

Inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto įtaka raudonųjų dobilų atmosferos azoto fiksacijai

Edmundas Lapinskas,

Loreta Piaulokaitė-Motuzienė

*Lietuvos agrarinių ir miškų
mokslų centro Vėžaičių filialas,*

Gargždų g. 29,

LT-96216 Vėžaičiai,

Klaipėdos r.

El. paštas: loreta.motuz@gmail.com

Nustatyta inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto įtaka raudonųjų dobilų atmosferos azoto fiksacijai, gumbelių susiformavimui, fermento nitrogenazės aktyvumui ir dirvožemio mikroorganizmų paplitimui. Šiems parametrams lemiamos reikšmės turėjo raudonųjų dobilų inokuliacija ir didelės įterptų šiaudų normos ($3,0 \text{ g kg}^{-1}$ dirvožemio). Pradinė azoto norma (21 mg N kg^{-1} dirvožemio) stimuliuo tik neinokuliuotų dobilų gumbelių formavimąsi. Įterpti šiaudai neinokuliuojant ar tręšiant azotu neturėjo jokios įtakos dobilų gumbelių susiformavimui ir azoto fiksacijai. Derinant dobilų inokuliaciją su šiaudų (vidutinė norma $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ dirvožemio) įterpimu, suaktyvėjo dirvožemio mikrobiologiniai procesai (paplito daugiau amonifikuojančių ir celiuliozę skaidančių mikroorganizmų) ir pagerėjo kai kurie dirvožemio agrocheminiai parametrai.

Raktažodžiai: rizobijos, inokuliacija, šiaudų mineralizacija, pradinis azotas, raudonieji dobilai, azoto fiksacija, dirvožemio mikroorganizmai

ĮVADAS

Biologinio azoto fiksacija – energijos požiūriu imlus procesas. Vieno molio atmosferos azotui fiksuoti reikia nuo 730 iki 960 kJ energijos (Drevon, Moyse, 1990). Iš ankštinių augalų suminio asimiliatų kiekio gumbeliai sunaudoja 13–23 %, iš kurių: kvėpavimui tenka 35–65, augimui – 9–22, azoto sintezei ir transformacijai – 21–52 % (Killham, Foster, 1992; Vasiljeva, Kostov, 2001).

Žinoma, kad šiaudai, kaip organinė trąša, stimuliuoja gumbelinių bakterijų paplitimą dirvožemyje ir jų simbiozinę efektyvumą. Rusijoje darytų tyrimų duomenimis, įterpus šiaudus sojų gumbelinių bakterijų skaičius išaugo iki 10^5 KSV (kolonijas sudarantys vienetai) g^{-1} dirvožemio, tuo tarpu pradinis jų skaičius vos keli tūkst. g^{-1} dirvožemio (Lisichkina, Kozhevina, 1984). Šiaudai turtingi polimerinių sacharidų (celiuliozė, hemiceliuliozė, ligninas ir kt.), kuriuos ardant mikroorganizmams, susidaro monomerai (gliukozė), tinkami gumbelinių bakterijų mitybai ir atmosferos azoto fiksacijai (Zvyagintsev, Gusev, Levin, 1986).

Australijoje buvo tiriamas kviečių šiaudų (nuo 0 iki 10 t ha^{-1}) poveikis žirnių simbiozės veiksmingumui (Zohdy, Abd El-Aziz, 1983). Įterpus daug šiaudų, dirvos azoto įsisavinimas sumažėjo nuo 10 iki 50 kg ha^{-1} . Tačiau žirniai į mineralinio azoto deficitą dirvožemyje nereagavo. Daugelio

autorių nuomone, gumbelinių bakterijų efektyvūs kamienai pasižymi hidrolizininiais fermentais, skaidančiais ląstelieną į vandenyje tirpstančius sacharidus. Be to, žinomos gumbelinių bakterijų rūšys ir dargi kamienai, galintys skaidyti ir aromatinus sacharidus, ir naftą bei jos produktus. Iš naftos produktų atskilusi anglis gali būti panaudota azoto fiksavimui (Hopper, Mahadevan, 1997).

Tebesitęsia diskusija dėl mažų azoto normų arba vadinaamojo pradinio azoto panaudojimo, kaupiant biologinį azotą. Vienų mokslininkų nuomone, maisto medžiagų požiūriu ne-turtinguose dirvožemiuose iki susidarant gumbeliams ankštiniuose augaluose, mažos azoto normos arba pradinis azotas ($20\text{--}40 \text{ kg N ha}^{-1}$) stimuliuoja ankštinių augalų augimą, didina jų fotosintetinį aparatą ir atmosferos azoto fiksavimą (Bespalova, Kudryavtseva, 1985). Kiti autoriai mano, kad visiems ankštiniams augalams ir jų simbiozinėms sistemoms reikalingas pradinis azotas (Lapinskas, 2008; 2006). Ir pagaliau, žinomi faktai, kai mažos azoto normos slopina azoto fiksaciją, kuri neatsinaujina netgi vėlyvuose ankštinių augalų augimo tarpsniuose, kai mineralinio azoto atsargos dirvožemyje jau būna panaudotos (Yashima, Fujikake, Sato, 2003; Vasiljeva, Kostov, 2001).

Darbo tikslas – nustatyti raudonųjų dobilų inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto įtaką atmosferos azoto fiksacijai.

TYRIMŲ METODIKA IR SĄLYGOS

Vegetaciniai bandymai daryti pagal šią schemą. A veiksnys (Šiaudai): 1. Be šiaudų, 2. Šiaudai 1,5 g kg⁻¹ dirvožemio, 3. Šiaudai 3,0 g kg⁻¹ dirvožemio; B veiksnys (Mineralinis azotas): 1. Be azoto, 2. Mineralinis azotas 21 mg kg⁻¹ dirvožemio, 3. Mineralinis azotas 42 g kg⁻¹ dirvožemio ir C veiksnys (Inokuliacija): 1. Be inokuliacijos, 2. Inokuliuota.

