

Biologinis azotas

Azoto svarba augalų mitybai yra neginčijama. Atmosferoje esančio azoto augalai pasisavinti negali, tačiau tai padaryti geba seniausi planetos gyventojai – mikroorganizmai. Mūsų klimato juostoje daugiausia atmosferos azoto fiksuoja *Rhizobium* bakterijos ir *Frankia* genties aktinobakterijos.

Azotas yra inertiškos dujos, kurios sudaro tris ketvirtadalius Žemės atmosferos. Šis cheminis elementas yra vienas svarbiausių gyvosios gamtos, taip pat ir augalų, maisto elementų, reikalingų sintetinant būtiniausias gyvų organizmų medžiagas: baltymus, aminorūgštis, chlorofilą, RNR ir DNR ir daug kitų junginių.

Azotas, kaip ir anglis bei deguonis, yra makroelementas: organizmams jo reikia palyginti daug. Augalai gali pasisavinti nitratus, jonus ir amonio katijonus, tačiau molekulinis azotas, pagrindinė atmosferos sudedamoji dalis, augalams neprieinamas. Gilėjant ekologiškai krizei ir didėjant agrotechnikos priemonių biologizacijos poreikiui, biologinio azoto ekologinė ir agronominė reikšmė tampa vis svarbesnė.

Ore esančio azoto panaudoti cheminiams junginiams augalai ir gyvūnai negali, tačiau gali mikroorganizmai. Apskaičiuota, kad kasmet jie fiksuoja apie 100–175 mln. t atmosferos azoto. Mikroorganizmų fiksuotas atmosferos azotas vadinamas biologiniu azotu.

Energetiškai brangus procesas

Augalų mityba azotu turėjo didelę įtaką žemės ūkio produktyvumui per visą jo raidos istoriją. Azoto poreikis žemės ūkyje buvo tenkinamas naudojant mėšlą, kompostą, auginant pupinius augalus, o XIX a. ir XX a. pradžioje – pradėjus naudoti Čilės salietrą (natrio nitrata, susidariusį sauso klimato sąlygomis, veikiant mikroorganizmams iš jūros paukščių liekanų ir mėšlo).

Atradus azotą (1772 m.) ir įrodžius jo reikšmę augalų mitybai, jau nuo XIX a. mokslininkai ieškojo efektyvaus azoto trąšų gamybos būdo. Dėl stiprių cheminių ryšių azoto molekulėje šios dujos normaliomis aplinkos sąlygomis cheminėse reakcijose nedalyvauja. Tačiau aukštoje

temperatūroje ir esant slėgiui atomų ryšiai susilpnėja, azotas tampa aktyvus. Tuo remiantis buvo atrasta amoniako sintezė iš atmosferinio azoto ir vandenilio, azoto trąšos pradėtos gaminti pramoniniu būdu.

Naudojant Haberio-Bošo procesą, kasmet pagaminama apie 100 mln. t amoniako kasmet, didžioji jo dalis panaudojama azoto trąšų gamybai, iš kurių daugiau negu pusė atitenka grūdiniams augalams. Amoniako gamybai reikalinga elektros energija ir – kaip vandenilio šaltinis – gamtinės dujos. Tai žaliavų ir energijos sunaudojimo atžvilgiu brangus procesas, kuriam kiekvienais metais tenka iki 2 proc. pasaulinių energinių sąnaudų.

Nežiūrint daugelio azoto trąšų privalumų (efektyvumas, transportabilumas, tirpumas), jos turi ir nemažai trūkumų. Tik 30–60 proc. mineralinio azoto panaudojama augalų mitybai. Mineraliniai azoto junginiai dirvožemyje judrūs, dalis išsiplauka arba denitrifikuoja ir išgaruoja į atmosferą.

Dideliais kiekiais naudojamos mineralinės azoto trąšos sukelia azoto apykaitos ciklo pakitimus dirvožemyje, užteršia gruntinius vandenis, didina nitroksido (N_2O) kiekį atmosferoje (dar labiau didinantį šiltnamio efektą negu CO_2), sukelia augalų baltymų ir hormonų pokyčius, mažina membranų pralaidumą ir asimiliatų judėjimo greitį. Nuo azoto pertekliaus augaluose susikaupę nitratai yra kenksmingi gyvulių ir žmonių sveika-

tai. Mineralinis azotas, ypač NO_3 ir NO_2 junginiai, stimuliuoja auglių vystymąsi, sukelia medžiagų apykaitos, judėjimo aparato, nervų, genetinius susirgimus.

