

# Utjecaj primjene mikrobiološkog pripravka na pristupačnost organskog fosfora u tlu

---

Žalac, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2018

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:863000>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-22**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Helena Žalac

Sveučilišni diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ PRIMJENE MIKROBIOLOŠKOG PRIPRAVKA NA**  
**PRISTUPAČNOST ORGANSKOG FOSFORA U TLU**

Diplomski rad

Osijek, 2018.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Helena Žalac

Sveučilišni diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ PRIMJENE MIKROBIOLOŠKOG PRIPRAVKA NA**  
**PRISTUPAČNOST ORGANSKOG FOSFORA U TLU**

Diplomski rad

Osijek, 2018.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK**

Helena Žalac

Sveučilišni diplomski studij Ishrana bilja i tloznanstvo

**UTJECAJ PRIMJENE MIKROBIOLOŠKOG PRIPRAVKA NA**  
**PRISTUPAČNOST ORGANSKOG FOSFORA U TLU**

Diplomski rad

Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:

prof.dr.sc. Suzana Kristek, predsjednik

izv.prof.dr.sc. Brigita Popović, mentor

doc.dr.sc. Vladimir Ivezić, član

Osijek, 2018

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Cilj istraživanja.....	3
2. PREGLED LITERATURE.....	4
3. MATERIJALI I METODE.....	9
3.1. Postavljanje pokusa.....	9
3.2. Laboratorijska istraživanja.....	9
3.3. Osnovne kemijske analize uzoraka tla.....	10
3.3.1. Određivanje pH reakcije tla.....	10
3.3.2. Određivanje sadržaja humusa u tlu bikromatnom metodom.....	10
3.3.3. Određivanje lakopristupačnog fosfora i kalija AL metodom.....	11
3.3.4. Određivanje hidrolitičke kiselosti.....	12
3.4. Određivanje sadržaja labilne frakcije organskog fosfora u tlu i sadržaja fosfora u biomasi tla (u mikroorganizmima).....	12
3.5. Utvrđivanje prinosa soje.....	13
3.6. Statistička obrada podataka.....	14
4. REZULTATI.....	15
4.1. Rezultati osnovne analize tla prije postavljanja pokusa.....	15
4.2. Rezultati osnovne analize tla nakon žetve.....	16
4.3. Rezultati analize organskog fosfora u tlu.....	17
4.4. Klimatske prilike na lokalitetu Osječak.....	18
4.5. Prinosi soje po tretmanima.....	21
4.6. Korelacije utvrđenih svojstava tla.....	21
5. RASPRAVA.....	25
5.1. Osnovna svojstva tla.....	25
5.2. Organski fosfor i aktivnost mikroorganizama u tlu.....	27
5.3. Prinos soje.....	29

6. ZAKLJUČAK .....	30
7. POPIS LITERATURE.....	31
8. SAŽETAK.....	35
9. SUMMARY.....	36
10. POPIS TABLICA.....	37
11. POPIS SLIKA.....	38
12. POPIS GRAFIKONA.....	39
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	
BASIC DOCUMENTATION CARD	

## 1. UVOD

Fosfor, kao esencijalni makroelement za biljnu ishranu, ima važnu ulogu u rastu i razvoju biljaka. Konstituent je važnih organskih spojeva, ima značajnu ulogu u energetskim reakcijama u biljci, fotosintezi, respiraciji, kao i u prenošenju nasljednih osobina. Fosfor u tlu potječe od procesa razgradnje matičnih stijena, najviše apatita, te iz organske tvari tla.

Spojevi fosfora u tlu različito su raspoloživi biljkama te tako razlikujemo vodotopljive fosfate, fosfor topljiv u slabim ili jakim kiselinama, fosfor topljiv u lužnatim otopinama te teško topljivi fosfor. Međutim, zbog slabe topljivosti i fiksacije fosfora u tlu, samo jedan mali dio tog fosfora (oko 0,1%) pristupačan je biljkama. Postoji nekoliko načina kako se može povećati pristupačnost fosfora u tlu, a jedan od efikasnijih je unošenje organske tvari u tlo čime se povećava sadržaj organski vezanog fosfora u tlu, te time i ukupna količina fosfora u tlu (Al-Jaloud i sur., 1998.).

Organski fosfor, kao oblik fosfora u tlu, sastavni je dio brojnih kemijskih spojeva, o kojima uvelike ovisi pristupačnost fosfora biljkama. Za ishranu bilja najpovoljnija je organska frakcija fosfora topljiva u kiselinama jer brže podliježe procesu mineralizacije, a tla koja su duže vrijeme u eksploataciji imaju veći sadržaj frakcije topljive u lužinama, te je na njima gnojidba fosforom učinkovitija i daje veći prinos, bez obzira na količinu pristupačnog fosfora u tlu.

Organski fosfor u tlu najčešće se nalazi u obliku fosfolipida, nukleinskih kiselina te heksafosfornog estera inozitola fitina. Većina poljoprivrednih tala sadrže od 20 do 60 % organski vezanog fosfora, a točan iznos ovisi o svojstvima i sastavu tla. On u tlo dospijeva nakon razgradnje biljnih ostataka ili dodatkom organskog gnojiva i podliježe procesu mineralizacije. Ukoliko organska tvar sadrži manje od 0,2 % fosfora u procesu mineralizacije, sav oslobođeni fosfor koriste mikroorganizmi za svoje potrebe što dovodi do biološke imobilizacije fosfora. To znači da takav fosfor nije pristupačan biljkama sve dok se mikroorganizmi ne raspadnu i time vrate fosfor u tlo.

Intenzitet mineralizacije organskog fosfora u tlu ponajprije ovisi o temperaturi, a najbolja razgradnja odvija se pri temperaturama od 30 – 40 °C. Prilikom mineralizacije može doći do dva procesa: mobilizacije ili imobilizacije fosfora, odnosno prelaska fosfora u pristupačan oblik koji biljka može usvojiti ili u nepristupačan oblik, koji biljka ne može usvojiti.

Hoće li doći do mobilizacije ili imobilizacije, ovisi o tome kakav je omjer ugljika i fosfora u organskoj tvari. Ukoliko je C/P omjer veći od 300:1, doći će do imobilizacije, a tek kada se on suzi na 200:1, dolazi do mobilizacije fosfora (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Mikrobiološke transformacije fosfora obuhvaćaju procese mineralizacije organskih fosfornih spojeva (fosfomineralizacija), razlaganje anorganskih spojeva fosfora (fosfomobilizacija) te redukciju oksidiranih anorganskih oblika fosfora (defosfifikacija). Mineralizacija organskog fosfora brže se odvija u neutralnim i alkalnim tlima koja imaju slabiju sposobnost fiksacije fosfora na minerale gline, kao i veći sadržaj organske tvari.

Najbrže se razgrađuju nukleoproteidi, zatim fosfolipidi, a najsporije fitini. Nukleoproteidi se razlažu pod utjecajem proteinaza i nukleozidaza koje stvaraju amonifikatori, a najaktivniji razlagač nukleoproteida je bakterija *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticus*. Krajnji proizvod razlaganja organskog fosfora je fosforna kiselina koja se u tlima sa neutralnom reakcijom tla veže sa kalcijem, a u kiselim tlima sa aluminijem i željezom, pri čemu nastaju fosfati netopljivi u vodi.

Sljedećim procesom, razlaganjem nastalih tercijarnih fosfata, nastaju sekundarni i primarni fosfati koji su topljivi u vodi te ih biljke i mikroorganizmi mogu usvajati. Na primjer, bakterija *Bacillus calcis* iz netopljivih tercijarnih kalcijevih fosfata za svoje potrebe koristi kalcij i na taj način ih pretvara u sekundarne i primarne fosfate koji su topljivi u vodi i time postaju dostupni biljkama.

Vrste iz rodova *Pseudomona*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Penicillium* i *Aspergillus* sudjeluju u prevođenju netopljivih fosfata u oblike prisupačne biljkama na indirektan način, stvaranjem različitih kiselina koje snižavaju pH vrijednost tla. Redukcija fosfornih spojeva obavlja se u anaerobnim uvjetima, gdje oksidirani fosforni spojevi prelaze u fosfite, hipofosfite i fosfin. Taj proces obavljaju vrste iz rodova *Micrococcus* i *Pseudomonas*, koje koriste kisik iz fosfata kao akceptor u procesu disanja (<https://www.docsity.com/sr/uloga-mikroorganizama-u-kruzenju-fosfora/764484/>).

Primjena mikrobioloških pripravaka sa fosfortopljivim bakterijama učinkovit je način povećanja usvajanja fosfora od strane usjeva jer omogućuje oslobađanje tzv. „kamenih fosfata“, odnosno njihovo prevođenje u oblike pristupačne biljkama. Sojevi iz rodova *Pseudomonas*, *Bacillus* te *Rhizobium* pripadaju najsnažnijim fosfortopljivim bakterijama (Rodriguez i Fraga, 1999.).



## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj mikrobiološkog pripravka za tretiranje tla na povećanje pristupačnosti organskog fosfora u tlu. Također, pretpostavlja se da na sadržaj organskog fosfora u tlu, kao i na aktivnost mikroorganizama, velik utjecaj imaju sadržaj humusa te pH reakcija tla, stoga je cilj bio utvrditi i korelacije između navedenih svojstava.

## 2. PREGLED LITERATURE

Fosfor u tlu postoji uglavnom u anorganskim frakcijama koje su ili adsorbirane na mineralne čestice tla ili se javljaju kao slabo raspoloživi precipitati, te u organskim oblicima koji su ili adsorbirani, ugrađeni u biomasu tla ili povezani s organskom tvari tla. Stoga je mobilizacija takvih nepristupačnih oblika fosfora u oblike koje biljka može usvajati glavni ograničavajući čimbenik odgovarajuće opskrbe fosforom. (Richardson i Simpson, 2011.)

Nedostatak fosfora za biljnu ishranu uobičajen je problem diljem svijeta, najvećim dijelom zbog nepristupačnosti biljkama, bez obzira na gnojidbu i velike količine ukupnog fosfora u tlu. Sánchez (2010.) navodi kako je korištenje mikroorganizama, kako bi se povećala pristupačnost fosfora u tlu, atraktivno rješenje za razvoj održive poljoprivrede, kako u zemljama s visoko razvijenim proizvodnim sustavima, tako i u onima gdje je ograničen pristup mineralnim gnojivima.

Ziadi i sur. (2001.) tvrde kako je frakcija organskog fosfora u tlu bitna kao rezerva fosfora u tlu, a ujedino i odgovor zašto pojedina tla slabo reagiraju na gnojidbu fosforom.

Također, Kovačević i sur. (1992.) utvrdili su da kod tala s nižim sadržajem fosfora, a visokim sadržajem humusa, može izostati reakcija biljke na dodane preporučene doze gnojiva što se može pripisati činjenici da je količina biljci pristupačnog fosfora zapravo viša nego što pokazuju rezultati laboratorijske analize, zbog većeg udjela frakcije organskog fosfora.

Koncentracija fosfora u tlu značajno je vezana s količinom organske tvari u tlu, a unosenjem svježije organske tvari u tlo povećava se količina biljci pristupačnog fosfora. (Al-Jaloud i sur., 1998.)

Organski fosfor u tlu može postojati u dvije frakcije: jedna kao dio humusa zajedno sa ugljikom, dušikom i sumporom, a druga, nezavisna frakcija organskog fosfora, kao dio spojeva visoke molekularne mase (Borie i Rubio, 2003.)

Borie i Rubio (2003.) također navode kako organski fosfor tla u većini tala predstavlja više od 50 % ukupnog fosfora i to većinom u obliku inositol penta i heksa fosfata vezanih sa aluminijem i željezom. Isti autori ukazuju na važnost aktivnosti enzima fosfataze u tlu jer većina biljaka može usvojiti fosfor isključivo u anorganskom obliku.

Budući da je organski fosfor dio organske tvari tla, ima tendenciju akumuliranja. Proces nakupljanja organskog fosfora zove se imobilizacija, a označava biološku pretvorbu pristupačnog, anorganskog fosfora u organske fosforove spojeve, koje biljka ne može usvajati. (Dalal, 1977.)