Dirvožemis – nepasotintasis giliau glėžiškas balkšvažemis (*Dystri-Endohypogleyic Albeluvisol*, Abg-n-w-dy), kurio pH_{KCl} 4,2–4,8, po kalkinimo kreida – pH_{KCl} 6,1–6,8. Judriųjų fosforo (P₂O₅) ir kalio (K₂O) atitinkamai 123–153 ir 120–148 mg kg⁻¹ dirvožemio, humuso – 2,38–2,78 %.

Iš rudens Mitčerlicho tipo vegetaciniai indai buvo pakraunami po 6,5 kg dirvožemio. Dirvožemis prieš užpildant indus buvo persijojamas per sietą, kurio akučių dydis 10 × 10 mm, ir kalkinama viena norma kreidos pagal dirvožemio hidrolizinį rūgštumą, tręšiama fosforu ir kaliumu, skaičiuojant po 0,15 g P₂O₅ ir K₂O kg⁻¹ dirvožemio K₂HPO₄ ir KH₂PO₄ trąšų pavidalu.

Raudonųjų dobilų (*Trifolium pratense* L.) veislės 'Liepsna' kontrolinė sėkla buvo sėjama neinokuliuota. Sėklų inokuliacijai buvo naudojama efektyvios gumbelinių bakterijų padermės R 99 vandeninė suspensija, kurios titras 10⁶–10⁷ KSV ml⁻¹. Kiekvienam indui buvo sunaudojama po 5 ml šviežiai paruoštos suspensijos. Gumbelių apskaitai buvo išplaunamos visų augalų šaknys ir atsitiktine tvarka buvo atrenkama iš kiekvieno varianto po 10 šaknų.

Azoto fiksacijai įvertinti lygiagrečiuose induose buvo auginami migliniai augalai – daugiametės svidrės (*Lolium perenne* L.) veislė 'Sodrė'.

Fiksuotas azotas buvo apskaičiuojamas pagal šią formulę:

$$F = (U_n + R_n) - (U_s + R_s);$$

čia F – fiksuotas azotas; U_n – ankštinių augalų antžeminės dalies suminis azotas; R_n – ankštinių augalų šaknų suminis azotas; U_s – varpinių augalų antžeminės dalies suminis azotas; R_s – varpinių augalų šaknų suminis azotas. Skaičiuota mg N kg⁻¹ dirvožemio.

Azotą fiksuojančios sistemos nitrogenazės aktyvumas buvo nustatomas dujų chromatografijos metodu raudonųjų dobilų šaknyse. Iš kiekvieno indo buvo paruošiama po 2 g šviežiai išplautų šaknų su gumbeliais ir patalpinama hermetiškai uždarytame inde. Per guminių kamštį medicininis švirkštu buvo įpurškiama 10 % indo tūrio, arba 2 ml chemiškai gryną acetileno dujų ir inkubuota 2 val. termostate, esant 27 °C temperatūrai. Po to 1 ml susidariusių dujų mišinio buvo analizuojama chromatografe. Dujų nešėjas azotas (30 ml min.⁻¹), oksidatorius atmosferos deguonis (250 ml min.⁻¹), reduktorius vandenilio dujos (30 ml min.⁻¹). Chromatografinė kolonėlė buvo užpildyta silikageliu. Chromatografo darbo temperatūra: termostato 80 °C, įvado 150 °C ir detektoriaus 220 °C. Redukuoto acetileno į etileną kiekis buvo palyginamas su

etalonu – chemiškai grynu etilenu (0,1 ml). Nitrogenazės aktyvumas buvo perskaičiuotas μM N g⁻¹ šaknų per valandą. Analizė buvo atliekama 3 kartus per vegetaciją (Ambrazaitienė, 2003).

Suminis azotas augalų antžeminėje dalyje ir šaknyse buvo nustatomas Kjeldalio metodu, judrieji sacharidai – augalų antžeminėje dalyje Bertrano metodu.

Tyrimų duomenys apdoroti statistiniais metodais, panaudojant programas ANOVA ir STAT (Tarakanovas, Raudonius, 2003). Koreliaciniai koeficientai R ir Fišerio kriterijus F , pažymėti * arba **, reiškia, kad duomenys statistiškai patikimi atitinkamai 95 ir 99 % tikimybės lygiams.

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Augalų antžeminė dalis. Dobilų antžeminės dalies ir šaknų masę teigiamai veikė augalų inokuliacija ir šiaudų įterpimas (1 lentelė). Tuo tarpu mineralinis azotas dobilus tręšiant tiek menkai (21 mg N kg⁻¹ dirvožemio), tiek gausiai (42 mg N kg⁻¹ dirvožemio) nedarė poveikio augalų augimui.

Kiti rezultatai gauti, įterpiant vidutiniškai šiaudų (1,5 g kg⁻¹ dirvožemio). Organinių trąšų fone simbiozinis ir mineralinis azotas buvo vienodai veiksmingi dobilų derliui. Vis dėlto kiek didesnis efektas gautas, derinant inokuliaciją su pradinio azoto norma. Šiaudų mineralizacija neinokuliuojant arba netręšiant azotu buvo neveiksminga dobilams.

Įterpus daug šiaudų (3,0 g kg⁻¹ dirvožemio) aiškiai padidėjo dobilų inokuliacijos efektyvumas, todėl padidėjo derlius ir nepatręšus azotu.