Atmosferinė ir biologinė atmosferos azoto fiksacija

Šiuolaikinėmis žemdirbystės sąlygomis panaudoti biologinį azotą, siekiant palaikyti dirvožemio tvarumą, išvengti mechaninės ar cheminės erozijos, organinių medžiagų atsargų mažėjimo, darosi ypač svarbu. Visose žemdirbystės sistemose, taip pat ir ekologinėje, biologinio azoto naudojimas neribojamas jokiais ES reglamentais. 1992 m. Jungtinės Tautos priėmė Konvenciją dėl biologinės diversijos, kuria numatyta didinti biologinių ir mažinti cheminių ž. ū. priemonių naudojimą.

Nedidelį kiekį azoto ekosistemoms tiekia žaibai, dėl didelio energijos išlydžio suskaldantys jungtis tarp azoto atomų ir tada atmosferos azotas reaguoja su atmosferos deguonimi. Taip susidaro azoto oksidai, azoto rūgštis, nitratai. Panašiai azoto junginiai susidaro veikiami kosminių spindulių ir meteoritų. Tai atmosferinė N_2 fiksacija. Kažkiek azoto junginių susidaro vidinio degimo varikliuose, taip pat dėl ugnikalnių veiklos. Apskaičiuota, kad taip kasmet pasaulio ekosistemos azoto gauna apie 400 g ha⁻¹.

Manoma, kad mikroorganizmų gebėjimas pasisavinti molekulinį atmosferos azotą išsivystė maždaug prieš 2,5 mln.

Vienas didžiausių XX a. atradimų

Du norvegų mokslininkai Kristianas Birkelandas ir Samas Eidas (Eydes) 1903 m. pirmieji susintetino azoto trąšas („norvegų salietrą“) ir jau 1905 m. buvo įkurta kompanija „Norsk Hydro“, Rjukano fiorde prie krioklio pastačius tuo metu didžiausią pasaulyje hidroelektrinę, tiekusią elektros energiją azoto trąšų gamyklai. Vos po kelerių metų, 1909 m., chemikas Fritzas Haberis ir inžinierius Karlas Bošas (Carl Bosch), dosniai remiami vokiečių koncerno BASF, pristatė kitą, dar efektyvesnę azoto trąšų gamybos būdą ir 1913 m. Vokietijos mieste Oppau buvo atidaryta pramoninių azoto trąšų gamykla „Stickstoffwerke“. Haberio-Bošo (Haber-Bosch) procesas, kaip efektyvesnis, greitai išstūmė norvegų sukurtą ir yra naudojamas iki šių dienų. Haberio-Bošo procesas priskiriamas prie didžiausių XX a. atradimų, be kurio pasaulio ekonomika, ypač žemės ūkis, nebūtų toks, koks yra šiandien.



Atmosferos N₂ fiksuojančios melsvabakterės (*Cyanobacteria*) – pirmosios Žemėje bakterijos, pradėjusios vykdyti fotosintezę ir produkuoti O₂ bei fiksuoti atmosferos N₂. Paplitusios nuo tropikų iki Arkties, jos pirmos įsikuria vietovėse, nukentėjusiose po gamtinių kataklizmų, atominių sprogimų

