tla <i>Soil type</i>	
Oranični sloj (0-30 cm) <i>Plowing layer</i>	Humoglej <i>Humogley</i>	Eutrično smeđe tlo <i>Eutric brown soil</i>
pH (H <sub>2</sub> O)	7,61	6,80
pH (KCl)	6,73	5,88
Humus (%)	2,95	2,11
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/100 g tla)	26,50	23,71
K <sub>2</sub> O (mg/100 g tla)	23,85	21,20

Nakon skidanja predkulture (ozima pšenica) uzeti su uzorci tla za određivanje mikrobioloških svojstava tla (Tablica 2.).

**Tablica 2. Mikrobiološka svojstva tla**

*Table 2. Microbiological properties of soil*

Tip tla <i>Soil type</i>	Bakterije <i>Bacteria</i> (log CFU g <sup>-1</sup> )	Gljive <i>Fungi</i> (log CFU g <sup>-1</sup> )	Aktinomicete <i>Actinomycetes</i> (log CFU g <sup>-1</sup> )	<i>Azotobacter chroococcum</i> (% akt. zn. tla) (% active soil grains)	Celulolitički mikroorganizmi (% akt. zn. tla) <i>Cellulolytic microorganisms</i> (% active soil grains)
Humoglej <i>Humogley</i>	7,03	5,02	5,28	50,30	52,80
Eutrično smeđe tlo <i>Eutric brown soil</i>	7,00	5,12	5,21	47,90	50,30

Elementi istraživanja bili su sljedeći:

A. Hibrid :

- 1) *Santino* (Strube)
- 2) *Jadranka* (KWS)

B. Primjena nitrofikirajućih bakterija:

- 1) kontrola

2) tretman tla nitrofikirajućim bakterijama – 1 kg pripravka/ha (8 x 10<sup>9</sup> CFU/g *Azotobacter chroococcum*, 4 x 10<sup>8</sup> CFU/g *Azospirillum brasilense*)

C. Gnojidba dušikom:

- 1) kontrola
- 2) na osnovu rezultata analize tla
- 3) reducirana za 30%.

Osnovna gnojidba na humogleju provedena je sa sljedećim količinama hraniva: 40 kg/ha  $P_2O_5$ , 180 kg/ha  $K_2O$ , te 40 kg/ha  $N_2$  na osnovi rezultata analize tla (C1), odnosno reducirana za 30% (C2) - 28 kg  $N_2$ /ha. Predsjetvena gnojidba dušikom (varijanta C1) iznosila je 40 kg/ha  $N_2$  odnosno 28 kg/ha  $N_2$  (varijanta C2). Prihrana je obavljena u količini od 20 kg/ha  $N_2$  (varijanta C1), odnosno 14 kg/ha  $N_2$  (varijanta C2). Ukupna primijenjena količina dušika tijekom vegetacije šećerne repe iznosila je 100 kg/ha (varijanta C1), odnosno 70 kg/ha na varijanti C2.

Na eutričnome smeđem tlu osnovna gnojidba iznosila je 70 kg/ha  $P_2O_5$ , 220 kg/ha  $K_2O$ , 50 kg/ha  $N_2$  (varijanta C1) te 35 kg/ha  $N_2$  (varijanta C2). Predsjetvena gnojidba dušikom (varijanta C1) iznosila je 45 kg/ha  $N_2$ , odnosno 31,5 kg/ha  $N_2$  (varijanta C2). Prihrana je obavljena s 25 kg/ha  $N_2$  (varijanta C1), odnosno 17,5 kg/ha  $N_2$  (varijanta C2). Ukupna primijenjena količina dušika tijekom vegetacije šećerne repe iznosila je 120 kg/ha (varijanta C1), odnosno 84 kg/ha na varijanti C2.

Sjetva je obavljena u optimalnim rokovima. Na tipu tla humoglej repe je posijana 13.3.2017. i 17.3.2018., dok je na eutričnome smeđem tlu posijana 15.3.2017. i 20.3.2018. godine. Neposredno prije predsjetvene pripreme inkorporiran je biopripravak u tlo, i to tako da je suspendiran u vodi (1 kg u 200 litara vode po hektaru). Tijekom proljeća utvrđeno je poljsko nicanje šećerne repe. S obzirom na to da je sklop bio zadovoljavajući, nije bilo potrebno njegovo uređenje. Sredinom kolovoza (11.8.2017. i 17.8. 2018.) uzeti su uzorci iz rizosfere korijena repe za određivanja sadržaja nitrofiksirajućih bakterija. Nakon vađenja šećerne repe u laboratoriju Tvornice šećera u Županji određen je prinos korijena. Sadržaj šećera određen je saharometrom postupkom hladne digestije, sadržaj kalija i natrija plamenim fotometrom, a sadržaj AmN kolorimetrijski, metodom „plavoga broja“. Prema Braunschweigerovoj formuli izračunan je prinos čistoga šećera.