Šaknys. Iš visų tiriamų priemonių tik dobilų inokuliacija stimuliuoja jų šaknų sistemą. Įterpus vidutiniškai šiaudų su daug azoto gautas vienodas efektas, kaip ir inokuliacijos bei patręšus pradinio azoto norma; šaknų sausų medžiagų priėmimas sudarė vidutiniškai 15 %.

Augalų biomasė. Vertinant visos augalų biomasės pokyčius, nustatyta, kad šiaudais netręštoje dirvoje tik derinant inokuliaciją su nedidele azoto norma, efektyviai padidėjo dobilų biomasė. Vidutinės šiaudų normos ir didelės mineralinio azoto normos derinys dobilų biomasę padidino 12–16 %, palyginti su neinokuliuotais ir azotu netręštais augalais. Įterpti šiaudai (normos didelės) suaktyvino simbiozinio azoto fiksaciją, o dobilų inokuliacija ir mineralinis azotas prarado veiksmingumą. Matyt, įterpus daug šiaudų suaktyvėjo azoto imobilizavimo procesai dirvožemyje ir padidėjo spontaninių gumbelinių bakterijų efektyvumas (Wiater, 2002).

Augalo gumbeliai. Ankštinių augalų simbiozės formavimuisi didelį vaidmenį vaidina susidariusių gumbelių kiekis ir stambumas (Drevon, Moyses, 1990). Tyrimų duomenimis, netręšiant šiaudais, daugiausia gumbelių suformavo inokuliuoti augalai (2 lentelė). Mineralinio azoto dargi nedidelės normos slopinamai veikė inokuliuotus augalus ir teigiamai neinokuliuotus, t. y. dirvožemio spontanines gumbelines bakterijas.

1 lentelė. Inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto įtaka raudonųjų dobilų biomasei

Table 1. Impact of inoculation, straw mineralization and initial nitrogen on red clover biomass

Variantas Treatment	Augalų biomasė / Plant biomass			
	antžeminė dalis / above-ground part	šaknys / root	viso augalo biomasė / total plant biomass	sant. skaič. relative number
	masė g indo ⁻¹ mass g pot ⁻¹			
Be šiaudų Without straw				
N ₀ neinokuliuota / N ₀ noninoculated	17,02	5,17	22,19	100
N ₂₁ neinokuliuota / N ₂₁ noninoculated	17,50	5,27	22,77	103
N ₄₂ neinokuliuota / N ₄₂ noninoculated	15,85	4,58	20,43	92
N ₀ inokuliuota / N ₀ inoculated	18,05	5,60	23,65	106
N ₂₁ inokuliuota / N ₂₁ inoculated	19,56	5,40	24,96	112
N ₄₂ inokuliuota / N ₄₂ inoculated	18,37	5,00	23,37	105
Šiaudai 1,5 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 1.5 g kg⁻¹ soil				
N ₀ neinokuliuota / N ₀ noninoculated	17,72	5,01	23,73	100
N ₂₁ neinokuliuota / N ₂₁ noninoculated	20,11	4,97	25,08	106
N ₄₂ neinokuliuota / N ₄₂ noninoculated	20,87	5,78	26,65	112
N ₀ inokuliuota / N ₀ inoculated	20,48	5,40	25,88	109
N ₂₁ inokuliuota / N ₂₁ inoculated	21,92	5,26	27,18	114
N ₄₂ inokuliuota / N ₄₂ inoculated	20,63	5,70	26,33	
Šiaudai 3,0 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 3.0 g kg⁻¹ soil				
N ₀ neinokuliuota / N ₀ noninoculated	19,25	4,97	25,22	100
N ₂₁ neinokuliuota / N ₂₁ noninoculated	20,18	5,24	25,42	101
N ₄₂ neinokuliuota / N ₄₂ noninoculated	21,17	5,53	26,70	106
N ₀ inokuliuota / N ₀ inoculated	21,19	5,16	26,34	104
N ₂₁ inokuliuota / N ₂₁ inoculated	20,03	5,55	25,58	101
N ₄₂ inokuliuota / N ₄₂ inoculated	18,73	5,37	24,10	96
R ₀₅ / LSD ₀₅	1,65	0,49	1,72	

Panašios gumbelių formavimosi tendencijos buvo nustatytos ir šiaudais tręštuose fonuose. Tenka pažymėti, kad įterpti šiaudai neinokuliuojant ar netręšiant azotu neturėjo jokios įtakos gumbeliams. Tai pasako, kad gumbelių formavimąsi ankštiniuose augaluose kontroliuoja ne tik gumbelinės bakterijos, kurioms mineralinis azotas nereikalingas, dargi kenksmingas, bet ir augalas – šeimininkas, kuris teigiamai reaguoja į nedideles azoto trąšų normas (Vasiljeva, Kostov, 2001).

Azoto fiksacija. Azoto fiksaciją stimuliuo dobilų inokuliacija, šiaudų įterpimas, negausus tręšimas azoto trąšomis (pradinis azotas). Daugiausia atmosferos azoto (38 % daugiau už kontrolę) sukaupė inokuliuoti augalai, gausiai patręšti šiaudais – 3,0 g kg⁻¹ dirvožemio. Kiek mažiau fiksavo inokuliuoti dobilai, vidutiniškai tręšiant šiaudais be mineralinio azoto arba tręšiant pradiniu azotu. Į šiaudų mineralizaciją labai palankiai reagavo ir neinokuliuoti dobilai; gautas simbiozinio azoto priedas – 13 %. D. Zvyagintsevo tyrimų duomenimis, varpinių šiauduose esančius polimerus – celiuliozę, hemiceliuliozę ir ligniną pakankamai gerai skaido dirvožemio mikroorganizmai, paversdami šiuos junginius tirpiaisi monomerais, kuriuos gumbelinės bakterijos gali įsivartinti atmosferos azoto fiksacijai (Zvyagintsev, Gusev, Levin, 1986). Didelės mineralinio azoto normos slopino azoto fiksacijos procesus.