Vetterlein i sur. (1999.) tvrde da unošenje stajnjaka u tlo bez mineralne gnojidbe smanjuje biljci pristupačan fosfor u odnosu na mineralnu gnojidbu fosforom jer se dio fosfata veže s organskom tvari tla.

Scherer i Sharma (2002.) navode kako je primjena stajskog gnoja u odnosu na mineralnu gnojidbu rezultirala nižim kapacitetom tla za adsorciju fosfora.

Vance i sur. (1996.) naveli su kako se u nekim kiselim tlima s visokim postotkom organske tvari fosfor akumulira kao kompleks visoke molekularne mase kao što je humat-AL-fosfat kompleks.

Generalno se smatra da organski fosfor postaje dostupan biljkama za ishranu tek nakon mineralizacije u anorganske oblike. Međutim, biljke mogu vodotopljive oblike organskog fosfora apsorbirati direktno ili nakon defosforilacije enzimom fosfataze u blizini korijenovog sustava (Dalal, 1977.).

Mikroorganizmi mogu povećati sposobnost biljaka da usvajaju fosfor kroz različite mehanizme: povećanim rastom korijena (mikorizne gljive), hormonskom stimulacijom korijena ili razvojem korijenovih dlačica, promjenom ravnoteže sorpcije koja može rezultirati povećanim prijenosom ortofosfatnih iona u otopinu tla ili poboljšati mobilnost organskog fosfora te indukcijom metaboličkih procesa koji su učinkoviti u izravnom otapanju i mineralizaciji fosfora iz slabo pristupačnih oblika anorganskog i organskog fosfora (Richardson i Simpson, 2011.).

Fosfor unutar mikroorganizama tla predstavlja značajnu komponentu ukupnog fosfora u tlu i općenito je ekvivalentan ili veći od onog koji je sadržan u biljnoj biomasi. Procjenjuje se da mikrobnog fosfora u rasutom tlu, iako vrlo varijabilan, iznosi oko 2 % do 10 % ukupnog fosfora u tlu, iako u različitim fazama razvoja tla i unutar slojeva tla može iznositi čak 50 % (Turner i sur. (2005.); Achat i sur., (2010.)).

Fosfor se iz biomase otpušta kao ortofosfat i u organskim oblicima koji se brzo mineraliziraju u tlu (Macklon i sur., 1997.).

Kontrolirani pokusi u kojima su biljke inokulirane s P-mineralizirajućim mikroorganizmima dali su dodatne dokaze za mikrobiološki posredovanu dostupnost fosfora biljkama. Istraživanja Richardsona i sur. (2001.) pokazala su da se uzgojem u definiranim medijima poboljšava iskorištenje fosfora kod travnjaka i leguminoznih pašnjaka inokuliranim mikroorganizmima, točnije, korištenjem bakterijskog izolata s visokom aktivnošću enzima fitaze.

Islam i Ahmed (1973.) tvrde da se mineralizacija organskog fosfora povećava nakon kalcizacije kiselih tala. Objašnjenje ove pojave je da se povećavanjem pH povećava i mikrobiološka aktivnost, kao i mineralizacija organskog ugljika i dušika.

Ipak, Fabry (1963.) ističe kako kalcizacija ne utječe uvijek na povećanje mineralizacije organskog fosfora, što zapravo ovisi o učinku Ca:Mg odnosa na mineralizaciju i pretvorbe fosfora u tlu.

Wier i Black (1968.) navode kako se mineralizacija organskog fosfora povećava u prisutnosti anorganskog fosfora zbog povećane topljivosti organskog fosfora; organski fosfor je osjetljiv na mineralizaciju zato što se anorganski fosfor 'natječe' s organskim za željezo, aluminij i kalcij koji održavaju dio organskog fosfora u slabo topljivom obliku.

Međutim, neki drugi autori, kao npr. Ghoshal (1975.) nisu pronašli dokaze o povećanju mineralizacije organskog fosfora zbog dodatka anorganskog fosfora.

Ukoliko organska tvar sadrži manje od 0,2 % fosfora u procesu mineralizacije, sav oslobođeni fosfor koriste mikroorganizmi za svoje potrebe što dovodi do biološke imobilizacije fosfora. To znači da takav fosfor nije pristupačan biljkama sve dok se mikroorganizmi ne raspadnu i time vrate fosfor u tlo (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Birch (1964.) je otkrio da postoje neki mikroorganizmi koji su potpuno ovisni o sadržaju organskog fosfora kao izvoru fosfora za svoju ishranu. Organski fosfor se sporo mineralizira, ali kao i anorganski fosfor u dodanoj organskoj tvari, eventualno postaje dio biomase tla kao konstituent mikrobioloških tkiva i tako ulazi u ciklus kruženja i pretvorbe fosfora u tlu.

Fosfor u raspadnutom biljnom materijalu nije sav u organskim oblicima. Veliki udio mogu činiti anorganski oblici fosfora, koji potiču metabolizam i sintetičke procese mikroorganizama u početnim fazama dekompozicije (Bromfield i Jones, 1972.).

Birch (1961.) je dokazao da se tijekom prva tri mjeseca dekompozicije ne odvija izražena mineralizacija organskog fosfora u biljnom materijalu.

Martin i Cunningham (1973.) utvrdili su da se fosfor može otpuštati iz mrtvog korijenja biljaka i prije nego što se razvije značajna populacija mikroorganizama kao odgovor na dodanu svježu organsku tvar. Navode kako degradacija organskog fosfora u korijenju može biti rezultat autolitičke aktivnosti biljnih enzima.

Fuller i sur. (1956.) navode kako uz sadržaj fosfora, na stopu mineralizacije fosfora iz dodanog biljnog materijala utječu i zrelost biljnih ostataka, dijelovi biljaka koji su dodani, aplikacija i količina biljnog materijala te duljina vremena dodavanja organskog materijala u tlo.

Uvjeti u tlu koji pospešuju dekompoziciju biljnog materijala, a time i podižu stopu mineralizacije organskog fosfora su optimalni sadržaj dušika, povoljni vodozračni odnosi u tlu te temperatura tla (Dalal, 1977.).

Budući da je organski fosfor pokretljiviji u tlu od anorganskog, Rolston i sur. (1975.) tvrde kako bi organski spojevi fosfora, kao što su glicerofosfati, glikofosfati, metilni i etilni esteri fosfata, glukoza-1-fosfat te glukoza-6-fosfat, mogli biti učinkovitija gnojiva nego anorganski ortofosfati (npr. superfosfat).

Turner i Blackwell (2013.), u istraživanju o utjecaju pH na količinu i oblike organskog fosfora u tlu, zaključili su da pH ima relativno mali utjecaj na sadržaj organskog fosfora u tlu, iako se neki oblici organskog fosfora akumuliraju više u izrazito kiselim uvjetima.

Parani i Saha (2012.) navode kako bi se fosfortopljive bakterije s antifungalnom aktivnošću mogle iskorištavati dvostruko; kao biofertilizator i kao učinkovito biološko sredstvo u suzbijanju patogena.

Sojevi bakterija iz rodova *Pseudomonas*, *Bacillus* i *Rhizobium* su najmoćniji fosfortopljivi mikroorganizmi. Glavni mehanizam otapanja anorganskih fosfata je proizvodnja organskih kiselina, a kisele fosfataze imaju glavnu ulogu u mineralizaciji organskog fosfora u tlu (Rodriguez i Fraga, 1999.)

Xiao i sur. (2011.) te Whitelaw (2000.) navode da su osim sojeva bakterija iz rodova *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* i *Enterobacter*, gljive iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* naj snažniji fosfortopljivi mikroorganizmi.

Ghaderi i sur. (2008.) navode kako bi se *Pseudomonas putida* mogla koristiti kao učinkoviti fosforni biofertilizator te da bi se *Pseudomonas fluorescens* Chao mogla koristiti kao fosforno-oslobađajuća bakterija na tlima s većim sadržajem organske tvari.

Fankem i sur. (2008.) zaključili su da je primjena fosfortopljivih sojeva bakterije *Pseudomonas fluorescens* povećala pristupačnost topljivih fosfata biljkama te da je inokulacija općenito pokazala pozitivan učinak na rast i prinos kukuruza.

Rezultati istraživanja na kiselim tlima pokazali su da je primjena tekućeg komposta od rižine slame u kombinaciji s inokulacijom fosfortopljivom bakterijom *Pseudomonas putida* dovela do povećanja pH vrijednosti tla te povećanja pristupačnog fosfora u tlu (Winarso i sur. 2011.).

Afzal i Bano (2008.) su istraživanjem ustanovili kako je jednokratna i dvokratna inokulacija korisnim mikroorganizmima zajedno s fosfornom gnojdbom povećala prinose zrna pšenice za 30 do 40 % u odnosu na samo primjenu fosfornog gnojiva te da je dvostruka inokulacija korisnim mikroorganizmima bez gnojidbe fosforom rezultirala povećanjem prinosa za 20 % u odnosu na samo gnojidbu fosforom.

Fosfortopljivi mikroorganizmi su sveprisutni u tlu. Smatra se da fosfortopljive bakterije i gljive čine 0,5 - 0,1 % ukupne populacije bakterija i gljiva u tlu (Kucey, 1983.). Isti autor zaključio je kako su gljive bile superiornije od bakterija u otapanju svježe istaloženog kalcijevog fosfata.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Postavljanje pokusa

Pokus je postavljen u mjestu Osječak u Bosni i Hercegovini, po slučajnom blok sustavu na ukupno 24 parcelice sa 6 tretmana i 4 ponavljanja. Primjenjeni tretmani su: 1. kontrola (K); 2. kontrola uz mikrobiološki pripravak (KMP); 3. reducirana gnojidba fosforom za 50 % (p); 4. reducirana gnojidba fosforom za 50 % uz mikrobiološki pripravak (pMP); 5. puna gnojidba fosforom (MG) te 6. puna gnojidba fosforom uz mikrobiološki pripravak (MGMP). Kao gnojivo korišten je monoamonijev fosfat (MAP).

Na navedenim parcelicama 22. travnja 2016. godine posijana je soja (*Glycine max* L. Merr.) sorte Ika osječkog Poljoprivrednog instituta. Sjetvena količina iznosila je 120 kg/ha, a dubina sjetve 3 cm.

#### 3.2. Laboratorijska istraživanja

Uzorci tala uzeti s ukupno 24 pokusne parcele sa 6 različitih tretmana, analizirani su u Laboratoriju za agroekologiju te su utvrđena osnovna kemijska svojstva prema propisanim metodama ISO standardima: pH tla (ISO 10390, 1994.), sadržaj humusa u tlu bikromatnom metodom (ISO 14235, 1994.) te koncentracija AL-pristupačnog fosfora (Egner i sur., 1960.). Za utvrđivanje sadržaja labilne frakcije organskog fosfora u tlu korištena je metoda prema Bowmanu i Coleu (1978.), modificirana prema Sharpleyju i Smithu (1985.) i Ivanoffu i sur. (1998.), te je kombinirana sa metodom za utvrđivanje sadržaja fosfora u biomasi tla prema Hedleyju i Stewartu, (1982.). Količine ukupnog organskog fosfora izmjerene su spektrofotometrijski na spektrofotometru Cary 50.

Prosječni uzorci tla uzeti su sa pokusnih parcelica gnojidbenog pokusa u mjestu Osječak. Svaki uzorak težio je 0,5 – 1 kg i bio je sačinjen od dobro izmješanih pojedinačnih uzoraka ravnomjerno uzetih s proizvodne površine. Raspored uzimanja uzoraka bio je dijagonalan uz ravnomjerne razmake, do dubine oraničnog sloja (0 – 30 cm).

### 3.3. Osnovne kemijske analize uzoraka tla

#### 3.3.1. Određivanje pH reakcije tla

Reakcija tla izražena kao pH vrijednost pokazatelj je niza agrokemijskih svojstava tla, a izražava se u pH jedinicama. Trenutna ili aktualna kiselost ( $pH_{H_2O}$ ) određena je u suspenziji tla s destiliranom vodom, a supstitucijska ili izmjenjiva kiselost ( $pH_{KCl}$ ) u suspenziji tla s otopinom 1M KCl ( $c = 1 \text{ mol/dm}^3$ ).