Karas dėl salietros

Žemėje natūraliai randama ir nuo seno įvairiems tikslams naudojama kalio (KNO₃), kalcio (Ca(NO₃)₂) ir natrio salietra (NaNO₃), dar vadinama Čilės salietra. Nuo XIX a. pabaigos iki XX a. pradžios Atakamos dykumoje kasama natrio salietra, kaip azoto trąša, buvo eksportuojama į daugelį pasaulio šalių. Čilės salietros ir kitų mineralų turinti dykuma iš pradžių priklausė trims valstybėms: Čilei, Bolivijai ir Peru, tačiau būtent Čilė, padedama Didžiosios Britanijos, kontroliavo mineralų gavybą. Bolivijai nesilaikant susitarimo ir pakėlus vienai iš šių bendrovių eksporto mokesčius, kilo pretekstas ketverių metų (1879–1883 m.) trukusiam ir ne vieną tūkstantį gyvybių nusinešusiam karui. Jį laimėjusi Čilė aneksavo didžiąją turtingą naudingųjų iškasenų teritorijų dalį, pasisavindama pora Peru regionų ir palikdama Boliviją be priėjimo prie jūros. Natrio salietra tuo laiku sudarė nuo 60 iki 80 proc. viso Čilės eksporto, pajamos iš salietros – nuo 40 iki 60 proc. visų pajamų. Tai buvo Čilės aukso amžius, kuris baigėsi prasidėjus Pirmajam pasauliniam karui. Didžioji Britanija uždraudė parduoti priešininkei Vokietijai Čilės salietrą ir taip paskatino vokiečius ieškoti alternatyvos.

metų, kai išseko atmosferos amoniako atsargos ir azotas tapo pagrindiniu biologinę produkciją ribojančiu veiksniu. Taip atsirado biologinė fikscija, kuriai vykstant molekulinis azotas jungiamas su vandeniliu ir susidaro amoniakas.

Žemėje nėra ekosistemų, kurios neturėtų savų azoto fikساتorių. Taip ekosistemose esančios azoto atsargos kasmet pasipildo maždaug 10 kg ha⁻¹. Nors azotą fiksuojančių organizmų, palyginti su kitais, nėra daug, natūralioms, brandžioms ekosistemoms jų tiekiamo azoto pakanka, nes dalis azoto grįžta su organinėmis augalų, gyvūnų, mikroorganizmų liekanomis.

Melsvabakterės – seniausi atmosferos N₂ fikساتoriai

Atmosferos azotą fiksuoja fermentą nitrogenazę turintys mikroorganizmai. Pirmieji, vieni seniausių iš jų, yra melsvabakterės (*Cyanobacteria*) (anksčiau buvo priskirtos mikrodumbliams) – azotas sudaro net iki 10 proc. jų sauso svorio. Melsvabakterės būna labai įvairios, gali augti aerobinėmis ir anaerobinėmis sąlygomis, vandenyje ir sausumoje, gali būti simbiotinės ir laisvai gyvenančios. Koralinuose rifuose melsvabakterės gali fiksuoti iki 500 kg ha⁻¹ azoto. Jos išskiria daugiau negu trečdali visą fotosintezę vykdančių Žemės organizmų deguonies ir yra „kaltos“ dėl dabartinės atmosferos susidarymo.

Kartais dirvožemis pažaliuoja – „žydi“. Tai dirvožemio dumblių, tarp jų ir melsvabakterių, suvešėjimas. Anksčiau žemdirbiai sakydavo, jei dirva „pražysta“, bus derlingi

metai. Melsvabakteres, kaip ir kitus fotosintezę vykdančius organizmus, agroekosistemose sunaikina naudojami plataus veikimo herbicidai, tokie kaip glifosatai.

Gumbelinės bakterijos

Geriausiai ištirta ir didžiausią reikšmę žemdirbystėje mūsų klimato juostoje turi *Rhizobium* bakterijų ir pupinių augalų simbiozė. Gumbelinės (endofitinės) bakterijos yra specifiniai ir palyginti specializuoti mikroorganizmai, galintys sudaryti gumbelius tik vienos ar kelių rūšių (kartais veislių) pupiniuose augaluose. *Rhizobium*, palyginti su melsvabakterėmis, yra „jau nos“, jų simbiozė su pupiniais atsirado prieš 40–45 mln. metų.

Gumbelinių bakterijų fiksuoto azoto kiekis sudaro 70–100 proc. augalams šeiminkams reikalingo azoto. Iki 2/3 šių bakterijų pasisavinto azoto, kaip aminorūgšties ir baltymai, susikaupia augalų derliuje, likusi dalis kartu su šaknimis mineralizuojasi dirvožemyje.

Gumbelinės bakterijos skirstomos į keturias gentis:

- *Rhizobium* (žirniai, vikiai, pupos, pupelės, dobilai, lubinai, seradėlės, ožiarūčiai),
- *Sinorhizobium* (liucernos, barkūnai, ožragės),
- *Mesorhizobium* (gargždeniai, perlučiai, avinžirniai, kulkšnės),
- *Bradyrhizobium* (sojos, žemės riešutai).