Daugiafaktorinės analizės duomenys rodo, kad simbiozinio azoto fiksacijai didžiausią poveikį darė raudonųjų dobilų inokuliacija (C veiksnys), tręšimas šiaudais (A veiksnys), šiaudų ir mineralinio azoto (A × B), šiaudų ir inokuliacijos (A × C) bei šiaudų, inokuliacijos ir mineralinio azoto (A × B × C) deriniai (3 lentelė).

Nitrogenazės fermento aktyvumas. Chromatografijos rezultatai rodo, kad aktyviausią nitrogenazę (16,7 μM N g⁻¹ šaknų per val.) turėjo inokuliuoti augalai. Nedaug, tačiau statistiškai patikimai fermentą prislopino nedidelė azoto trąšų norma (21 mg N kg⁻¹ dirvožemio). Veikiant didelei azoto normai (42 mg N kg⁻¹ dirvožemio), neinokuliuotų dobilų nitrogenazės aktyvumas buvo visiškai nuslopintas. Reikia manyti, kad padidėjus mineralinio azoto koncentracijai dirvožemyje, stipriai slopinama spontaninių gumbelinių bakterijų azoto fiksacija.

Įterpus vidutinę šiaudų normą, inokuliacija suaktyvino nitrogenazę nuo 41 iki 70 %, palyginti su neinokuliuotais augalais. Mineralizuojantis didelei šiaudų normai, aktyviausia nitrogenazė aptikta inokuliuotų dobilų gumbeliuose. Tačiau šiaudai kaip organinė trąša nesumažino didelės azoto normos neigiamo poveikio nitrogenazei.

Judrieji sacharidai. Priemonės, stimuliuojančios atmosferos azoto fiksaciją, buvo susijusios su sacharidų koncentracijos padidėjimu augalų antžeminėje dalyje (Zhiznevskaja,

2 lentelė. Inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto įtaka raudonųjų dobilų gumbelių susiformavimui, atmosferos azoto fiksacijai ir judriųjų sacharidų susikaupimui augalų antžeminėje dalyje

Table 2. Impact of inoculation, straw mineralization and starting nitrogen on nodule form, nitrogen fixation and mobile saccharides in above-ground part of plant

Variantas Treatment	Augalo gumbelių skaičius Number of nodules per plant	Fiksuota azoto mg N indo ⁻¹ Fixed nitrogen mg N pot ⁻¹	Simbiozinio azoto kiekis % Content of symbi- otic nitrogen %	Nitrogenazės aktyvu- mas μM N g ⁻¹ šaknų per val. Nitrogenase activity μM N g ⁻¹ root h ⁻¹	Judriųjų sacharidų kiekis antžeminėje dalyje mg indo ⁻¹ / Content of mobile sacharide in above-part of plant mg pot ⁻¹
Be šiaudų Without straw					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	45,0	411	79,5	9,08	406
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	56,8	405	78,6	10,07	615
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	42,0	368	77,1	7,78	467
N ₀ inokuliuota / Inoculated	62,0	496	82,4	16,73	605
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	50,4	531	82,8	14,88	601
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	51,8	455	80,8	8,92	604
Šiaudai 1,5 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 1.5 g kg⁻¹ soil					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	49,5	431	78,0	10,57	401
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	58,8	471	79,6	8,57	690
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	42,8	523	81,5	8,63	717
N ₀ inokuliuota / Inoculated	58,3	551	82,5	14,87	909
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	56,7	564	81,4	17,04	896
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	52,3	520	81,2	17,95	771
Šiaudai 3,0 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 3.0 g kg⁻¹ soil					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	47,1	465	79,8	6,85	578
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	59,0	454	77,3	11,87	653
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	46,9	513	78,0	5,46	713
N ₀ inokuliuota / Inoculated	78,0	568	82,9	10,95	754
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	59,0	480	78,3	9,36	677
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	59,1	421	75,6	8,19	689
R ₀₅ / HCP ₀₅	7,63	35,6	5,82	0,79	47,0

3 lentelė. Raudonųjų dobilų inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto poveikis atmosferos azoto fiksacijai (veiksnių analizė)

Table 3. Impact of red clover inoculation, straw mineralization and initial nitrogen on symbiotic nitrogen fixation (factorial test)

Veiksniai ir jų sąveika Factors and their interaction	Fiksuota azoto mg N indo ⁻¹ Fixed nitrogen mg N pot ⁻¹	Fišerio kriterijus F Fisher's criterion F
A (Šiaudai / Straw)	23,7	16,18**
B (N trąšos / N fertilisers)	23,7	2,90
C (Inokuliacija / Inoculation)	16,6	4,06*
A × B	36,4	5,32**
A × C	33,2	5,65**
B × C	33,2	1,71
A × B × C	59,7	4,75**

Troiskaja, Dubrovo et al., 1997). Tyrimų duomenimis, daugiausia judriųjų sacharidų (909 mg indo⁻¹) aptikta, derinant dobilų inokuliaciją su vidutine šiaudų norma. Tuo tarpu neinokuliuotų ir netręštų mineraliniu azotu augalų sacharidai sudarė 406 mg indo⁻¹. Gausiai įterpti šiaudai nepadėjo padidinti judriųjų sacharidų koncentracijos augaluose. Trūkstam cukrų, kaip dažnai pasitaiko ankštinių augalų antroje vegetacijos pusėje, gali pasibaigti ir simbiozinio azoto fiksacija (Starling, Wood, Weaver, 1998).