Reakcije tla u navedenim otopinama određuju se tako da se najprije na tehničkoj vagi odvaže 10 g tla koje se prenosi u čašu od 100 ml. Uzorci se zatim preliju s 25 ml destilirane vode, odnosno 1 M KCl, te dobro promiješaju staklenim štapićem. Nakon 30 minuta mjeri se pH vrijednost u suspenziji tla (1:5 w/v), pH metrom koji je propisno kalibriran standardnim pufernim otopinama poznate pH vrijednosti (ISO 10390, 1994.). U ovome istraživanju korišten je pH metar Iskra MA 5730.

#### 3.3.2. Određivanje sadržaja humusa u tlu bikromatnom metodom

Humus u tlu utječe na niz kemijskih i fizikalnih svojstava. Teška i zbijena tla humizacijom postaju rahlija i lakša, a time se poboljšavaju i druga svojstva tla, kao što su vodnozračni režim, toplina tla i dr. Također, humus sadrži sva potrebna biljna hraniva te povoljno utječe na biološka svojstva tla time što je izvor ugljika potrebnog za život i razmnožavanje mikroorganizama.

Bikromatna metoda predstavlja mokro spaljivanje organske tvari tla kalij-bikromatom. Najprije se u čašu od 150 ml odvaže 0,5 g zrakosuhog tla koje je prosijano kroz sito promjera 2 mm. Uzorku se doda 5 ml otopine 0,33 M  $K_2Cr_2O_7$  i 7,5 ml koncentrirane sulfatne kiseline. Dobivena vruća smjesa odmah se stavlja u sušionik na temperaturu 135 °C na 30 minuta. Čaše se nakon toga vade iz sušionika i naglo hlade u vodenoj kupelji, te se u svaku od njih doda 50 ml destilirane vode. Uzorci se zatim kvantitativno prenose u odmjerne tikvice od 100 ml, nadopune destiliranom vodom i promućkaju. Nakon sat vremena dekantira se dio otopine u kivete za centrifugiranje, centrifugira se 10 minuta na 2000 okretaja te se mjeri sadržaj humusa spektrofotometrijski na valnoj duljini 585 nm uz prethodno dekantiranje otopine u kivetu za mjerenje (ISO 14235, 1994.). Rezultat ove metode je količina organske tvari - humusa u tlu, a izražava se u postocima (%).



### 3.3.3. Određivanje lakopristupačnog fosfora i kalija AL metodom

AL metoda je najčešći postupak ispitivanja biljkama pristupačnog fosfora i kalija u tlu. Ekstrakcija lakopristupačnog P i K obavlja se pufernom otopinom amonij-laktata čiji je pH 3,75. Količina od 5 g zrakosuhog tla prenosi se u plastične boce za izmućkavanje. Svaki se uzorak prelije sa 100 ml ekstrakcijske AL – otopine (amonij laktat – pH 3,75) i mućka na rotacijskoj mućkalici na 20 °C brzinom 30 – 40 okretaja u minuti, tijekom 2 - 4 sata. Ekstrakt tla se profiltrira u čaše tako da se prva, mutna količina baci. Ukoliko je filtrat i dalje mutan, bistri se dodavanjem 0,5 grama aktivnog ugljena i ponovnom filtracijom.

#### Fosfor

Pristupačnost fosfora određuje se kolorimetrijski tzv. plavom metodom. Od dobivenog filtrata otpipetira se 10 ml u tikvicu od 100 ml, zatim se doda 9 ml 8 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i destilirane vode do pola tikvice. Tikvice se zagrijavaju na vodenoj kupelji te se doda 10 ml 1,44 % amonij-molibdata ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>) i 2 ml 2,5 % askorbinske kiseline. Nakon 30 minuta grijanja tikvica na vodenoj kupelji razvija se kompleks plave boje. Zatim se ohlade i nadopune destiliranom vodom do oznake. Postupak, identičan postupku s uzorcima, provodi se paralelno sa serijom standarda, rastuće koncentracije P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (0, 10, 20, 30, 40 i 80 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g tla). Mjerenje koncentracije P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> u uzorcima i standardima vrši se na UV spektrofotometru na valnoj duljini 680 nm. Fosfor određen prema ovoj metodi odnosi se na frakciju topljivu u vodi i slabim kiselinama, koja je najznačajnija za ishranu bilja. Mjerenje je izvršeno na UV spektrofotometru Cary 50.

#### Kalij

Pristupačnost kalija utvrđuje se direktno iz ekstrakta tla emisijskom tehnikom na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru (AAS – u) ili na plamen-fotometru i izražavaju se u mg K<sub>2</sub>O/100 grama tla. Za seriju standardnih otopina za kalij koriste se iste standardne otopine kao i za fosfor, a njihove koncentracije odgovaraju količinama od 0, 10, 20, 30, 40 i 80 mg K<sub>2</sub>O/100 g tla.

Rezultati AL metode su koncentracije biljkama pristupačnog fosfora i kalija u analiziranom uzorku tla, a izražavaju se u mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g tla i mg K<sub>2</sub>O/100 g tla. Prema rezultatima AL metode, tla se dijele u različite klase opskrbljenosti fosforom i kalijem.

### 3.3.4. Određivanje hidrolitičke kiselosti

Hidrolitička kiselost je svojstvo tla koje se najčešće koristi pri utvrđivanju potreba za kalcizacijom ili kada je potrebno poznavati ukupnu potencijalnu kiselost nekog tla. Hidrolitička kiselost izražava se u mmol 100g<sup>-1</sup> tla ili cmol kg<sup>-1</sup>tla i koristi se za izračunavanje nezasićenosti adsorpcijskog kompleksa lužnatim ionima.

Uzorak od 20 g zrakosuhog tla prelije se s 50 ml 1 M CH<sub>3</sub>COONa, mućka se na rotacijskoj mućkalici jedan sat te filtrira (ukoliko je filtrat mutan, filtrira se još jednom). Zatim se otpipetira 10 - 25 ml filtrata, ugrije do ključanja da bi se uklonio CO<sub>2</sub>, dodaju se 1 - 2 kapi fenolftaleina te se vruća otopina titrira s 0,1 M NaOH do pojave ružičaste boje. Hidrolitička kiselost izračunava se formulom:

$$H_y = (a \times k \times 10 \times 1,75)/m$$

gdje su: a – utrošak NaOH (0,1 mol/dm<sup>3</sup>); k – faktor lužine; m – alikvotna masa tla; 1,75 – korekcijski faktor za nezamjenjene H<sup>+</sup> ione

Rezultat se izražava u [cmol<sup>(+)</sup>kg<sup>-1</sup> tla].

### 3.4. Određivanje sadržaja labilne frakcije organskog fosfora u tlu i sadržaja fosfora u biomasi tla (u mikroorganizmima)

Labilna frakcija organskog fosfora u tlu dobiva se izračunom razlike između ukupnog labilnog fosfora i labilnog mineralnog fosfora. Najprije se u plastične bočice odvažuje dva puta po 1g usitnjenog i osušenog tla (dva ponavljanja). U prvu seriju uzoraka dodaje se 2 ml kloroforma (CHCl<sub>3</sub>) koji razlaže stanice mikroorganizama u tlu, što omogućuje izračun udjela organskog fosfora u mikroorganizmima. Ovo ponavljanje uzorka ostavlja se da odstoji 24 h.

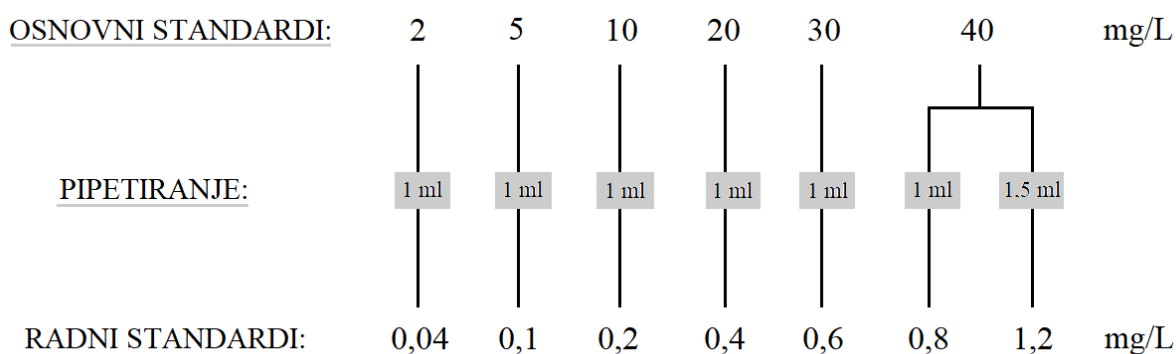
Nakon 24 h, oba ponavljanja uzoraka preliju se s 50 ml 0,5 M NaHCO<sub>3</sub> te stave na mućkanje 16 h na rotacijskoj mućkalici. Zatim se uzorci centrifugiraju 15 min na 4 000 okretaja, te se supernatant prenosi u tikvice od 50 ml koje se nadopunjavaju do oznake ekstrakcijskim sredstvom (0,5 M natrijev hidrogenkarbonat) i promućkaju. Uzorak se zatim filtrira u falcon epruvete.

U velike staklene kivete prethodno se odvažuje po 0,5 g kalijevog persulfata (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) i u svaku se otpipetira po 5 ml alikvota te 3 ml 2,5 M sumporne kiseline (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Kivete se zatim stavljaju u digestor na blok za razaranje na 30 minuta i 150 °C. Nakon 30 minuta, uzorci se hlade dodavanjem 5 ml destilirane vode, te se prenose u tikvice od 50 ml.

U tikvice se najprije dodaje po 5 kapi p-nitrofenil indikatora te se namješta pH dodavanjem 5 M NaOH do promjene boje uzorka u žutu. Zatim se dodaje prethodno pripremljeni (svježi) reagens B u količini od 4 ml i tikvice se nadopune do oznake destiliranom vodom. Dolazi do promjene boje uzorka u plavu i tada su uzorci spremni za spektrofotometrijsko mjerenje na valnoj duljini 680 nm. Za mjerenje je korišten UV spektrofotometar Cary 50.

Kako bi se uređaj kalibrirao, potrebno je na najprije izmjeriti seriju radnih standarda prethodno pripremljenih na sljedeći način (Slika 1):



Slika 1. Shematski prikaz načina pripreme radnih standarda

Radni standardi pripremljeni su u tikvicama od 50 ml. Dodani su alikvoti osnovnih standarda, 4 ml reagensa B te su tikvice nadopunjene do oznake destiliranom vodom.

### 3.5. Utvrđivanje prinosa soje

Prinosi na pokusu utvrđeni su za sva 4 ponavljanja svakog pojedinog tretmana.

Uzorci biljke soje prikupljeni su s kontrolne površine od 2 m<sup>2</sup> sa svake pojedine osnovne parcele te su preneseni u prostoriju za pripremu uzoraka Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Žetva je obavljena ručnim kombajnom Minibat+ (Godé, Francuska). Na osnovu dobivene količine zrna sa žetvene površine od 2 m<sup>2</sup> određen je prosječni prinos svake pojedine osnovne parcele.

Sušenje uzoraka soje nije bilo potrebno jer je vlaga iznosila manje od 13%. Dio svakog uzorka je usitnjen u mlinu za biljni materijal do praškaste konzistencije te je u takvom stanju pohranjen za kemijske analize biljne tvari.

### **3.6. Statistička obrada podataka**

Rezultati analiza uzoraka tla statistički su obrađeni pomoću PC aplikacija Microsoft Excel i SAS.

## 4. REZULTATI

Radi što preciznijeg utvrđivanja utjecaja tretmana na kemijska svojstva tla i na sadržaj organskog fosfora u tlu, analiza tla obavljena je u dva navrata: prije postavljanja pokusa i nakon žetve soje.

### 4.1. Rezultati osnovne analize tla prije postavljanja pokusa

Pokus je postavljen na ukupno 24 parcelice sa 6 tretmana u 4 ponavljanja. Prije postavljanja pokusa tlo je uzorkovano na svakoj parcelici te su utvrđena osnovna svojstva tla (Tablica 1).