Dobiveni podatci obrađeni su suvremenim statističkim metodama (analiza varijance i u statističkom programu SAS 9.3).

## REZULTATI I RASPRAVA

Tijekom dvogodišnjega istraživanja na obama tipovima tla najviši prosječni prinos korijena šećerne repe, kod obaju hibrida, dobiven je primjenom nitrofiksirajućih bakterija, uz reduciranu gnojidbu dušikom za 30% u odnosu na gnojidbu na osnovi rezultata analiza tla (Tablica 3.).

Kod hibrida *Santino* na kontrolnoj varijanti nije bilo statistički značajne razlike između gnojidbe na osnovi rezultata analiza tla i reducirane gnojidbe dušikom za

30% ( $p < 0,01$ ). Kod hibrida *Santino* između navedenih je varijanti statistički vrlo značajna razlika ustanovljena samo u prvoj godini istraživanja (2017.), na humogleju.

Najviši prosječni prinos korijena tijekom dvogodišnjega istraživanja na obama tipovima tla kod hibrida *Santino* iznosio je 63,49 t/ha, i bio je za 10,46% viši od najvišega prosječnog prinosa dobivenoga bez primjene nitrofiksirajućih bakterija, uz punu gnojidbu dušikom (57,48 t/ha). Kod hibrida *Jadranka* razlika je iznosila 10,67%.

Kuzevski i sur. (2011.), koristeći se *A. chroococcum* u uzgoju šećerne repe, dobivaju povećanje prosječnog prinosa korijena šećerne repe u rasponu od 16–19%. Milić i sur. (2004.) navode da se mineralna dušična i fosforna gnojiva mogu reducirati uvođenjem nitrofiksirajućih bakterija i bakterija topljivih u fosforu, koji transformiraju makroelemente nužne za ishranu biljaka (dušik i fosfor) u oblike pristupačne biljkama.

Kristek i sur. (2016.), koristeći se biopripravkom koji je sadržavao i nesimbiotske nitrofiksirajuće bakterije u manjim količinama (do  $4 \times 10^3$  CFU/g), dobili su povećanje prosječnog prinosa korijena repe za 3,20–5,28% na tretiranoj varijanti, uz redukciju dušičnih gnojiva za 30% u odnosu na tretiranu varijantu uz punu gnojidbu dušikom.

Kristek i sur. (2017.) primijenili su u uzgoju soje, osim simbiotskih bakterija *Bradyrhizobium japonicum*, i nesimbiotsku bakteriju *Azotobacter chroococcum* te dobili statistički značajno viši prinos i elemente kvalitete soje u odnosu na inokulaciju sjemena isključivo simbiotskim bakterijama *B. japonicum*.

Najviši prosječni sadržaj šećera u obje godine istraživanja, na obama tipovima tla i kod obaju korištenih hibrida, ostvaren je na varijanti tretiranoj mikrobiološkim pripravkom, uz reduciranje gnojidbe dušikom od 30% u odnosu na preporučenu gnojidbu na osnovi rezultata analiza tla (Tablica 4.).

Najviši prosječni sadržaj šećera tijekom dvogodišnjega istraživanja na obama tipovima tla kod hibrida *Santino* iznosio je 15,76% i bio je relativno za 10,97% viši od najvišega prosječnog prinosa dobivenoga bez primjene nitrofiksirajućih bakterija, uz punu gnojidbu dušikom (14,37%). Kod hibrida *Jadranka* razlika je iznosila 10,43 %.

Kristek i sur. (2016.) dobili su povećanje prosječnog sadržaja šećera za 3,46% na tretiranoj varijanti, uz redukciju dušičnih gnojiva za 30% u odnosu na tretiranu varijantu, uz punu gnojidbu dušikom. Koristili su se kompleksnim biopripravkom koji je sadržavao nesimbiotske dušične bakterije u koncentraciji do  $4 \times 10^3$  CFU/g.