Dirvožemio agrocheminės savybės. Efektyvios simbiozės atveju pupiniai augalai pagerina divalentių druskų (Ca, Mg) tirpstantumą ir pakelia juos iš gilesnių dirvožemio sluoksnių į viršutinius (Zhiznevskaja, Troiskaja, Dubrovo et al., 1997).

Agrocheminių analizių viduriniai duomenys rodo, kad dobilų inokuliacija, tręšimas šiaudais, taip pat mineraliniu azotu teigiamai veikė kai kuriuos dirvožemio agrocheminius parametrus (4 lentelė). Inokuliuojant dobilus ir tręšiant

4 lentelė. Raudonųjų dobilų inokuliacijos, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto poveikis dirvožemio agrocheminėms savybėms

Table 4. Impact of red clover inoculation, straw mineralization and starting nitrogen on soil agrochemical properties

Variantas Treatment	pH _{KCl}	Dirvožemio bazineumas m. ekv. kg ⁻¹ dirvožemio Content of bases in soil m. eq. kg ⁻¹	Dirvožemio pasotinimo bazėmis laipsnis % Degree of basic saturation %	Judrusis P ₂ O ₅ mg kg ⁻¹ dirvožemio Mobile P ₂ O ₅ mg kg ⁻¹ soil	Judrusis K ₂ O mg kg ⁻¹ dirvožemio Mobile K ₂ O mg kg ⁻¹ soil
Be šiaudų Without straw					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	165,4	93,9	135	130
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	183,3	93,7	139	133
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	6,3	173,9	93,6	149	140
N ₀ inokuliuota / Inoculated	6,4	178,5	64,5	145	140
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	6,2	203,7	95,0	140	144
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	6,4	191,5	94,8	142	137
Šiaudai 1,5 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 1.5 g kg⁻¹ soil					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	157,0	93,3	143	126
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	6,3	145,3	92,6	134	131
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	6,3	152,3	92,5	128	137
N ₀ inokuliuota / Inoculated	6,4	170,6	94,0	139	135
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	6,3	176,8	93,6	143	132
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	6,3	158,9	92,9	140	131
Šiaudai 3,0 g kg⁻¹ dirvožemio Straw 3.0 g kg⁻¹ soil					
N ₀ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	195,3	94,8	126	132
N ₂₁ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	175,7	94,0	131	142
N ₄₂ neinokuliuota / Noninoculated	6,4	178,3	94,6	129	124
N ₀ inokuliuota / Inoculated	6,5	196,8	95,4	135	151
N ₂₁ inokuliuota / Inoculated	6,4	174,0	93,8	134	141
N ₄₂ inokuliuota / Inoculated	6,4	179,1	93,9	129	133
R ₀₅ / LSD ₀₅	0,48	13,0	7,0	10,3	10,8

pradiniu azotu, padidėjo dirvožemio sorbuotų bazių suma, padaugėjo judriųjų fosforo ir kalio junginių. Tačiau didelės šiaudų normos fone nenustatyta šių parametru, išskyrus judrų kalį, pagerėjimo.

Dirvožemio mikroorganizmų paplitimas. Dirvožemio pagrindinių fiziologinių grupių mikroorganizmų paplitimo duomenys pateikti 5 lentelėje. Joje matyti, kad daugiausia amonifikuojančių mikroorganizmų nustatyta inokuliuojant dovilus, bet neturėjant mineraliniu azotu. Patręšus pradiniu azotu, šių mikroorganizmų skaičius sumažėjo 10 %, gausiai azotu – sumažėjo 20 %. Nuo vidutinės šiaudų normos (1,5 g kg⁻¹ dirvožemio) staigiai padaugėjo amonifikuojančių mikroorganizmų nuo 5,62 iki 7,97 mln. KSV g⁻¹ dirvožemio.

Į mineralinį azotą kitaip reagavo azotą asimiliuojantys mikroorganizmai. Daugiausia jų aptikta dirvožemyje, kuriame nebuvo įterpta šiaudų, o dovilai neinokuliuoti, tačiau nedaug patręšti mineraliniu azotu (24 mg N kg⁻¹ dirvožemio). Tręšiant šiaudais ir inokuliuojant augalus, veiksmingiausia buvo didelė azoto norma (48 mg N kg⁻¹ dirvožemio).

Remiantis apskaičiuotu amonifikuojančių (M) ir mineralinį azotą asimiliuojančių (H) mikroorganizmų skaičių santykiu, galima spręsti apie dirvožemyje vyraujančius organinės medžiagos sintezės ar destrukcijos procesus. Didinant šiaudų

normą, nepaisant azoto trąšų panaudojimo ar inokuliacijos, santykis M/H palaipsniui didėjo nuo 1,20 iki 1,71. Tai rodo, kad šiaudai teigiamai veikia santykinį amonifikuojančių mikroorganizmų pagausėjimą, t. y. šiaudai stimuliuoja organinės medžiagos mineralizacijos procesus.

Mikromicetų paplitimą labiausiai skatino gausiai įterptų šiaudų ir dobilų inokuliacijos derinys. Vidutiniškai tręšiant organinėmis trąšomis, geriausių rezultatų gauta auginant neinokuliuotus dovilus; abiem atvejais susidarė palankiausias sąlygos mikromicetams plisti. Mineralinis azotas, kaip ir inokuliacija, teigiamai veikia grybų paplitimą dirvožemyje.

Celiuliozės skaidantys mikroorganizmai labiausiai dauginosi vidutiniškai įterpus šiaudų bei dovilus inokuliacijos ir mažai patręšus mineraliniu azotu. Keista, tačiau gausiai įterpus šiaudų iš esmės sumažėjo celiuliozės skaidančių mikroorganizmų. Žinoma, kad šie mikroorganizmai palyginti jautrūs dirvožemio rūgščiai reakcijai. Matyt, skaidantis dideliu šiaudų kiekiu, mineralizacijos eigoje susidarė rūgštūs metabolitai galėjo kiek prislopinti ir celiuliozės skaidančių mikroorganizmų dauginimąsi (Arlauskiene, 1997; Paul, Clark, 1989).