Tablica 1. Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka prije postavljanja pokusa

Tretmani	Kiselost tla			Koncentracija mg/100 g tla		Sadržaj humusa %
	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	Hy	AL-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	AL-K <sub>2</sub> O	
<b>K</b>	6,33	4,91	2,78	1,79	12,97	4,22
<b>KMP</b>	6,31	4,95	2,75	1,83	13,45	4,32
<b>p</b>	6,31	5,06	2,60	1,69	14,04	4,37
<b>pMP</b>	6,29	4,93	2,83	1,56	13,20	4,28
<b>MG</b>	6,41	4,97	2,66	1,22	13,62	4,32
<b>MGMP</b>	6,35	4,89	2,82	1,80	13,03	4,35
<b>prosjek</b>	<b>6,33</b>	<b>4,95</b>	<b>2,74</b>	<b>1,64</b>	<b>13,39</b>	<b>4,31</b>

Dobiveni rezultati aktualne kiselosti kretali su se od pH<sub>H2O</sub> 6,29 do pH<sub>H2O</sub> 6,41 te supstitucijske kiselosti od pH<sub>KCl</sub> 4,89 do pH<sub>KCl</sub> 5,06 što ukazuje na to da su ispitivani uzorci jako kisele do umjereno kisele reakcije. Vrijednosti utvrđene hidrolitičke kiselosti kretale su se od 2,60 do 2,83 cmol<sup>(+)</sup> kg<sup>-1</sup>. Rezultati AL-metode za koncentraciju fosfora kretali su se u rasponu od 1,22 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g tla do 1,83 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g tla, što ukazuje na vrlo nisku opskrbljenost tla fosforom. Koncentracija kalija prema AL-metodi kretala se u rasponu od 12,97 mg K<sub>2</sub>O/100 g tla do 14,04 mg K<sub>2</sub>O/100 g tla, što znači da su tla nisko opskrbljena kalijem. Sadržaj humusa u ispitivanim uzorcima kretao se u rasponu od 4,22 do 4,37 %, što ukazuje na dosta humozna tla.

Prosječne vrijednosti pH reakcije tla za svih 6 tretmana iznosile su 6,33 za  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  te 4,95 za  $\text{pH}_{\text{KCl}}$ , a prosječna vrijednost hidrolitičke kiselosti iznosila je  $2,74 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$ . Prosječne koncentracije fosfora i kalija iznosile su  $1,64 \text{ mg P}_2\text{O}_5/100 \text{ g tla}$  te  $13,39 \text{ mg K}_2\text{O}/100 \text{ g tla}$ . Sadržaj humusa u prosjeku, za sve tretmane, iznosio je 4,31%.

#### 4.2. Rezultati osnovne analize tla nakon žetve

Dobiveni rezultati osnovnih kemijskih svojstava nakon žetve kretali su se za raspon aktualne kiselosti od  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  6,07 do  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  6,23 te supstitucijske kiselosti od  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  4,81 do  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  4,94 što ukazuje na to da su ispitivani uzorci jako do umjereno kisele reakcije. Najniža pH reakcija utvrđena je za tretman MGMP, a najviša za tretman p. Vrijednosti hidrolitičke kiselosti kretale su se od  $4,75 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$  za tretman MG do  $5,14 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$  za tretman MGMP. Rezultati AL-metode za koncentraciju fosfora kretali su se u rasponu od  $2,46 \text{ mg P}_2\text{O}_5/100 \text{ g tla}$  kod tretmana p do  $3,31 \text{ mg P}_2\text{O}_5/100 \text{ g tla}$  kod tretmana MGMP, što generalno ukazuje na vrlo nisku opskrbljenost tla fosforom. Koncentracija kalija prema AL-metodi kretala se u rasponu od  $12,93 \text{ mg K}_2\text{O}/100 \text{ g tla}$  (tretman K) do  $13,46 \text{ mg K}_2\text{O}/100 \text{ g tla}$  (tretman KMP), što znači da su tla nisko opskrbljena kalijem. Sadržaj humusa u ispitivanim uzorcima kretao se u rasponu od 3,75 za tretman K do 4,08 % za tretman p, što ukazuje na dosta humozna tla.

Prosječne vrijednosti pH reakcije tla nakon žetve soje iznosile su 6,17 za  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  te 4,86 za  $\text{pH}_{\text{KCl}}$ . Prosječna vrijednost hidrolitičke kiselosti iznosila je  $4,91 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$ . Prosječne koncentracije fosfora i kalija iznosile su  $2,76 \text{ mg P}_2\text{O}_5/100 \text{ g tla}$  te  $13,24 \text{ mg K}_2\text{O}/100 \text{ g tla}$ . Sadržaj humusa nakon žetve u prosjeku je iznosio 3,93% (Tablica 2).

Tablica 2. Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka nakon žetve soje

Tretmani	Kiselost tla			Koncentracija mg/100 g tla		Sadržaj humusa %
	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	Hy	AL-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	AL-K <sub>2</sub> O	
<b>K</b>	6,20	4,88	4,77	2,48	12,93	3,75
<b>KMP</b>	6,15	4,83	4,78	2,67	13,46	3,86
<b>p</b>	6,23	4,94	4,98	2,46	13,30	4,08
<b>pMP</b>	6,15	4,83	5,02	2,71	13,37	3,96
<b>MG</b>	6,19	4,86	4,75	2,90	13,01	3,89
<b>MGMP</b>	6,07	4,81	5,14	3,31	13,35	4,02
<b>prosjek</b>	<b>6,17</b>	<b>4,86</b>	<b>4,91</b>	<b>2,76</b>	<b>13,24</b>	<b>3,93</b>

#### 4.3. Rezultati analize organskog fosfora u tlu

Analiza sadržaja organskog fosfora u tlu je također utvrđena na početku pokusa i nakon žetve soje. Rezultati prikazuju sadržaj organskog fosfora u ekstrakciji bez kloroforma i s kloroformom, odnosno s udjelom onog organskog fosfora koji je sadržan u mikroorganizmima tla (Tablice 3 i 4.).

Tablica 3. Rezultati analize organskog fosfora prije postavljanja pokusa

Tretmani	Org. P (mg/l) Bez kloroforma	Org. P (mg/l) Sa kloroformom
<b>K</b>	0,12	0,18
<b>KMP</b>	0,10	0,14
<b>p</b>	0,13	0,06
<b>pMP</b>	0,18	0,11
<b>MG</b>	0,17	0,08
<b>MGMP</b>	0,15	0,08
<b>prosjek</b>	<b>0,14</b>	<b>0,11</b>

Dobiveni rezultati sadržaja organskog fosfora bez kloroforma prije postavljanja pokusa kretali su se od 0,10 mg/l kod tretmana KMP do 0,18 mg/l kod tretmana pMP. Istovremeno, sadržaj organskog fosfora s kloroformom kretao se od 0,06 mg/l na tretmanu p do 0,18 mg/l na tretmanu K. Prosječni sadržaj organskog fosfora za ekstrakciju bez kloroforma iznosio je 0,14 mg/l, a za ekstrakciju s kloroformom 0,11 mg/l.

Tablica 4. Rezultati analize organskog fosfora nakon žetve soje

Tretmani	Org. P (mg/l) Bez kloroforma	Org. P (mg/l) Sa kloroformom
K	0,08	0,08
KMP	0,07	0,09
p	0,07	0,09
pMP	0,06	0,11
MG	0,06	0,09
MGMP	0,06	0,13
prosjek	<b>0,07</b>	<b>0,10</b>

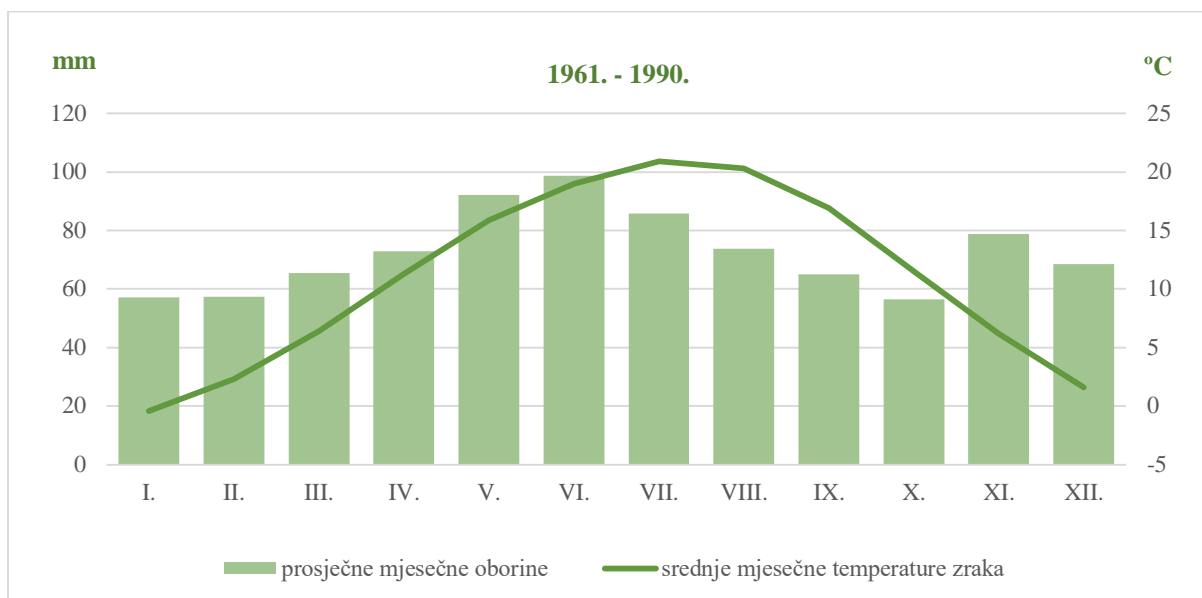
Nakon žetve soje došlo je do pada sadržaja organskog fosfora u svim tretmanima, bez i s kloroformom. Tako je najniži sadržaj organskog fosfora bez kloroforma utvrđen na tretmanima pMP, MG i MGMP i iznosio je 0,06 mg/l, dok je najveći sadržaj organskog fosfora utvrđen na tretmanu K iznosio je 0,08 mg/l. Kod sadržaja organskog fosfora s kloroformom najniži utvrđeni sadržaj iznosio je 0,09 na tretmanima KMP i p, a najveći 0,13 mg/l na tretmanu MGMP. Prosječni sadržaj organskog fosfora nakon žetve iznosio je 0,07 mg/l za ekstrakciju bez kloroforma te 0,10 mg/l za ekstrakciju s kloroformom.

#### 4.4. Klimatske prilike na lokalitetu Osječak

Klimatske prilike na lokalitetu Osječak praćene su na meteorološkoj stanici Gradačac. Višegodišnji podaci, prikupljeni od 1961. do 1990. godine, pokazuju blagi nedostatak oborina za razdoblje ljetnih mjeseci (lipanj, srpanj i kolovoz), kada su zabilježene najviše temperature zraka.