**Tablica 3. Prinos korijena šećerne repe (t/ha) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2017., 2018.)**

Table 3. Sugar beet root yield (t/ha) during a biennial research (2017, 2018)

Hibrid <i>Hybrid</i> (A)	Primjena biopripr. <i>Appl. of biopr.</i> (B)	Primjena N <sub>2</sub> gnoj. <i>Appl. of N<sub>2</sub> fertil.</i> (C)	Prinos korijena šećerne repe / <i>Sugar beet root yield (t/ha)</i>						Ukupni prosjek <i>Total average</i>
			Tip tla / <i>Soil type</i>						
			Humoglej <i>Humogley</i>			Eutrično smeđe tlo <i>Eutric brown soil</i>			
			2017.	2018.	Prosjek <i>Average</i>	2017.	2018.	Prosjek <i>Average</i>	
Santino	Kontrola <i>Control</i>	1	50,48	48,09	49,29	47,96	47,10	47,53	48,41
		2	58,81	58,04	58,43	57,21	55,84	56,53	57,48
		3	56,17	54,27	55,22	54,10	52,60	53,35	54,29
	Nitrofik. bakterije <i>N<sub>2</sub> fixing bacteria</i>	1	57,60	56,29	56,95	56,96	56,28	56,62	56,79
		2	62,14	59,03	60,59	60,18	59,11	59,65	60,12
		3	64,85	62,90	63,88	63,88	62,90	63,09	63,49
Prosjek / <i>Average</i>			58,34	56,44	57,39	56,62	55,64	56,13	56,76
Jadranka	Kontrola <i>Control</i>	1	58,28	56,40	57,34	57,80	57,10	57,45	57,40
		2	67,36	66,32	66,74	65,31	64,36	64,84	65,79
		3	63,13	62,07	62,65	62,18	61,80	61,99	62,33
	Nitrofik. bakterije <i>N<sub>2</sub> fixing bacteria</i>	1	63,55	62,97	63,26	62,08	60,99	61,54	62,40
		2	65,92	64,55	65,24	65,02	64,07	64,55	64,90
		3	71,46	71,08	71,27	69,55	68,83	69,19	70,23
Prosjek / <i>Average</i>			64,95	63,88	64,42	63,66	62,86	63,26	63,84
Ukupni prosjek / <i>Total average</i>			61,65	60,16	60,91	60,14	59,25	59,70	60,31
LSD <sub>0,05</sub>			1,62	2,71	2,32	1,91	2,08	2,05	1,99
LSD <sub>0,01</sub>			3,17	4,85	4,07	3,49	3,85	3,71	3,88

(A) Hibrid; (B) Primjena biopripravka; (C) Primjena dušičnih gnojiva: 1 – kontrola, 2 – gnojidba na osnovi rezultata analize tla, 3 – gnojidba reducirana za 30%

(A) Hybrid; (B) Application of biopreparations; (C) Application of nitrogen fertilizers: 1 – control, 2 – fertilization based on the soil analysis results, 3 – fertilization reduced by 30%

Kuzevski i sur. (2011.) koristili su se *A. chroococcum* u uzgoju šećerne repe te u varijantama reducirane gnojidbe dušikom i dobili povećanje prosječnoga sadržaja šećera u rasponu od 20–21%.**Tablica 4. Sadržaj šećera (%) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2017., 2018.)**

Table 4. Sugar content (%) during a biennial research (2017, 2018)