Simbiozės ir azoto fiksacijos ryšiai. Raudonųjų dobilų simbiozės parametrai turi didelę reikšmę atmosferos azoto fiksacijai (6 lentelė).

5 lentelė. Raudonųjų dobilų inokuliavimo, šiaudų mineralizacijos ir pradinio azoto poveikis dirvožemio mikroorganizmų paplitimui

Table 5. Impact of red clover inoculation, straw mineralization and initial nitrogen on the distribution of soil microorganisms

Variantas Treatment	Amonifikuojančių mikroorganizmų skaičius $\times 10^6$ KSV g^{-1} dirvožemio Content of ammonifying microorganisms $\times 10^6$ KSV g^{-1} soil	Mineralinį azotą asimiliuojančių mikroorganizmų skaičius $\times 10^6$ KSV g^{-1} dirvožemio Content of nitrogen as- similating microorganisms $\times 10^6$ KSV g^{-1} soil	Sporinių bakterijų skaičius $\times 10^3$ KSV g^{-1} dirvožemio Content of spore forming bacteria $\times 10^3$ cfu g^{-1} soil	Mikromicetų skaičius $\times 10^3$ KSV g^{-1} dirvožemio Content of micromycetes $\times 10^3$ cfu g^{-1} soil	Celiuliozę skaidančių mikroorganizmų skaičius KSV g^{-1} dirvožemio Content of cellulose decomposing microor- ganisms cfu g^{-1} soil
Be šiaudų Without straw					
N_0 neinokuliuota / Noninoculated	5,72 \pm 0,65	3,10 \pm 0,50	79,8 \pm 11,0	50,8 \pm 7,7	895 \pm 238
N_{21} neinokuliuota / Noninoculated	4,37 \pm 1,16	3,26 \pm 1,07	84,8 \pm 7,8	53,4 \pm 12,2	929 \pm 291
N_{42} neinokuliuota / Noninoculated	5,87 \pm 1,72	9,45 \pm 3,64	93,8 \pm 11,3	53,8 \pm 12,4	458 \pm 114
N_0 inokuliuota / Inoculated	6,56 \pm 2,42	4,51 \pm 0,95	97,1 \pm 10,8	66,0 \pm 6,1	647 \pm 138
N_{21} inokuliuota / Inoculated	5,91 \pm 0,96	3,05 \pm 0,47	69,5 \pm 12,9	50,8 \pm 8,5	530 \pm 247
N_{42} inokuliuota / Inoculated	5,28 \pm 1,38	4,75 \pm 0,75	84,5 \pm 9,6	57,7 \pm 7,1	468 \pm 111
Šiaudai 1,5 g kg^{-1} dirvožemio Straw 1.5 g kg^{-1} soil					
N_0 neinokuliuota / Noninoculated	7,30 \pm 1,82	4,66 \pm 0,64	79,8 \pm 8,1	52,8 \pm 9,7	805 \pm 316
N_{21} neinokuliuota / Noninoculated	13,00 \pm 5,56	5,22 \pm 0,66	108,7 \pm 11,0	58,3 \pm 3,6	607 \pm 137
N_{42} neinokuliuota / Noninoculated	5,87 \pm 0,64	3,38 \pm 0,80	113,2 \pm 14,0	58,5 \pm 3,4	600 \pm 163
N_0 inokuliuota / Inoculated	6,71 \pm 1,26	3,34 \pm 0,83	116,5 \pm 9,7	31,8 \pm 5,1	490 \pm 145
N_{21} inokuliuota / Inoculated	6,85 \pm 0,93	3,71 \pm 0,84	111,7 \pm 16,8	37,0 \pm 5,4	950 \pm 114
N_{42} inokuliuota / Inoculated	8,08 \pm 1,60	8,43 \pm 0,87	101,6 \pm 12,0	49,3 \pm 5,5	657 \pm 136
Šiaudai 3.0 g kg^{-1} dirvožemio Straw 3.0 g kg^{-1} soil					
N_0 neinokuliuota / Noninoculated	7,48 \pm 0,94	4,66 \pm 0,62	99,3 \pm 15,3	51,7 \pm 5,7	674 \pm 104
N_{21} neinokuliuota / Noninoculated	6,92 \pm 1,65	3,74 \pm 0,75	152,3 \pm 10,2	56,6 \pm 3,8	655 \pm 138
N_{42} neinokuliuota / Noninoculated	6,62 \pm 0,75	5,44 \pm 0,65	153,6 \pm 20,0	53,9 \pm 5,6	584 \pm 204
N_0 inokuliuota / Inoculated	7,76 \pm 1,94	4,79 \pm 0,51	72,5 \pm 13,2	63,7 \pm 7,8	773 \pm 178
N_{21} inokuliuota / Inoculated	8,70 \pm 1,24	4,10 \pm 0,91	78,2 \pm 7,2	62,1 \pm 7,8	583 \pm 282
N_{42} inokuliuota / Inoculated	7,96 \pm 2,30	3,78 \pm 0,76	106,1 \pm 11,2	67,3 \pm 5,4	479 \pm 122
R_{05} / LSD_{05}	1,94	1,13	12,2	7,3	189

6 lentelė. Simbiozės parametrai (x) ir azoto fiksacijos (y) ryšys

Table 6. Relation between symbiosis parameters (x) and nitrogen fixation (y)