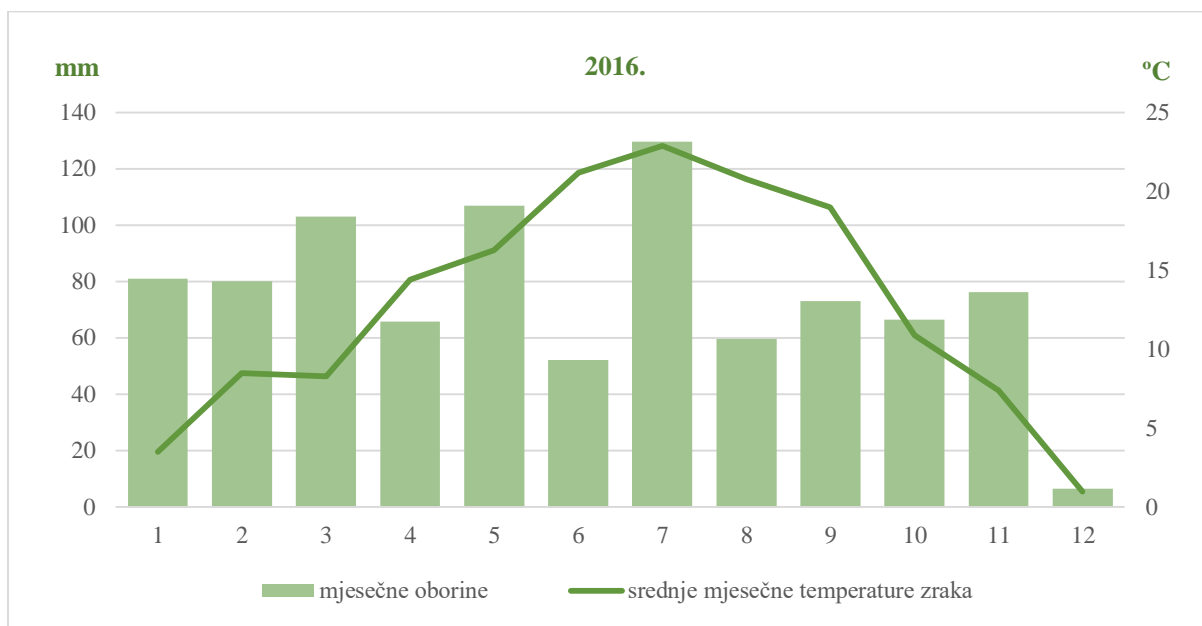


Prosječna višegodišnja količina oborina za ljetne mjesecе iznosila je 258,3 mm uz višegodišnje srednje temperature zraka od 20,1 °C. Najviše oborina imao je mjesec lipanj, a najviše temperature bile su u srpnju (Grafikon 1).



Grafikon 1. Prikaz prosječnih mjesečnih oborina i temperatura zraka za razdoblje 1961.-1990. za meteorološku stanicu Gradačac

Tijekom vegetacije soje u 2016. godini zabilježene su povišene srednje temperature zraka, kao i iznadprosječne količine oborina u odnosu na višegodišnja mjerenja. U srpnju su dosegnute najviše temperature, kao i najveće količine oborina, dok su lipanj i kolovoz imali vrlo malo oborina (Grafikon 2). Srednja temperatura zraka za tri ljetna mjeseca iznosila je 21,6 °C, što je za 1,5 °C više od višegodišnjeg prosjeka. Oborina je bilo prosječno 241,7 mm, što je za 6,4 % manje u odnosu na ljetne mjesecе višegodišnjeg razdoblja. Međutim, u mjesecu srpnju 2016. godine zabilježeno je 129,7 mm oborina, što je za 51 % više od prosječne višegodišnje količine oborina za mjesec srpanj (85,8 mm). Ove iznadprosječne količine oborina u srpnju znatno su ublažile sušna razdoblja i nedostatak oborina u ljetnim mjesecima. Stoga se može zaključiti kako je 2016. godina bila povoljna za uzgoj soje na području Gradačca.



Grafikon 2. Prikaz srednjih mjesečnih temperatura i oborina za 2016. godinu za meteorološku stanicu Gradačac

Prosječna vlažnost zraka u 2016. godini kretala se u rasponu od 61 % za mjesec travanj do 77 % za mjesec listopad. Insolacija se u prosjeku kretala u vrijednostima od 78,6 sati u veljači do 302,2 sata u srpnju (Tablica 5).

Tablica 5. Prosječne mjesečne vrijednosti vlažnosti zraka i insolacije za 2016. godinu za meteorološku stanicu Gradačac

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
<b>Vlažnost zraka (%)</b>	71	70	71	61	68	69	70	72	66	77	73	74
<b>Insolacija (h)</b>	87,7	78,6	127,6	205,4	243,0	262,2	302,2	271,3	238,0	120,2	93,2	90,0

#### 4.5. Prinosi soje po tretmanima

Prosječni prinosi soje za ispitivane tretmane kretali su se u rasponu od 3,00 do 3,33 t/ha. Najveći prinos utvrđen je za tretman KMP, odnosno na parcelici gdje je primjenjen samo mikrobiološki pripravak, bez gnojidbe fosforom. Najmanji prinos ostvaren je na parcelici gdje je primjenjena puna gnojidba fosfornim gnojivom uz dodatak mikrobiološkog pripravka (Tablica 6).

Tablica 6. Prosječni prinosi soje po tretmanima

Tretmani	Prosječni prinos (t/ha)
K	3,02
KMP	3,33
p	3,16
pMP	3,16
MG	3,21
MGMP	3,00
prosjek	3,14

#### 4.6. Korelacije utvrđenih svojstava tla

Statističkom analizom podataka (ANOVA), statistički značajna razlika u sadržaju organskog fosfora bez kloroforma, prije postavljanja pokusa, utvrđena je jedino na tretmanima KMP i pMP dok je kod sadržaja organskog fosfora s kloroformom statistički značajna razlika utvrđena između tretmana K i p (Tablica 7).

Nakon žetve soje također je izvršena statistička analiza podataka koja je pokazala kako nema statistički značajne razlike unutar tretmana kod sadržaja organskog fosfora, kako bez, tako i s kloroformom (Tablica 8).

Tablica 7. Analiza varijance sadržaja organskog fosfora prije postavljanja pokusa ( $P>0,05$ )

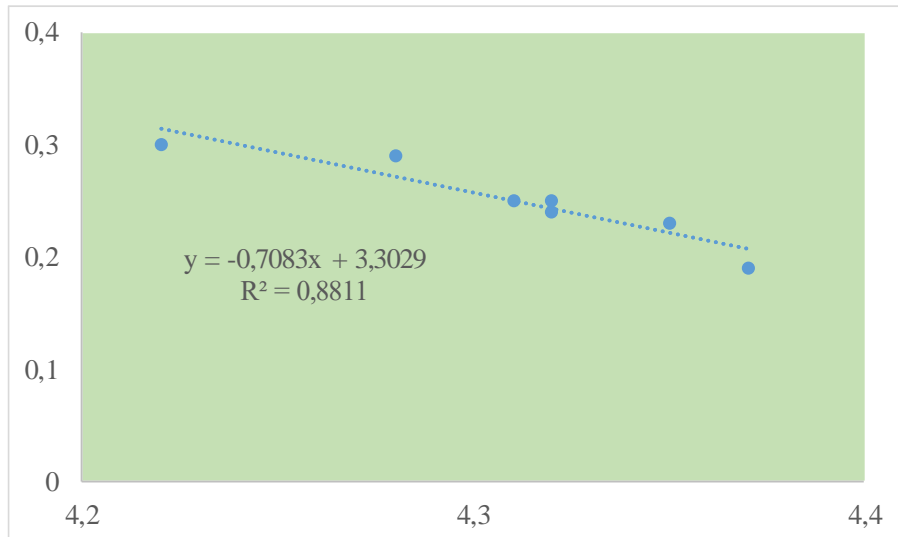
Tretmani	Org. P Bez kloroforma	Org. P Sa kloroformom
K	0,12 AB	0,18 A
KMP	0,10 B	0,14 AB
p	0,13 AB	0,06 C
pMP	0,18 A	0,11 ABC
MG	0,17 AB	0,08 BC
MGMP	0,15 AB	0,08 BC
prosjek	<b>0,14</b>	<b>0,11</b>
LSD	<b>0,07</b>	<b>0,08</b>

Tablica 8. Analiza varijance sadržaja organskog fosfora nakon žetve soje ( $P>0,05$ )

Tretmani	Org. P Bez kloroforma	Org. P Sa kloroformom
K	0,08 A	0,08 A
KMP	0,07 A	0,09 A
p	0,07 A	0,09 A
pMP	0,06 A	0,11 A
MG	0,06 A	0,09 A
MGMP	0,06 A	0,13 A
prosjek	<b>0,07</b>	<b>0,10</b>
LSD	<b>0,02</b>	<b>0,06</b>

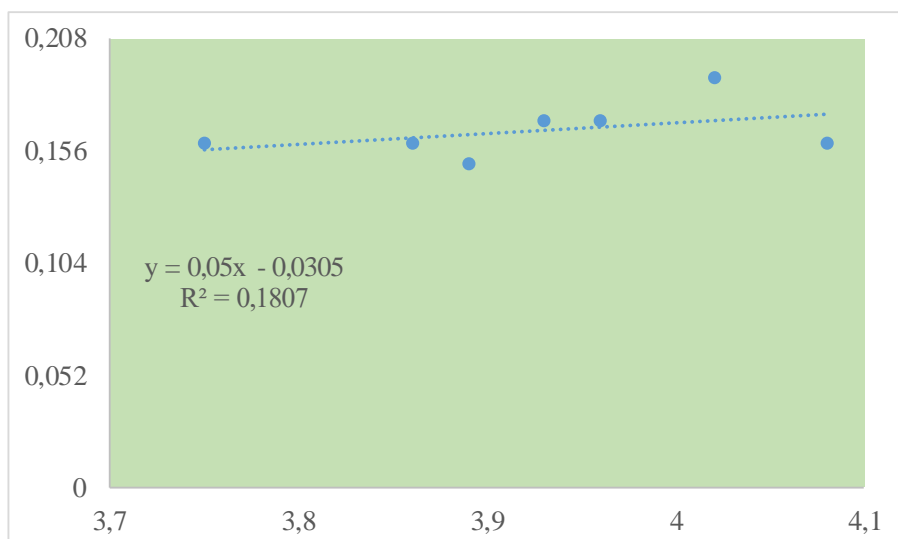
S obzirom da pojedina svojstva tla utječu na pristupačnost organskog fosfora u tlu, rezultati dobiveni osnovnim kemijskim analizama tla poslužili su za izradu korelacijskih dijagrama. Pri tome se kao najvažnije svojstvo tla koje je imalo značajan utjecaj na sadržaj organskog fosfora izdvojio sadržaj humusa u tlu, kako prije postavljanja pokusa, tako i nakon žetve soje. Nadalje, supstitucijska kiselost također je pokazala značajnu korelaciju u odnosu na sadržaj organskog fosfora dok između ostalih svojstava tla i sadržaja organskog fosfora nisu utvrđene statistički značajne korelacije, stoga one u ovom radu nisu prikazane.

Prije postavljanja pokusa utvrđena vrlo visoka statistički značajna korelacija između sadržaja organskog fosfora i sadržaja humusa ( $r = 0,94$ ) (Grafikon 3).



Grafikon 3. Korelacije između sadržaja humusa i organskog fosfora u tlu prije pokusa

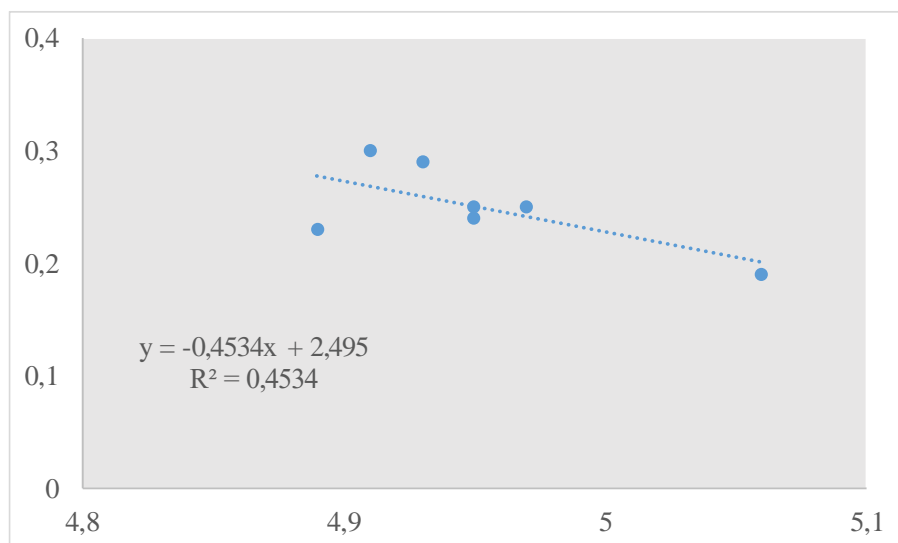
Međutim, nakon žetve soje utvrđena korelacija značajno se smanjuje ( $r = 0,42$ ) (Grafikon 4), iako je još uvijek statistički značajna.