Hibrid <i>Hybrid</i> (A)	Primjena biopripr. <i>Appl. of biopr.</i> (B)	Primjena N <sub>2</sub> gnoj. <i>Appl. of N<sub>2</sub> fertil.</i> (C)	Sadržaj šećera / <i>Sugar content (%)</i>						Ukupni prosjek <i>Total average</i>
			Tip tla / <i>Soil type</i>						
			Humoglej <i>Humogley</i>			Eutrično smeđe tlo <i>Eutric brown soil</i>			
			2017.	2018.	Prosjek <i>Average</i>	2017.	2018.	Prosjek <i>Average</i>	
Santino	Kontrola <i>Control</i>	1	13,49	13,03	13,26	13,02	13,04	13,03	13,15
		2	14,78	14,20	14,49	14,41	14,02	14,24	14,37
		3	14,50	13,89	14,20	13,88	13,55	13,72	13,96
	Nitrofik. bakterije <i>N<sub>2</sub> fixing bacteria</i>	1	14,38	14,09	14,24	14,16	14,02	14,09	14,15
		2	15,09	14,80	14,95	14,88	14,49	14,74	14,85
		3	15,86	15,22	15,76	15,52	14,97	15,75	15,76
Prosjek / <i>Average</i>			14,68	14,21	14,45	14,31	14,03	14,17	14,31
Jadranka	Kontrola <i>Control</i>	1	14,29	14,31	14,30	14,18	14,26	14,22	14,26
		2	16,18	15,97	16,10	15,80	15,61	15,71	15,91
		3	15,98	15,58	15,78	15,52	15,38	15,45	15,62
	Nitrofik. bakterije <i>N<sub>2</sub> fixing bacteria</i>	1	15,61	15,80	15,71	15,54	15,20	15,37	15,54
		2	16,34	16,22	16,28	16,19	16,01	16,10	16,19
		3	16,85	16,76	16,81	16,65	16,31	16,43	16,62
Prosjek / <i>Average</i>			15,88	15,77	15,83	15,63	15,46	15,55	15,69
Ukupni prosjek / <i>Total average</i>			15,28	14,99	15,14	14,97	14,75	14,86	15,00
LSD <sub>0,05</sub>			0,24	0,21	0,23	0,28	0,22	0,23	0,24
LSD <sub>0,01</sub>			0,46	0,39	0,45	0,49	0,40	0,41	0,43

(A) Hibrid; (B) Primjena biopripravka; (C) Primjena dušičnih gnojiva: 1 – kontrola, 2 – gnojidba na osnovi rezultata analize tla, 3 – gnojidba reducirana za 30%

(A) Hybrid; (B) Application of biopreparations; (C) Application of nitrogen fertilizers: 1 – control, 2 – fertilization based on the soil analysis results, 3 – fertilization reduced by 30%

Tijekom dvogodišnjega istraživanja na obama tipovima tla najviši prosječni prinos čistoga šećera, kod obaju hibrida, dobiven je primjenom nitrofiksirajućih bakterija te uz reduciranu gnojidbu dušikom za 30%, u odnosu na gnojidbu na osnovi rezultata analiza tla (Tablica 5.).

Kod hibrida *Santino* najviši prosječni prinos čistoga šećera tijekom dvogodišnjega istraživanja na obama tipovima tla iznosio je 7,82 t/ha i bio je za 11,38% viši od najvišega prosječnog prinosa dobivenoga bez primjene nitrofiksirajućih bakterija, uz punu gnojidbu dušikom (6,87 t/ha). Kod hibrida *Jadranka* razlika je iznosila 11,91%.

Koristeći *A. chroococcum* u kulturi šećerne repe, Kuzevski i sur. (2011.) dobili su povećanje prosječnoga prinosa čistoga šećera u rasponu od 21–23%.

Koristeći se biopripravkom koji je sadržavao i nesimbiotske nitrofiksirajuće bakterije u manjim količinama (do  $4 \times 10^3$  CFU/g), Kristek i sur. (2016.) dobili su povećanje prosječnoga prinosa čistoga šećera za 4,85–5,90% u tretiranoj varijanti, uz redukciju dušičnih gnojiva za 30% u odnosu na tretiranu varijantu uz punu gnojidbu dušikom.

**Tablica 5. Prinos čistoga šećera (t/ha) tijekom dvogodišnjega istraživanja (2017., 2018.)**

Table 5. Sugar yield (%) during a biennial research (2017, 2018)