Simbiozės parametrai Parameters of symbiosis	Regresijos lygtys Equation of regression	Koreliacijos koeficientas R Correlation coefficient R	Fišerio kriterijus t Fisher's criterion t
Antžeminė dalis Overground part of plant	$y = -65,932 + 27,917x$	0,829	35,09**
Šaknys / Root	$y = -67,927 + 102,872x$	0,556	7,17*
Augalo biomasė / Plant biomass	$y = 624,08 - 43,488x + 1,517x^2$	0,856	41,02**
Augalo gumbelių skaičius Number of nodules per plant	$y = 337,04 - 1,0062x$	0,463	4,37
Nitrogenazės aktyvumas / Nitrogenase activity	$y = 387,67 + 8,019x$	0,535	6,42*
Judrieji sacharidai / Mobile saccharides	$y = 309,29 - 1,0006x$	0,763	22,3**
Judriųjų sacharidų ir suminio azoto santykis Ratio of mobile saccharides and total nitrogen in plant	$y = 304,96 + 140,7x - 10,535x^2$	0,403	2,91

Remiantis koreliacijos ir regresijos analize nustatytas augalų antžeminės dalies masės, viso augalo biomasės ir judriųjų sacharidų bei azoto fiksacijos aktyvumo stiprus ryšys. Nustatytas kiek silpnesnis, tačiau statistiškai patikimas dobilų šaknų masės, gumbelių nitrogenazės ir azoto fiksacijos ryšys. Tačiau augalo gumbelių skaičius ne visada parodo esminį ryšį su atmosferos azoto kaupimu. Paprastai,

esant efektyviai simbiozei, gumbelių augale gali būti ir mažiau, nei esant mažiau veiksmingai simbiozei. Tačiau efektyvios simbiozės gumbeliai dažniausiai būna stambesni, rausvi ir paprastai dauguma jų paplitę ant pagrindinės šaknies (Hamdi, 1982; Plesyavitchene, Lyankshayte, Arlausken et al., 1994).

IŠVADOS

1. Nepasotintame giliau glėžiškame lengvo priemolio balkšvažemyje augalų inokuliacija, derinamas su didele šiaudų ($3,0 \text{ g kg}^{-1}$ dirvožemio) ir pradinio azoto norma (21 mg N kg^{-1} dirvožemio), labiausiai didino visą raudonųjų dobilų biomasę; biomasės priedas sudarė 12 %. Vidutiniškai tręšiant šiaudais ($1,5 \text{ g kg}^{-1}$ dirvožemio), inokuliacijos ir mineralinio azoto veiksmingumas buvo vienodas. Tuo tarpu įterpus daug šiaudų tiksliai inokuliacija arba didelė mineralinio azoto norma (42 mg N kg^{-1} dirvožemio) buvo veiksminga dobilams.

2. Pradinio azoto norma stimuliuo tik neinokuliuotų dobilų gumbelių susiformavimą. Įterpti šiaudai neinokuliuojant arba netręšiant mineraliniu azotu nepaveikė gumbelių susiformavimo.

3. Daugiausia atmosferos azoto fiksavo dobilai (38 % daugiau, nei kontroliniai augalai), derinant inokuliaciją su didele šiaudų norma. Šiuo atveju nustatytas ir didžiausias fermento nitrogenazės aktyvumas.

4. Vidutinės šiaudų normos ($1,5 \text{ g kg}^{-1}$ dirvožemio) ir dobilų inokuliacijos derinys labiausiai skatino judriųjų sacharidų pagausėjimą augalų antžeminėje dalyje. Dėl didesnių šiaudų normų nepadidėjo sacharidų koncentracija augaluose.

5. Inokuliacijos ir įterpus vidutiniškai šiaudų ar patręšus pradinio azotu, pagerėjo kai kurie dirvožemio agrocheminiai parametrai: padidėjo sorbuotų bazių suma, pagausėjo judriųjų fosforo ir kalio junginių.

6. Inokuliacijos ir šiaudų įterpimo derinys stimuliuo amonifikuojančių mikroorganizmų paplitimą dirvožemyje, o azoto trąšos palankiai veikė azotą asimiliuojančių mikroorganizmų vystymąsi. Didinant šiaudų normą, didėjo amonifikuojančių ir azotą asimiliuojančių mikroorganizmų santykis nuo 1,20 iki 1,71, t. y. įterpti šiaudai skatino dirvožemio organinės medžiagos mineralizacijos procesus. Be to, didelės azoto normos stimuliuo ir mikromicetų paplitimą dirvožemyje. Tai skatina dirvožemyje neigiamus procesus, susijusius su daugelio augalų grybinių ligų paplitimu.

7. Nustatyti raudonųjų dobilų fiziologinių parametrų ir atmosferos azoto fiksacijos aktyvumo dėsniniai.

Gauta 2010 06 14
Priimta 2010 10 25

Literatūra

1. Arlauskienė E. Effect of organic and mineral fertilizing systems on the biological activity and formation of microbial coenoses in the soils differing in genesis. *Ecological Effects of Microorganism Action*. Vilnius, 1997. P. 174–182.
2. Drevon J. J., Moise A. Comparison of the energetic costs of nitrate reduction and symbiotic dinitrogen fixation by legumes. *Academy of Agriculture France*. 1990. Vol. 76. N 4. P. 89–96.

3. Hamdi Y. A. Application of nitrogen – fixing systems in soil improvement and management. *FAO Soils Bulletin*. Rome, 1982. N 49. 188 p.
4. Hopper W., Mahadevan A. Degradation of catheine by *Bradyrhizobium japonicum*. *Biodegradation*. 1997. Vol. 8. Iss. 3. P. 159–165.
5. Yashima H., Fujikake H., Sato T. Systematic and local effects of long – term application of nitrate on nodule growth and N_2 fixation in soybean (*Glycine max* L., Merr.). *Soil Science and Plant Nutrition*. 2003. Vol. 49. Iss. 6. P. 825–834.
6. Killham K., Foster R. *Soil Ecology*. Cambridge, 1992. 229 p.
7. Lapinskas E. *Azoto pokyčiai dirvožemyje ir jo reikšmė augalams*. Akademijs, Kėdainių r., 2008. 320 p.
8. Paul E. A., Clark F. E. *Soil Microbiology and Biochemistry*. San Diego, New York, Toronto, 1989. 273 p.
9. Starling M. E., Wood W. C., Weaver D. B. Starter nitrogen and growth habit effects on late – planted soybean. *Agronomy Journal*. 1998. Vol. 90. N 5. P. 658–662.
10. Vasiljeva V., Kostov O. Effect of mineral and organic nitrogen on nodulation and production of lucerne (*Medicago sativa* L.) under imposed drought conditions. *Grassland Science in Europe*. 2001. Vol. 6. P. 23 – 26.
11. Wiater J. Content and uptake of the macroelements by oats and chickling vetch under conditions of various reaction of light soil fertilized with the wastes. *Advances of Agricultural Sciences Problem Issues*. Warsaw, 2002. Iss. 482. P. 535–544.
12. Zhiznevskaja G. Y., Troiskaja G. N., Dubrovo P. N., Kosenko L. V. Nitrogen-deficiency stress in *Vicia faba* L. resulting from ineffective symbiosis. *Russian Journal of Plant Physiology*. 1997. Vol. 44. Iss. 5. P. 585–591.
13. Zohdy L. I., Abd El-Aziz R. A. Effect on symbiotic nitrogen fixation under broad bean plants. *Egyptian Journal of Microbiology*. 1983. Vol. 18. N 1–2. P. 41–46.
14. Ambrazaitienė D. Zavisimost simbiotinės azotnėkoplėnėyos ot udobrenėyos fosforom i kalėm. *Žemdirbystė*. Nauchnyye trudy LIZ i LSKhU. Akademijs, 2003. Vol. 3. N 83. P. 173–186.
15. Bepalova T. F., Kudryavceva I. N. Vliyanėyė azotnykh udobrenėy i nitragina na urozhay i pitatelnyy cennost zelyonoy massy zernobobovnykh kultur. *Polevoye kormoproduktstvo*. Gorkiy, 1985. P. 62–65.
16. Lapinskas E. B. Znachenėyė inokulėyacėy bobovykh rastėnyy *Rhizobium* shtammami na simbiotėcheskuy azotfiksacėy i agrokėmėcheskėy svoistva pochvy. *Zemdirbystė-Agriculture*. Nauchnyye trudy LIZ i LSKhU. Akademijs, 2006. Vol. 93. N 2. P. 3–24.
17. Lisichkina G. A., Kozhevina P. A. Vliyanėyė vnesenėy solomy na dinamiku chislennosti *Rhizobium japonicum* v rizosfere, rizoplane soi i v pochve. *Mikrobiologėyė*. 1984. Vol. 53. N 2. P. 345–347.
18. Plesyavichienė A., Lyankshaitė U., Arlauskienė E. et al. Podbor sistem udobrenėy dlya izvestkovannykh pochv. *Sistemy udobrenėy i plodородėyė pochv*. Vilnyus, 1994. P. 260–270.
19. Tarakanovas P., Raudonius S. *Statistėcheskėy analiz dannykh agronomėcheskėkh issledovanyy pri ispolzovanėy*

kompyuternykh programm ANOVA, STAT, SPLIT, PLOT iz paketa "Selekciya i Irristat". Akademiya, 2003. 56 p.

20. Zvyagincev D. G., Gusev V. S., Levin S. I. *Izmeneniya v komplekse pochvennykh mikroorganizmov pri antropogennykh vozdeystviyakh. Uspekhi pochvovedeniya. Moskva, 1986. P. 64–68.*

Edmundas Lapinskas, Loreta Piaulokaitė-Motuzienė

THE EFFICIENCY OF RED CLOVER INOCULATION, STRAW MINERALIZATION AND NITROGEN FERTILISER ON SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION

S u m m a r y

It was established that in the limed Dystric-Endohypogleyic Albe-luvisol (Abg-n-w-dy) (pH_{KCl} 6.1–6.8) without organic fertilizer, a combination of seed inoculation and fertilizing with starter nitrogen (21 mg N kg^{-1} soil) exerted the greatest positive effect on red clover biomass; DM increase amounted to 12%. On the moderate straw rate (1.5 g kg^{-1} soil), inoculation and nitrogen fertilization, irrespective of nitrogen rate, exerted a similar effect. When fertilizing with a high straw rate (3.0 g kg^{-1} soil), only inoculation or a

moderate nitrogen fertilizer rate (42 mg N kg^{-1}) were effective for clover.

The highest content of biological nitrogen was fixed by clover (38% more than control plants) and activated nitrogen fixing enzyme – nitrogenase – by 41–60% upon fertilization with a combination of inoculation and a high straw rate.

The combination of straw rate 1.5 g kg^{-1} soil and inoculation exerted the greatest stimulating effect on mobile saccharide accumulation in the overground plant part. The content of sugars increased from 406 mg pot^{-1} (in the control) to 909 mg pot^{-1} . Increasing of straw rate above 1.5 g kg^{-1} soil did not help additionally accumulate mobile saccharides.

With increasing straw rate the ratio of soil ammonifying microorganisms to those feeding on mineral nitrogen increased from 1.20 to 1.71, i. e. straw incorporation promoted organic matter mineralization processes. The highest occurrence of fungi was indentified in treatments without straw application but with the application of nitrogen fertilizer or a high rate of straw combined with inoculation.

Key words: *Rhizobium*, inoculation, straw mineralization, starting nitrogen, nitrogen fixation, red clover, soil microorganisms