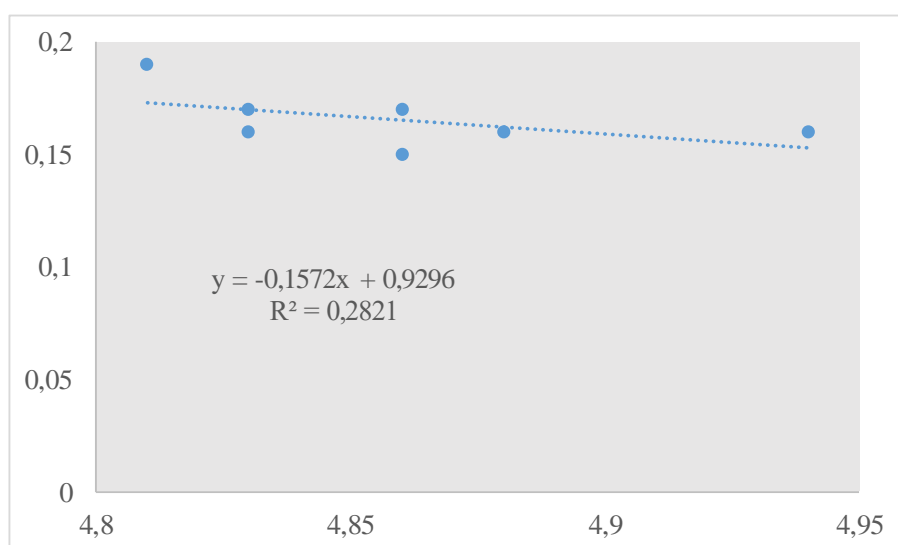
Grafikon 4. Korelacije između sadržaja humusa i organskog fosfora u tlu nakon žetve

Kako je supstitucijska kiselost svojstvo tla koje direktno utječe na pristupačnost mineralne frakcije fosfora u tlu te na mineralizaciju organske frakcije, bilo je za očekivati da će se utvrditi pozitivna međuovisnost između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora.

Tako je prije postavljanja pokusa ta korelacija bila visoka i iznosila je  $r = 0,67$  (Grafikon 5) dok je nakon žetve soje također došlo do opadanja koeficijenta korelacije na  $r = 0,53$  (Grafikon 6).



Grafikon 5. Korelacije između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora u tlu prije postavljanja pokusa



Grafikon 6. Korelacije između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora u tlu nakon žetve soje

## 5. RASPRAVA

### 5.1. Osnovna svojstva tla

Reakcija tla se mjeri i iskazuje kao pH-vrijednost koja je pokazatelj niza svojstava tla važnih za rast i razvitak bilja, visinu i kakvoću prinosa, kao i učinkovitost gnojidbe, pristupačnost hraniva itd. Kemijski gledano, pH vrijednost predstavlja negativan dekadski logaritam koncentracije slobodnih vodikovih iona u tlu (električno nabijeni atomi vodika,  $H^+$ ). Budući da vodikovi ioni mogu u tlu biti vezani na više načina, kao i različitom čvrstoćom na mineralni i organski dio tla, razlikuje se aktualna, izmjenjiva i hidrolitička pH reakcija tla. Izmjenjiva pH reakcija ili supstitucijska kiselost tla određena je prisutnošću vodikovih ( $H^+$ ) iona i dijelom iona aluminija i željeza koji se djelovanjem neutralnih soli (standardno u otopini 1 M KCl) zamjenjuju s adsorpcijskog kompleksa i prelaze u vodenu fazu tla. Izmjenjiva pH reakcija pruža neposredan uvid u stanje adsorpcijskog kompleksa tla što ukazuje i na neke druge uvjete koji određuju hranidbena svojstva tla, pa je njezino određivanje uvijek sastavni dio kemijske analize tla (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Većina tala na našem području je kisele reakcije. Kiselost tla predstavlja veliki problem u poljoprivrednoj proizvodnji i često je ograničavajući čimbenik pri izboru kultura za uzgoj, a prije svega uzrokuje niz problema vezanih za strukturu tla – zbijanje tla, lošu dreniranost, težu obradu, ispiranje hraniva itd. U kiselim tlima mineralno-koloidna frakcija (glina i humus) podvrgnuta je dugotrajnom ispiranju, odnosno premještanju u dublje slojeve tla, gdje se glina nakuplja i stvara vodonepropusnu zonu povoljnu za reduksijske uvjete. U takvim uvjetima višak  $H^+$  iona aktivira kisele ione aluminija i željeza koji u većim količinama djeluju otrovno na biljke te blokiraju opskrbu fosforom i drugim elementima ishrane (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). U ovom istraživanju svi promatrani uzorci, odnosno svi tretmani, imali su kiselu reakciju tla. Vrijednosti  $pH_{KCl}$  prije postavljanja pokusa kretale su se od 4,89 kod tretmana MGMP do 5,06 kod tretmana p, što ukazuje na jako kiselu do umjereno kiselu reakciju tala. Nakon žetve soje došlo je do blagog pada pH vrijednosti, s najnižim  $pH_{KCl}$  4,81 kod tretmana MGMP do  $pH_{KCl}$  4,94 kod tretmana p. Vrijednost supstitucijske kiselosti u prosjeku se snizila za 0,09. Vrijednosti utvrđene hidrolitičke kiselosti kretale su se sukladno pH vrijednosti; pri nižim pH vrijednostima utvrđena je veća hidrolitička kiselost, a u prosjeku je iznosila  $2,74 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$  prije postavljanja pokusa te  $4,91 \text{ cmol}^{(+)} \text{ kg}^{-1}$  nakon žetve soje.

Reakcija tla značajno utječe na pristupačnost fosfora u tlu, odnosno na njegove oblike u tlu. Tako se u kiselim tlima (osobito kod  $\text{pH}_{\text{KCl}} < 5,5$ ) ioni fosfora lako vežu s ionima željeza i aluminijske tvari te stvaraju Al-fosfate i Fe-fosfate koji su teško pristupačni biljci (Benton, 2001.) S druge strane, kada je pH vrijednost iznad 7,3, fosfor se veže s kalcijem u teško topljive Ca-fosfate (Benzing i Richardson, 2005.). Rezultati AL analize tla prije postavljanja pokusa pokazali su da su svi ispitivani uzorci vrlo nisko opskrbljeni fosforom, s prosječnom koncentracijom od 1,64 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla. Najmanja koncentracija iznosila je 1,22 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla kod tretmana MG, a najveća 1,83 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla kod tretmana KMP. Nakon žetve došlo je do povećanja prosječne koncentracije pristupačnog fosfora na 2,76 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla. Najmanja koncentracija utvrđena je na tretmanu p u iznosu od 2,46 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla, a najveća na tretmanu MGMP, 3,31 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla. Do najvećeg povećanja koncentracije došlo je kod tretmana MG, kod kojega je nakon žetve izmjerena koncentracija od 2,90 mg  $\text{P}_2\text{O}_5/100$  g tla. Svi tretmani, unatoč povećanju koncentracije fosfora, i dalje pripadaju klasi tala nisko opskrbljenih fosforom.

Opskrbljenost ispitivanih uzoraka kalijem prije postavljanja pokusa bila je niska, s prosječnom koncentracijom od 13,39 mg  $\text{K}_2\text{O}/100$  g tla. AL analiza nakon žetve soje pokazala je blagi pad te vrijednosti na 13,24 mg  $\text{K}_2\text{O}/100$  g tla.

S aspekta pristupačnosti fosfora u tlu, veća količina organske tvari u tlu povezana je s većom pristupačnosti organskog fosfora u tlu. Kovačević i sur. (1992.) utvrdili su da kod tala s niskim sadržajem fosfora, ali visokim sadržajem humusa, može izostati reakcija biljke na gnojidbu što se može pripisati činjenici da je količina biljci pristupačnog fosfora zapravo viša nego što pokazuju rezultati laboratorijske analize, zbog većeg udjela organskog fosfora. Ocjenom humoznosti tla prema Gračaninu, u svim ispitivanim uzorcima utvrđeno je da se radi o dosta humoznim tlima, sa sadržajem humusa preko 3 %. Najmanji sadržaj humusa prije postavljanja pokusa utvrđen je kod tretmana K (4,22 %), a najveći kod tretmana p (4,37 %). Prosječni sadržaj humusa za sve tretmane iznosio je 4,31 % te se nakon žetve smanjio za 0,38 % i iznosio je 3,93 %. Nakon žetve ponovno je utvrđen najniži sadržaj humusa na tretmanu K (3,75 %), a najveći na tretmanu p (4,08 %). Pad sadržaja humusa u tlu nakon žetve soje posljedica je trošenja organske tvari kako u svrhu mineralizacije samog humusa kao izvora dušika tako i kao izvora organskog fosfora.



## 5.2. Organski fosfor i aktivnost mikroorganizama u tlu

Nedostatak fosfora za biljnu ishranu uobičajen je problem diljem svijeta, najvećim dijelom zbog nepristupačnosti biljkama, bez obzira na gnojidbu i velike količine ukupnog fosfora u tlu. Ziadi i sur. (2001.) tvrde kako je frakcija organskog fosfora u tlu bitna kao rezerva fosfora u tlu, a Sánchez (2010.) navodi kako je korištenje mikroorganizama, kako bi se povećala pristupačnost fosfora u tlu, atraktivno rješenje za razvoj održive poljoprivrede. Organski fosfor, kao oblik fosfora u tlu, sastavni je dio brojnih kemijskih spojeva, o kojima uvelike ovisi pristupačnost fosfora biljkama. Većina poljoprivrednih tala sadrže od 20 do 60 % organski vezanog fosfora, a točan iznos ovisi o svojstvima i sastavu tla (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Analiza sadržaja organskog fosfora u ovom istraživanju rađena je bez i s ekstrakcijom kloroformom, kako bi se utvrdio i onaj dio organskog fosfora koji je sadržan u mikroorganizmima tla i koji njihovim raspadanjem postaje dostupan biljkama. Dobiveni rezultati sadržaja organskog fosfora bez kloroforma prije postavljanja pokusa kretali su se od 0,10 mg/l kod tretmana KMP do 0,18 mg/l kod tretmana pMP. Nakon žetve soje došlo je do pada sadržaja organskog fosfora u svim tretmanima. Tako je najniži sadržaj organskog fosfora bez kloroforma utvrđen na tretmanima pMP, MG i MGMP i iznosio je 0,06 mg/l, dok je najveći sadržaj organskog fosfora utvrđen na tretmanu K iznosio je 0,08 mg/l. Kod ekstrakcije s kloroformom prije postavljanja pokusa sadržaj organskog fosfora kretao se od 0,06 mg/l na tretmanu p do 0,18 mg/l na tretmanu K. Nakon žetve soje, najniži utvrđeni sadržaj iznosio je 0,09 na tretmanima KMP i p, a najveći 0,13 mg/l na tretmanu MGMP.

Generalno možemo reći da je prosječni sadržaj organskog fosfora za ekstrakciju bez kloroforma prije postavljanja pokusa bio 50 % viši u odnosu na sadržaj nakon žetve. Istovremeno kod ekstrakcije organskog fosfora s kloroformom ta razlika je iznosila 10 %. Promatrano s aspekta statističke značajnosti, jedine razlike utvrđene su prije postavljanja pokusa u sadržaju organskog fosfora bez i s kloroformom. Tako je sadržaj organskog fosfora bez kloroforma bio statistički značajno različit na tretmanu pMP u odnosu na tretman KMP dok je sadržaj organskog fosfora s kloroformom bio različit na tretmanima K i p (Tablica 7). Nakon žetve soje statistički značajne razlike nisu utvrđene niti na jednom tretmanu (Tablica 8). Ovakvi rezultati govore u prilog pozitivnog učinka primjene mikrobiološkog pripravka na pristupačnost organskog fosfora tj. ukazuju na veću brojnost mikroorganizmima na tim parcelicama.