Hibrid Hybrid (A)	Primjena biopripr. Applic. of biopr. (B)	Primjena N <sub>2</sub> gnoj. Appl. of N <sub>2</sub> fertil. (C)	Prinos čistog šećera / Sugar yield (t/ha)						Ukupni prosjek Total average
			Tip tla / Soil type						
			Humoglej Humogley			Eutrično smeđe tlo Eutric brown soil			
			2017.	2018.	Prosjek Average	2017.	2018.	Prosjek Average	
<i>Santino</i>	Kontrola Control	1	6,13	6,02	6,08	5,86	5,80	5,83	5,96
		2	7,25	6,96	7,11	6,68	6,55	6,62	6,87
		3	6,83	6,40	6,62	6,33	6,25	6,29	6,45
	Nitrofiks. bakterije N <sub>2</sub> fixing bacteria	1	7,03	7,01	7,02	6,81	6,78	6,80	6,92
		2	7,58	7,41	7,50	7,35	7,22	7,29	7,69
		3	8,26	8,09	8,18	8,03	7,86	7,45	7,82
Prosjek / Average			7,18	6,98	7,08	6,84	6,74	6,71	6,90
<i>Jadranka</i>	Kontrola Control	1	7,49	7,43	7,46	7,22	7,09	7,16	7,31
		2	8,59	8,30	8,45	8,36	8,01	8,19	8,32
		3	8,08	8,02	8,05	7,90	7,67	7,79	7,92
	Nitrofiks. bakterije N <sub>2</sub> fixing bacteria	1	8,38	7,93	8,15	7,72	7,75	7,74	7,95
		2	9,46	9,16	9,31	8,83	8,77	8,80	9,06
		3	10,27	10,13	10,20	9,81	9,40	9,61	9,91
Prosjek / Average			8,71	8,50	8,60	8,31	8,12	8,22	8,41
Ukupni prosjek / Total average			7,95	7,74	7,85	7,58	7,43	7,51	7,68
LSD <sub>0,05</sub>			0,23	0,29	0,25	0,21	0,28	0,24	0,25
LSD <sub>0,01</sub>			0,44	0,56	0,49	0,40	0,57	0,48	0,49

(A) Hibrid; (B) Primjena biopripravka; (C) Primjena dušičnih gnojiva: 1 – kontrola, 2 – gnojidba na osnovi rezultata analize tla, 3 – gnojidba reducirana za 30%

(A) Hybrid; (B) Application of biopreparations; (C) Application of nitrogen fertilizers: 1 – control, 2 – fertilization based on the soil analysis results, 3 – fertilization reduced by 30%

Čačić i sur. (2003.) i Mrkovački i sur. (2008.) otkrili su značajan utjecaj bakterije *Azotobacter chroococcum* na produktivne i tehnološke osobine šećerne repe, dok Mrkovački i Mezei (2003.) naglašavaju značajno povećanje biogenosti rizosfere šećerne repe korištenjem navedene nitrofiksirajuće bakterije. Osim na sposobnost vezanja atmosferskoga dušika, bakterije roda *Azotobacter* pozitivno utječu i na rast i prinos biljaka zbog sposobnosti stvaranja fitohormona, egzopolisaharida, siderofora i antibiotika (Bjelić i sur., 2019.).

Basosi i sur. (2014.) ističu da je gnojidba visokim količinama dušičnih gnojiva jedna od glavnih ljudskih poljoprivrednih praksi, s velikom emisijom zagađivača u okoliš, atmosferu, zemlju i vodu. Poljoprivredne aktivnosti povezane s primjenom mineralnoga dušika znatno

doprinosu emisiji stakleničkih plinova kao što su CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O, zajedno s plinovima u tragovima (NH<sub>3</sub> i NO<sub>4</sub>) i ispiranjem NO<sub>3</sub>.

Iz Tablice 6. vidljivo je da je najveći sadržaj nitrofiksirajućih bakterija određen u varijanti u kojoj je primijenjena gnojidba dušikom reduciranim za 30%, u odnosu na preporučenu gnojidbu na osnovi rezultata analize tla. Veće količine dušika djelovale su negativno na broj nitrofiksirajućih bakterija u tlu, što je sukladno rezultatima istraživanja (Becking, 1961.; Andersen i sur., 2003.; Jnawali i sur., 2015.; Zuffo, 2018.). Za razliku od simbiotskih nitrofiksirajućih bakterija rodova *Bradyrhizobium* i *Rhizobium*, nesimbiotske nitrofiksirajuće bakterije ostaju u tlu i usvajaju atmosferski dušik te ga stavljaju na raspolaganje i u idućim vegetacijskim godinama.

**Tablica 6. Sadržaj nitrofiksirajućih bakterija *A. chroococcum* i *A. brasilense* u rizosferi korijena repe**Table 6. The contents of nitrofixing bacteria *A. chroococcum* and *A. brasilense* in the beet root rhizosphere

Tip tla Soil type	<i>Azotobacter chroococcum</i> (log CFU g <sup>-1</sup> )			<i>Azospirillum brasilense</i> (log CFU g <sup>-1</sup> )		
	1	2	3	1	2	3
Humoglej <i>Humogley</i>	5,60	7,90	8,70	3,70	5,95	6,85
Eutrično smeđe tlo <i>Eutric brown soil</i>	3,85	5,30	6,60	2,90	4,70	5,30

Primjena dušičnih gnojiva: 1 – kontrola, 2 – gnojidba na osnovu rezultata analize tla, 3 – reducirana gnojidba za 30%

Application of nitrogen fertilizers: 1 – control, 2 – fertilization based on the soil analysis results, 3 – fertilization reduced by 30%

## ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih dvogodišnjih istraživanja (2017., 2018.) sjetvom dvaju hibrida šećerne repe na dvama tlima različitih kemijskih svojstava te primjenom mikrobiološkoga pripravka i dvije razine gnojidbe mineralnim dušičnim gnojivom (uz kontrolu) možemo zaključiti sljedeće:

1. najviši prosječni prinos korijena, sadržaj šećera, kao i prinos čistoga šećera, dobiven je na varijanti primjenom nitrofiksirajućih bakterija i uz gnojidbu dušikom reduciranim za 30%, i to u obje godine istraživanja, na obama tipovima tla i kod obaju korištenih hibrida

2. korištenjem biopripravaka koji sadrže nesimbiotske i asocijativne dušične bakterije moguće je reducirati količinu mineralnih dušičnih gnojiva, što je s ekološkoga i ekonomskog aspekta od iznimnoga značenja.

## LITERATURA

- Andersen, J. B., Koch, B., Nielsen, T. H., Sørensen, D., Hansen, M., Nybroe, O., ... & Givskov, M. (2003). Surface motility in *Pseudomonas* sp. DSS73 is required for efficient biological containment of the root-pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. *Microbiology*, 149(1), 37-46. <https://doi.org/10.1099/mic.0.25859-0>
- Basosi, R., Spinelli, D., Fierro, A., & Jez, S. (2014). Mineral nitrogen fertilizers: environmental impact of production and use. *Fertil. Compon. Uses Agric. Environ. Impacts*, Nova science publishers. Lopez-Valdez, F and Fernandez-Luquenos, F, New York, 3-44.
- Becking, J. H. (1961). Studies on the nitrogen-fixing bacteria of the genus Beijerinckia: II. Mineral nutrition and resistance to high levels of certain elements in relation to soil type. *Plant and Soil*, 297-322.
- Bjelić, D., Adamović, D., Marinković, J., Tintor, B., & Mrkovački, N. (2019). Possibility of achieving organic yields for medicinal and aromatic plants by biofertilization with *Azotobacter chroococcum*. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 18(5). <https://doi.org/10.24326/asphc.2019.5.1>
- Brown, M. E. (1968). Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. *Microbiology*, 53(1), 135-144.
- Çakmakçı, R., Erman, M., Kotan, R., Çiğ, F., Karagöz, K., & Sezen, M. (2010, February). Growth promotion and yield enhancement of sugar beet and wheat by application of plant growth promotion rhizobacteria. In *Proceedings International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems* (pp. 198-202). <https://doi.org/10.3923/rjsb.2015.28.45>
- Čačić, N., Mrkovački, N., Mezei, S., & Kovačev, L. (2003). Efekat primene *Azotobacter chroococcum* u šećernoj repi. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 38, 271-280. <https://doi.org/10.2298/ZMSPN1630045M>
- Döbereiner, J. (1989). Isolation and identification of root associated diazotrophs. In *Nitrogen fixation with non-legumes* (pp. 103-108). Springer, Dordrecht.
- Vereijssen, J., Schneider, J. H., & Termorshuizen, A. J. (2005). Root infection of sugar beet by *Cercospora beticola* in a climate chamber and in the field. *European Journal of plant Pathology*, 112(3), 201-210. <https://doi.org/10.1007/s10658-004-4172-y>
- Hecker, R. J., & Ruppel, E. G. (1980). *Rhizoctonia* root rot of sugarbeet as affected by rate and nitrogen fertilizer carrier. *J. Sugar Beet Res*, 20, 571-577.
- Jnawali, A. D., Ojha, R. B., & Marahatta, S. (2015). Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability – A Review. *Adv. Plants Agric. Res*, 2(6), 1-5. <https://doi.org/10.15406/apar.2015.02.00069>
- Kristek, S., Rešić, I., Bažok, R., Jović, J., & Varga, I. (2016). Influence of microbiological preparation on sugar beet infection by *Rhizoctonia solani* Kühn. *Listy cukrovarnické a řepařské*, 132(9/10), 289.
- Kristek, S., Rešić, I., Jović, J., Rašić, S., Varga, I., Lenart, L., ... & Antunović, M. (2017). The possibility of mineral nitrogen fertilization reduction by applying beneficial microorganisms. *Listy cukrovarnické a řepařské*, 132(3), 90-93.
- Kristek, S., Rešić, I., Jović, J., Rašić, S., Varga, I., Lenart, L., ... & Antunović, M. (2017). The possibility of mineral nitrogen fertilization reduction by applying beneficial microorganisms. *Listy cukrovarnické a řepařské*, 132(3), 90-93.
- Kristek, S., Lenar, L., Jović, J., Marček, T., Zmaić, K., Rešić, I., & Rašić, S. (2017). The influence of beneficial microorganisms on yield and quality of soybean