Gumbelinės bakterijos geba ne tik fiksuoti azotą iš atmosferos, bet ir sintetinti

augalų augimą stimuliuojančias medžiagas (B grupės vitaminus, β – indolilacto rūgštį, giberaliną), padidina sunkiai tirpstančių maisto medžiagų tirpumą, išskiria fungicidines ir baktericidines medžiagas. Augalas šeiminkas gali atiduoti iki 30 proc. fotosintezės produktų azoto fikscijai. 1 g azoto fikscijai sunaudojama 6–8 g augalo šeiminko gliukozės anglies.

Gumbelinės bakterijos produktyvios gerai ajeruojamuose dirvožemiuose, tačiau gali kvėpuoti ir anaerobinėmis sąlygomis, naudojamos dirvožemio nitratų ir nitritų deguonį. Pupiniams pradėjus formuotis ankštis, gumbeliai suyra ir bakterijos gali keletą metų gyventi dirvožemyje kaip saprotrofai, kol vėl atsiranda tinkamas augalas šeiminkas.

Rhizobium bakterijos fiksuoja atmosferos azotą ne tik sudarydamos simbiozę su pupiniais augalais, bet ir nepupinių, miglinių javų, rapsų rizoplaneje (pašaknėje) kaip asociatyvus azotą fiksuojantys mikroorganizmai. Todėl nitragino preparatai pastaruju metu naudojami ne tik pupinių augalų sėkloms inokuluoti.

Be gerai žinomų diazotrofų, pupinių gumbelinių simbiotinių (endofitinių) bakterijų ir tokių genčių kaip *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Gluconoacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella* ir *Serratia*



Ant derlinguose dirvožemiuose augančių žirnių (*Pisum sativum*) šaknų vidutiniškai galima rasti 10 skirtingų gumbelinių bakterijų kamienų. Žirnių šaknis dažniausiai kolonizuoja *Rhizobium leguminosarum* – žirnių bakterijos, tačiau taip pat sėkmingai gali kolonizuoti ir *R. trifolii* – dobilų bakterijos. Taip pat dažnai aptinkami ir pupelių, *R. phaseoli* bakterijų gumbeliai, tačiau pastarieji, nors ir sugeba patekti į žirnių šaknies audinius, būna ne tokie gyvybingi, neturi leghemoglobino būdingos rausvos spalvos ir N₂ nefiksuoja



Simbiontinių aktinobakterijų (*Frankia alni*) gumbeliai ant juodalksnio (*Alnus glutinosa*) šaknų

bakterijos yra priskiriamos prie vienu iš perspektyviausių ž. ū. endofitinių bakterijų, fiksuojančių atmosferos N_2 .

Be endofitinių (augalo audiniuose gyvenančių) atmosferos azotą fiksuojančių bakterijų, dirvožemyje, augalų šaknų zonoje, gyvena nesudarančios ant šaknų gumbelių *Azospirillum* (azospirilės) genties bakterijos (*Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraefrens*, *A. irakense*) ir laisvai dirvožemyje gyvenančios bakterijos (*Azotobacter*, *Clostridium*), kurioms augalų šaknų kaimynystė nėra tokia svarbi, kaip anksčiau išvardytoms.

Pastaraisiais metais atkreiptas dėmesys į varpinių augalų azoto fikzaciją. Nors šie augalai gumbelių neformuoja, tačiau jų šaknų paviršiuje gali įsikurti asociatyvūs, tokie kaip *Azospirillum*, azotą fiksuojantieji mikroorganizmai. Asociatyvių azotą fiksuojančių mikroorganizmų veiklą lemia neankštinių augalų foto-

sintezės intensyvumas. Juo intensyvesnė fotoasimiliacija, tuo daugiau augalas per šaknų sistemą į dirvožemį išskiria tirpių anglies junginių ir tuo labiau suaktyvinama asociatyvių mikroorganizmų azoto fikscija.

Azotogenas-nitraginas-rizogenas

Dar XIX a. pradžioje, iki gumbelinių bakterijų atradimo, Vokietijos, Austrijos, Švedijos, Danijos žemdirbiai, norėdami pagerinti auginamų ankštinių augalų derlių, naujus plotus barstė nedideliu kiekiu dirvožemio iš buvusio pupinių lauko. Pirmieji pramoniniai nitragino preparatai 1906–1907 m. pagaminti Vokietijoje ir Anglijoje, tačiau plačiau jie išplito tik 1925 m., paskelbus apibendrintus mokslinius inokuliuotų pupinių augalų derliaus rezultatus.

Dvidešimto amžiaus pradžioje ir Lietuvos ūkininkai pradėjo importuoti skystą nitraginą (vadinamą azotogenu)

iš Vokietijos. Nuo 1927 m. simbiontinių gumbelinių bakterijų ir nitragino tyrimai pradėti ir Lietuvoje. Nuo tada šioje srityje dirbo daug mokslininkų, tarp jų vienas iškiliausių, daugiau negu 50 metų šios srities tyrimams skyręs profesorius Edmundas Lapinskas. Nitragino preparatus ūkininkams tiekia Lietuvos agrarinių ir miškų mokslo centro Žemdirbystės institutas ir bendrovė „Ekoakademija“.

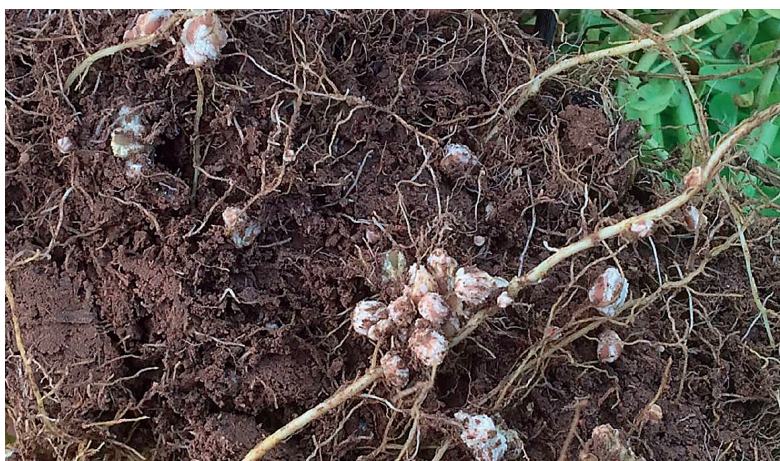
Pastaruoju metu mokslininkai siūlo naudoti polikamieninius gumbelinių bakterijų preparatus su bakteriniais ar



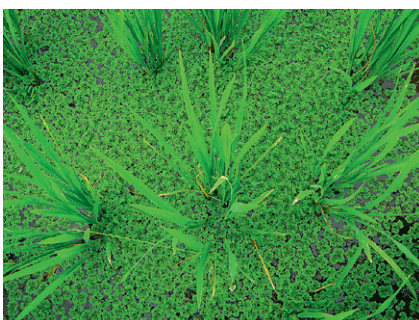
Gauruotosios sojos (*Glycine max*) simbiontinės gumbelinės bakterijos *Bradyrhizobium japonicum* nėra savaiminė rūšis ir šalies dirvožemiuose mažai paplitusios



Gyvybingi ir produktyvūs gumbeliai yra rausvi, šia spalva juos nudažo leghemoglobinas, kurio cheminė sudėtis labai panaši į kraujo hemoglobiną. Negyvybingi, N_2 nefiksuojantys gumbeliai gali būti balti, gelsvi, žalsvi, tačiau neturi leghemoglobino būdingos rausvos spalvos



Lengvų dirvožemių augalo – sėjamosios seradėlės (*Ornithopus sativus*) – rizobakterijų (*Rhizobium*) gumbeliai ant šaknų



Azolė (*Azolla*) arba vandens papartis sudaro simbiozę su melsvabaktere (*Anabaena azollae*), fiksuojančia atmosferos N_2 , nuo senų laikų naudojama Azijoje kaip žalioji trąša ryžių laukuose, taip pat kaip turintis daug baltymų gyvulių ir naminių paukščių pašaras

grybiniais biokontrolės preparatais ir mikorizininiais grybais.

Nustatyta, kad *Glomus* genties arbuskulinės mikorizės grybai augalą šeimininką, taip pat ir jo gumbelines bakterijas, aprūpina sunkiai tirpia fosforo junginiais. Mikoriziniai grybai ypač veiksmingi mažai fosforo turinčiuose dirvožemiuose, jie didina gumbelinių bakterijų nitrogenazės aktyvumą ir augalų produktyvumą. Tačiau šis trišalis sinergizmas nėra veiksmingas gausiai fosforu tręšiamuose dirvožemiuose, kurių mikoriziniai grybai vengia.

Pupiniams augalams daug veiksmingesni gumbelinių bakterijų ir azotobakterijų (*Azotobacter*) inokuliantų mišiniai negu inokuliavimas grynomis gumbelinėmis bakterijomis. Teigiamas efektas nustatytas pupinius augalus inokuliuojant gumbelinėmis bakterijomis bei azospirilių (*Azospirillum*) ir melsvabakterių (*Cyanobacteria*) deriniais. Tai pat teigiamą įtaką gumbelinių bakterijų šaknų kolonizavimui turi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium polymyxa*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Micrococcus citreus*, *Sarcina flava* bakterijos.

Nustatyta, kad augalai ir gyvūnai neturi azotą fiksuojančio fermento nitrogenazės, todėl negali fiksuoti atmosferos azoto. Tačiau ne tik kai kurie augalai, bet ir gyvūnai suformuoja abipusiai naudingus ryšius su nitrogenazės turinčiais mikroorganizmais. Kai kurių celiulioze mintančių termitų rūšių žarnyne gyvena nitrogenazės turintys mikroorganizmai, kurie padeda termitų organizmo maisto medžiagose palaikyti reikalingą C ir N santykį.

Tiriant palyginti daug mėšos vartojančių europiečių žarnyno mikroflorą, nitrogenazės nerasta. Tačiau 1970 m. Naujosios Gvinėjos vienos iš čiabuvių genčių žarnyno mikrofloroje buvo rasta ir nitrogenazė. Ši nedidelė gentis maitinasi išimtinai tik augaliniu maistu.

Medžių ir krūmų aktinorizė

Ne tik simbiotinės pupinių šeimos bakterijos, bet ir *Frankia* genties aktinobakterijos (anksčiau – aktinomycetai) sudaro simbiozę, vadinamąją aktinorizę, su augalais. Tačiau skirtingai negu *Rhizobium* bakterijų ir pupinių atveju, aktinorizė nebūdinga tik vienai augalų šeimai. Šiuo metu žemėje žinoma apie 20 augalų genčių, priklausančių 8 skirtingoms šeimoms, sudarančių aktinorizę.

Aktinorizė išimtinai būdinga tik medžiams ir krūmams. Šiuo metu žinomas tik vienas žolinis augalas (*Datisca glomerata*), sudarantis aktinorizę. Dažnai aktinorizę sudarančios rūšys priklauso augalams pionieriams – pirmiems įsikuriantiems skurdžiuose, druskinguose ar eroduotuose dirvožemiuose, karjeruose, žvyrynuose, kur kitos rūšys dėl maisto

medžiagų stygiaus negalėtų augti. Aktinorizę sudaro pas mus augantys tokie augalai: alksniai, šunobelės, šaltalankiai, sotvarai ir dekoratyvinių, atvežtinių pas mus genčių augalai: šeferdijos, povingės, driados, kazuarinos. Aktinorizė yra svarbi miškininkystėje, agromiškininkystėje ir dirvožemių rekultivacijoje.

Frankia aktinobakterijos atmosferos N₂, nors ir ne taip efektyviai, gali fiksuoti ir gyvendamos dirvožemyje asociatyviai, kaip saprotrofai, t. y. ne simbiozėje su augalo šeimininko šaknimis. Fiksuojamu atmosferos azoto kiekiu dirvožemyje *Frankia* genties aktinobakterijos nenusileidžia *Rhizobium* bakterijoms ir mūsų klimato juostoje šios abi grupės yra didžiausią atmosferos azoto kiekį fiksuojantys mikroorganizmai.

Dr. Nijolė MARŠALKIENĖ, ASU