Naime, smanjenje vrijednosti sadržaja organskog fosfora u tlu nakon žetve posljedica je aktivnosti primjenjenih mikroorganizama u mineralizaciji organskog fosfora, te povećane apsorpcije od strane biljaka. Prema brojnim autorima (Turner i sur. 2005.; Achat i sur., 2010.) fosfor unutar mikroorganizama tla predstavlja značajnu komponentu ukupnog fosfora u tlu i općenito je ekvivalentan ili veći od onog koji je sadržan u biljnoj biomasi. Procjenjuje se da mikrobnog fosfora u rasutom tlu, iako vrlo varijabilan, iznosi oko 2 % do 10 % ukupnog fosfora u tlu, iako u različitim fazama razvoja tla i unutar slojeva tla to može iznositi čak 50 %. Isto tako, promatrajući razlike u koncentraciji mineralnog fosfora utvrđene AL analizom tla prije postavljanja pokusa i nakon žetve, uočljivo je da su vrijednosti nakon žetve više porasle na tretmanima na kojima je primjenjen mikrobiološki pripravak, što ponovo dokazuje njihovu aktivnost u mineralizaciji organskog fosfora tla.

Ukoliko dobivene rezultate tumačimo kroz međuodnose tj. korelacije osnovnih svojstava tla i sadržaja organskog fosfora, možemo istaknuti da je prije postavljanja pokusa utvrđena vrlo visoka statistički značajna korelacija između sadržaja organskog fosfora i sadržaja humusa ( $r = 0,94$ ) (Grafikon 3), dok se ta korelacija nakon žetve soje značajno se smanjuje ( $r = 0,42$ ) (Grafikon 4). Ovakvi rezultati u skladu su s očekivanjima jer se i na ovaj način potvrdila jaka veza između trošenja organske tvari tla i sadržaja organskog fosfora. Al-Jaloud i sur. (1998.) istaknuli su kako je koncentracija fosfora u tlu usko povezana s količinom organske tvari tla, posebice u aridnom klimatu. Isti autori došli su do zaključka kako je velika razlika između ukupnog i biljci pristupačnog fosfora u karbonatnim tlima te da unošenje svježeg organske tvari u tlo povećava biljci pristupačni fosfor.

Supstitucijska kiselost sljedeće je svojstvo tla koje je imalo visoku korelaciju s organskim fosforom u tlu. Tako je prije postavljanja pokusa koeficijent korelacije iznosio  $r = 0,67$  (Grafikon 5), dok je nakon žetve soje također došlo do opadanja te vrijednosti na  $r = 0,53$  (Grafikon 6). Dobiveni rezultati u skladu su s dobivenim rezultatima Vance i sur. (1996.) koji su naveli kako se u nekim kiselim tlima s visokim postotkom organske tvari fosfor akumulira kao kompleks visoke molekularne mase kao što je humat-AL-fosfat kompleks.

Turner i Blackwell (2013.), u istraživanju o utjecaju pH na količinu i oblike organskog fosfora u tlu, zaključili su da pH ima relativno mali utjecaj na sadržaj organskog fosfora u tlu, iako se neki oblici organskog fosfora akumuliraju više u izrazito kiselim uvjetima.

### **5.3. Prinos soje**

S obzirom na klimatske prilike na lokalitetu Osječak, odnosno na području Gradačca, može se zaključiti kako je 2016. godina bila povoljna za uzgoj soje. Prosječni prinos soje u Bosni i Hercegovini iznosio je 2,7 t/ha, a proizvedeno je ukupno 18 662 t. U ovom istraživanju, na svim tretmanima je ostvaren iznadprosječni prinos, s najvećim na tretmanu kontrole uz mikrobiološki pripravak (KMP) koji je iznosio 3,33 t/ha.

## 6. ZAKLJUČAK

Primjena mikrobiološkog pripravka dovela je do povećanja sadržaja organskog fosfora u tlu.

Prije postavljanja pokusa najveći sadržaj organskog fosfora utvrđen je na tretmanu reducirane gnojidbe fosforom za 50 % uz mikrobiološki pripravak (pMP).

Nakon žetve soje najveći sadržaj organskog fosfora utvrđen je na tretmanu pune gnojidbe fosforom uz mikrobiološki pripravak (MGMP).

Ni prije postavljanja pokusa, ni nakon žetve nije utvrđena statistički značajna razlika između kontrole i tretmana u sadržaju organskog fosfora, osim u jednom slučaju: prije postavljanja pokusa između kontrole (K) i tretmana reducirana gnojidba fosforom za 50 % (p) u rezultatima sadržaja organskog fosfora s kloroformom.

U rezultatima analize tla prije postavljanja pokusa utvrđena je vrlo visoka statistički značajna korelacija između sadržaja organskog fosfora i sadržaja humusa ( $r = 0,94$ ), dok se ta korelacija nakon žetve soje značajno smanjuje ( $r = 0,42$ ).

Između supstitucijske kiselosti i organskog fosfora u tlu utvrđena je visoka korelacija koja je prije postavljanja pokusa iznosila  $r = 0,67$ , a nakon žetve soje pala je na  $r = 0,53$ .

Prinosi soje nisu bili pod utjecajem tretmana i prosječno su iznosili 3,14 t/ha s najvećim ostvarenim prinosom od 3,33 t/ha na tretmanu kontrole uz mikrobiološki pripravak (KMP).

## 7. POPIS LITERATURE

1. Achat D. L., Morel, C., Bakker, M. R., Augusto, L., Pellerin, S., Gallet-Budynek, A., Gonzalez, M. (2010.): Assessing turnover of microbial biomass phosphorus: combination of an isotopic dilution method with a mass balance model. *Soil Biol Biochem*, 42: 2231–2240.
2. Afzal A., Bano, A. (2008.): Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphate uptake in wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Boilogy*, 10: 85–88.
3. Al-Jaloud, A. A., Hussain, G., Bashour, I. I.(1998.): Analytical methos: Evaluation and status of phosphorus fractionation in calcareous soils of Saudi Arabia. *Commun. Soil Sci. Plant anal.* 33: 15-18.
4. Benton, J. J. (2001.): *Extractable Phosphorus in Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis.* CRC Press LCC: 62-73.
5. Benzing, P., Richardson, C. J. (2005.): CaCO<sub>3</sub> causes underestimation of NaOH extractable phosphorus in sequential fractionations. *Soil Science*, 170(10): 802-809.
6. Birch, H. F. (1964.): The effect of 2:4-dinitro-phenol on phosphorus transformations during humus decomposition. *Plant and Soil*, 21(3): 391-394.
7. Borie, F., Rubio, R. (2003.): Total and Orgaic Phosphorus in Chilean Volcanic Soils. *Gayana Bot.* 60(1): 69-78.
8. Bowman R. A., Cole, C. V. (1978.): An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils. *Soil Science*, 125(2): 95-101.
9. Bromfield, S. M., Jones, O. L. (1972.): The initial leaching of hayed-off pasture plants in relation to the recycling of phosphorus. *Australian Journal of Agricultural Research* 23(5): 811-824.
10. Dalal, R.C. (1977.) Soil organic Phosphorus. *Advances in Agronomy*, 29: 83-117.
11. Egnér H., Riehm H., Domingo W. R. (1960.): Investigations on the chemical soil analysis as a basis for assessing the soil nutrient status II: Chemical extraction methods for phosphorus and potassium determination. *Kunliga Lantbrukshu"gskolans Annaler* 26:199–215.
12. Fabry, G. (1963.): The biological transformation of phosphorus in some characteristic profiles of brown forest soil regions. *Agrokem. Talajt.* 12: 427–438.

13. Fankem H., Ngo Nkot, L., Deubel, A., Quinn, J., Merbach, W., Etoa, F. X., Nwaga, D. (2008.): Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. *African Journal of Microbiology Research*, 2: 171-178.
14. Fuller, W. H., Nielsen, D. R., Miller, R. W. (1956.): Some Factors Influencing the Utilization of Phosphorus from Crop Residues. *Soil Science Society of America Journal*, 20(2): 218-224.
15. Ghaderi, A., Aliasgharzad, N., Oustan, S., Olsson, P. A. (2008.): Efficiency of three *Pseudomonas* isolates in releasing phosphate from an artificial variable-charge mineral (iron III hydroxide). *Soil Environ.*, 27: 71-76.
16. Ghoshal, S. (1975.): Biological immobilization and chemical fixation of native and fertilizer phosphorus in soil. *Plant and Soil*, 43(1-3): 649-662.
17. Hedley, M. J., Stewart, J. W. B. (1982.): Method to measure microbial phosphate in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(4): 377-385.
18. International Organization for Standardization [ISO 10390:1994] (1994.b): Soil quality - Determination of pH.
19. International Standard Organisation, [ISO 14235:1998.] (1998.): Soil quality-determination of organic carbon by sulfochromic oxidation.
20. Islam, A., Ahmed, B. (1973.): Distribution of inositol phosphates, phospholipids, and nucleic acids and mineralization of inositol phosphates in some bangladesh soils. *European Journal of Soil Science*, 24(2): 193-198.
21. Kovačević, V., Bertić, B., Josipović, M. (1992.): Kalcizacija i fosfatizacija kao faktori proizvodnje kukuruza u istocnoj bosanskoj Posavini. *Znan. prak. poljopr. tehnol.* 22(2): 331-342.
22. Kucey, R. M. N. (1983.): Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 63(4): 671-678.
23. Macklon A. E. S., Grayston, S. J., Shand, C. A., Sim, A., Sellars, S., Ord, B. G. (1997.): Uptake and transport of phosphorus by *Agrostis capillaris* seedlings from rapidly hydrolysed organic sources extracted from <sup>32</sup>P-labelled bacterial cultures. *Plant and Soil*, 190(1): 163-167.
24. Martin, J. K., Cunningham, R. B. (1973.): Factors controlling the release of phosphorus from decomposing wheat roots. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 715.
25. Parani, K., Saha, B. K. (2012.): Prospects of Using Phosphate Solubilizing *Pseudomonas* as Bio Fertilizer. *European Journal of Biological Sciences* 4(2): 40-44.

26. Richardson, A. E., Simpson, R. J. (2011.): Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability Update on Microbial Phosphorus. *American Society of Plant Biologists*, 156(3): 989-996.
27. Rodriguez, H., Fraga, R. (1999.): Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4–5): 319-339.
28. Rolston, D. E., Rauschkolb, R. S., Hoffman, D. L. (1975.): Infiltration of Organic Phosphate Compounds in Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 39(6): 1089-1094.
29. Sánchez, P. A. (2010.): Tripling crop yields in tropical Africa. *Nat Geosci* 3: 299–300.
30. Scherer, H.W., Sharma, S.P. (2002.): Phosphorus fractions and phosphorus delivery potential of a luvisol derived from loess amended with organic materials. *Biol Fertil Soils*, 35: 414-419.
31. Sharpley, A. N., Smith, S. J. (1985.): Fractionation of Inorganic and Organic Phosphorus in Virgin and Cultivated Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 49(1): 127-130.
32. Turner B. L., Frossard, E., Baldwin, D. S. (2005.): Microbial turnover of phosphorus in soil. *Organic Phosphorus in the Environment*. CABI, Wallingford, UK, 133–164.
33. Turner, B. L., Blackwell, M. S. A. (2013.): Isolating the influence of pH on the amounts and forms of soil organic phosphorus. *European Journal of Soil Science*, 64(2): 249-259.
34. Vance, C. P., Johnson, J. F., Allan, D. L., Weiblen, G. (1996.): Root Carbon Dioxide Fixation by Phosphorus-Deficient *Lupinus albus* (Contribution to Organic Acid Exudation by Proteoid Roots). *American Society of Plant Biologists*, 112(1): 19-30.
35. Vetterlein, D., Bergmann, C., Huttel, R. (1999.): Phosphorus availability in different types of open-cast mine spoil and the potential impact of organic matter application. *Plant and Soil*, 213: 189-194.
36. Vukadinović, V., Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
37. Whitelaw, M. A. (1999.): Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. *Advances in Agronomy*, 69: 99-151.
38. Wier, D. R., Black, C. A. (1968.): Mineralization of organic phosphorus in soils as affected by addition of inorganic phosphorus. *Soil Science Society Amer. Proc.*, 32: 51-55.
39. Winarso, S., Sulistyanto, D., Handayanto, E. (2011.): Effects of humic compounds and phosphate-solubilizing bacteria on phosphorus availability in an acid soil. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 3(7), 232-240.