- grains under conditions of reduced nitrogen fertilization. *Poljoprivreda*, 23(2), 25-30.  
<https://doi.org/10.18047/poljo.23.2.4>
16. Kuzevski, J., Mrkovački, N., Čačić, N., Bjelić, D., Marinković, J., & Filipović, V. (2011). Uticaj primene *Azotobacter chroococcum* na proizvodne osobine i mikroorganizme u rizosferi šećerne repe. *Field & Vegetable Crops Research / Ratarstvo i povrtarstvo*, 48, 83-390  
<https://doi.org/10.2298/ZMSPN1630045M>
  17. Mur, L. A., Simpson, C., Kumari, A., Gupta, A. K., & Gupta, K. J. (2017). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*, 119(5), 703-709.  
<https://doi.org/10.1093/aob/mcw179>
  18. Milić, V. M., Jarak, M. N., Mrkovački, N. B., Milošević, N. A., Govedarica, M. M., Đurić, S., & Marinković, J. (2004). Microbiological fertilizer use and study of biological activity for soil protection purposes. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 40, 153-169.
  19. Mrkovački, N., & Mezei, S. (2003). Primena sojeva *Azotobacter chroococcum*-NS Betafixina u gajenju šećerne repe. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 39, 49-55.
  20. Mrkovački, N., Marinković, J., & Acimović, R. (2008). Effect of N fertilizer application on growth and yield of inoculated soybean. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36(1), 48-51.  
<https://doi.org/10.15835/nbha36190>
  21. Pytlarz-Kozicka, M. (2005). The effect of nitrogen fertilization and anti-fungal plant protection on sugar beet yielding. *Plant, Soil and Environment*, 51(5), 232-236.  
<https://doi.org/10.17221/3579-PSE>
  22. Zuffo, A. M., Steiner, F., Busch, A., & Zoz, T. (2018). Response of early soybean cultivars to nitrogen fertilization associated with *Bradyrhizobium japonicum* inoculation. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 48(4), 436-446.  
<https://doi.org/10.1590/1983-40632018v48i4a0002637>

## THE APPLICATION OF NITROGEN-FIXING BACTERIA IN ORDER TO REDUCE THE MINERAL NITROGEN FERTILIZERS IN SUGAR BEET

### SUMMARY

**The aim of this study was to examine the possibilities of reducing the mineral nitrogen fertilizers by applying the free-living (*Azotobacter chroococcum*) and associative (*Azospirillum brasilense*) nitrifying bacteria in the sugar beet production, without a reduction in the yield and quality of the sugar beet root. Along with the vegetables, most nitrates are collected by the species of the family Chenopodiaceae, to which the sugar beet belongs. Nitrogen is one of the most vital elements in the achievement of high yields, so it is used in large quantities in fertilization. However, it is the most unstable macroelement that flushes into the deeper soil layers, and a groundwater eutrophication is caused very often. Numerous diseases are associated with the high amounts of nitrates, nitrites, and nitroso compounds, i.e., the nitrite and nitroso compounds originating from the foodstuffs having a plant origin, water, and the cured meat products. The results of the study have demonstrated that it is possible to reduce a mineral nitrogen fertilizer quantity by using the nitrogen-fixing bacteria while even obtaining a higher quality of the studied parameters. The nitrogen-fixing bacteria predominate in the rhizosphere, so the plants could use the amounts of nitrogen necessary in a given vegetation period, which is not the case upon a nitrogen fertilization.**

**Keywords:** nitrogen bacteria, sugar beet yield and quality, reduction of nitrogen fertilization

(Primljeno 30. travnja 2020.; prihvaćeno 30. rujna 2020. / Received on April 30, 2020; accepted on September 30, 2020)