40. Xiao, C., Chi, R., Li, X., Xia, M., Xia, Z. (2011.): Biosolubilization of Rock Phosphate by Three Stress-Tolerant Fungal Strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(2): 719-727.
41. Ziadi, N., Simard, R. R., Tran, T. S., Allard, G. (2001.): Soil available phosphorus as evaluated by desorption techniques and chemical extractions. *Canadian Journal of Soil Science*, 81(2): 167-174.
42. <https://www.doccity.com/sr/uloga-mikroorganizama-u-kruzenju-fosfora/764484/>
43. <https://www.fhmzbih.gov.ba/podaci/klima/godisnjak/G2016.pdf>



## 8. SAŽETAK

Organski fosfor, kao oblik fosfora u tlu, sastavni je dio brojnih kemijskih spojeva, o kojima uvelike ovisi pristupačnost fosfora biljkama. Većina poljoprivrednih tala sadrže od 20 do 60 % organski vezanog fosfora, a on u tlo dospijeva nakon razgradnje biljnih ostataka ili dodatkom organskog gnojiva i podliježe procesu mineralizacije pod utjecajem mikroorganizama u tlu. Mikrobiološke transformacije fosfora obuhvaćaju procese mineralizacije organskih fosfornih spojeva (fosfomineralizacija), razlaganje anorganskih spojeva fosfora (fosfomobilizacija) te redukciju oksidiranih anorganskih oblika fosfora (defosfokacija). Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj mikrobiološkog pripravka za tretiranje tla na povećanje pristupačnosti organskog fosfora u tlu. Također, pretpostavlja se da na sadržaj organskog fosfora u tlu, kao i na aktivnost mikroorganizama, velik utjecaj imaju sadržaj humusa te pH reakcija tla, stoga je cilj bio utvrditi i korelacije između navedenih svojstava. Statističkom analizom podataka (ANOVA), statistički značajna razlika u sadržaju organskog fosfora bez kloroforma, prije postavljanja pokusa, utvrđena je na tretmanima KMP i pMP dok je kod sadržaja organskog fosfora s kloroformom statistički značajna razlika utvrđena između tretmana K i p. Nadalje, vrlo visoka statistički značajna korelacija utvrđena je između sadržaja organskog fosfora i sadržaja humusa prije postavljanja pokusa ( $r = 0,94$ ), dok se nakon žetve ona značajno smanjila ( $r = 0,42$ ). Visoka korelacija prije postavljanja pokusa utvrđena je i između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora ( $r = 0,67$ ), koja se također smanjila nakon žetve soje ( $r = 0,53$ ). Nakon žetve soje nije utvrđena statistički značajna razlika unutar tretmana kod sadržaja organskog fosfora kako bez tako i s kloroformom. Generalno možemo reći, kako je primjena mikrobiološkog pripravka dovela do povećanja pristupačnosti organskog fosfora u tlu.

**Ključne riječi:** organski fosfor, mikroorganizmi, mikrobiološki pripravak

## 9. SUMMARY

Organic phosphorus, as a form of phosphorus in the soil, is a constituent of numerous chemical compounds, of which depends availability of phosphorus to plants. Most agricultural soils contain 20 to 60 % of organically bound phosphorus, and it comes into the soil after disintegration of plant residues or addition of organic fertilizer and is subject to the mineralization process under the influence of microorganisms in the soil. Microbiological transformations of phosphorus include processes of mineralization of organic phosphorous compounds (phosphomineralization), degradation of phosphorous inorganic compounds (phosphomobilization) and reduction of oxidized inorganic phosphorus forms (dephosphorylation). The aim of this study was to examine the influence of microbial fertilizer on increasing the availability of organic phosphorus in the soil. It is also assumed that the content of organic phosphorus in the soil, as well as the activity of microorganisms, are under a great influence of humus content and soil pH, so the aim was to determine the correlations between these properties. Statistical analysis of data (ANOVA) showed a statistically significant difference in the content of organic phosphorus, before trial setting without chloroform on KMP and pMP treatments while statistically significant difference in the content of organic phosphorus with chloroform was determined between the K and p treatments. A very high statistically significant correlation, also, was found between the content of organic phosphorus and humus content before trial setting ( $r = 0,94$ ), which significantly decreased ( $r = 0,42$ ) after the soybean harvest. High correlation was also found between exchangeable acidity and organic phosphorus content before trial setting ( $r = 0,67$ ), which also decreased after soybean harvest ( $r = 0,53$ ). However, after the soybean harvest, the data analysis did not show statistically significant differences in organic phosphorus content between the treatments with nor without the use of chloroform. Generally, it can be concluded that the application of microbial fertilizer have led to an increase in the availability of organic phosphorus in the soil.

**Key words:** organic phosphorus, microorganisms, microbial fertilizer

## 10. POPIS TABLICA

<b>Broj tablice</b>	<b>Naziv tablice</b>	<b>Str.</b>
Tablica 1.	Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka prije postavljanja pokusa	<b>15</b>
Tablica 2.	Rezultati osnovne analize tla ispitivanih uzoraka nakon žetve soje	<b>17</b>
Tablica 3.	Rezultati analize organskog fosfora prije postavljanja pokusa	<b>17</b>
Tablica 4.	Rezultati analize organskog fosfora nakon žetve soje	<b>18</b>
Tablica 5.	Prosječne mjesečne vrijednosti vlažnosti zraka i insolacije za 2016. godinu za meteorološku stanicu Gradačac	<b>20</b>
Tablica 6.	Prosječni prinosi soje po tretmanima	<b>21</b>
Tablica 7.	Analiza varijance sadržaja organskog fosfora prije postavljanja pokusa ( $P>0,05$ )	<b>22</b>
Tablica 8.	Analiza varijance sadržaja organskog fosfora nakon žetve soje ( $P>0,05$ )	<b>22</b>

## 11. POPIS SLIKA

<b>Broj slike</b>	<b>Naziv slike</b>	<b>Str.</b>
Slika 1.	Shematski prikaz načina pripreme radnih standarda	<b>13</b>

## 12. POPIS GRAFIKONA

<b>Broj grafikona</b>	<b>Naziv tablice</b>	<b>Str.</b>
Grafikon 1.	Prikaz prosječnih mjesečnih oborina i temperatura zraka za razdoblje 1961.-1990. za meteorološku stanicu Gradačac	<b>19</b>
Grafikon 2.	Prikaz srednjih mjesečnih temperatura i oborina za 2016. godinu za meteorološku stanicu Gradačac	<b>20</b>
Grafikon 3.	Korelacije između sadržaja humusa i organskog fosfora u tlu prije pokusa	<b>23</b>
Grafikon 4.	Korelacije između sadržaja humusa i organskog fosfora u tlu nakon žetve	<b>23</b>
Grafikon 5.	Korelacije između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora u tlu prije postavljanja pokusa	<b>24</b>
Grafikon 6.	Korelacije između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora u tlu nakon žetve soje	<b>24</b>

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Diplomski rad

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Ishrana bilja i tloznanstvo

### Utjecaj primjene mikrobiološkog pripravka na pristupačnost organskog fosfora u tlu Helena Žalac

**Sažetak:** Organski fosfor, kao oblik fosfora u tlu, sastavni je dio brojnih kemijskih spojeva, o kojima uvelike ovisi pristupačnost fosfora biljkama. Većina poljoprivrednih tala sadrže od 20 do 60 % organski vezanog fosfora, a on u tlo dospijeva nakon razgradnje biljnih ostataka ili dodatkom organskog gnojiva i podliježe procesu mineralizacije pod utjecajem mikroorganizama u tlu. Mikrobiološke transformacije fosfora obuhvaćaju procese mineralizacije organskih fosfornih spojeva (fosfomineralizacija), razlaganje anorganskih spojeva fosfora (fosfomobilizacija) te redukciju oksidiranih anorganskih oblika fosfora (defosfifikacija). Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj mikrobiološkog pripravka za tretiranje tla na povećanje pristupačnosti organskog fosfora u tlu. Također, pretpostavlja se da na sadržaj organskog fosfora u tlu, kao i na aktivnost mikroorganizama, velik utjecaj imaju sadržaj humusa te pH reakcija tla, stoga je cilj bio utvrditi i korelacije između navedenih svojstava. Statističkom analizom podataka (ANOVA), statistički značajna razlika u sadržaju organskog fosfora bez kloroforma, prije postavljanja pokusa, utvrđena je na tretmanima KMP i pMP dok je kod sadržaja organskog fosfora s kloroformom statistički značajna razlika utvrđena između tretmana K i p. Nadalje, vrlo visoka statistički značajna korelacija utvrđena je između sadržaja organskog fosfora i sadržaja humusa prije postavljanja pokusa ( $r = 0,94$ ), dok se nakon žetve ona značajno smanjila ( $r = 0,42$ ). Visoka korelacija prije postavljanja pokusa utvrđena je i između supstitucijske kiselosti i sadržaja organskog fosfora ( $r = 0,67$ ), koja se također smanjila nakon žetve soje ( $r = 0,53$ ). Nakon žetve soje nije utvrđena statistički značajna razlika unutar tretmana kod sadržaja organskog fosfora kako bez tako i s kloroformom. Generalno možemo reći, kako je primjena mikrobiološkog pripravka dovela do povećanja pristupačnosti organskog fosfora u tlu.

**Rad je rađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Brigita Popović

**Broj stranica:** 39

**Broj grafikona i slika:** 7

**Broj tablica:** 8

**Broj literaturnih navoda:** 43

**Broj priloga:** -

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** organski fosfor, mikroorganizmi, mikrobiološki pripravak

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. prof.dr.sc. Suzana Kristek, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Brigita Popović, mentor
3. doc.dr.sc. Vladimir Ivezić, član

**Rad je pohranjen:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, Plant production, course Plant nutrition and soil science**

**Graduate thesis**

### **Influence of application of microbial fertilizer on the availability of organic phosphorus in soil**

Helena Žalac

**Abstract:** Organic phosphorus, as a form of phosphorus in the soil, is a constituent of numerous chemical compounds, of which depends availability of phosphorus to plants. Most agricultural soils contain 20 to 60 % of organically bound phosphorus, and it comes into the soil after disintegration of plant residues or addition of organic fertilizer and is subject to the mineralization process under the influence of microorganisms in the soil. Microbiological transformations of phosphorus include processes of mineralization of organic phosphorous compounds (phosphomineralization), degradation of phosphorous inorganic compounds (phosphomobilization) and reduction of oxidized inorganic phosphorus forms (dephosphorylation). The aim of this study was to examine the influence of microbial fertilizer on increasing the availability of organic phosphorus in the soil. It is also assumed that the content of organic phosphorus in the soil, as well as the activity of microorganisms, are under a great influence of humus content and soil pH, so the aim was to determine the correlations between these properties. Statistical analysis of data (ANOVA) showed a statistically significant difference in the content of organic phosphorus, before trial setting without chloroform on KMP and pMP treatments while statistically significant difference in the content of organic phosphorus with chloroform was determined between the K and p treatments. A very high statistically significant correlation, also, was found between the content of organic phosphorus and humus content before trial setting ( $r = 0,94$ ), which significantly decreased ( $r = 0,42$ ) after the soybean harvest. High correlation was also found between exchangeable acidity and organic phosphorus content before trial setting ( $r = 0,67$ ), which also decreased after soybean harvest ( $r = 0,53$ ). However, after the soybean harvest, the data analysis did not show statistically significant differences in organic phosphorus content between the treatments with nor without the use of chloroform. Generally, it can be concluded that the application of microbial fertilizer have led to an increase in the availability of organic phosphorus in the soil.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Brigita Popović

**Number of pages:** 39

**Number of figures:** 7

**Number of tables:** 8

**Number of references:** 43

**Number of appendices:** -

**Original in:** Croatian

**Key words:** organic phosphorus, microorganisms, microbial fertilizer

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. prof.dr.sc. Suzana Kristek, president
2. izv.prof.dr.sc. Brigita Popović, menthor
3. doc.dr.sc. Vladimir Ivezić, member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek.