

Vertikalna opskrbljenost tla dušikom i njegovo podrijeklo nakon višgodišnje primjene mineralnih dušičnih gnojiva

Fiolić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:414701>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



VERTIKALNA OPSKRBLJENOST TLA DUŠIKOM I NJEGOVO PODRIJETLO NAKON VIŠEGODIŠNJE PRIMJENE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA

DIPLOMSKI RAD

Marija Fiolić

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Agroekologija

VERTIKALNA OPSKRBLJENOST TLA DUŠIKOM I NJEGOVO PODRIJETLO NAKON VIŠEGODIŠNJE PRIMJENE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA

DIPLOMSKI RAD

Marija Fiolić

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Aleksandra Perčin

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Marija Fiočić**, JMBAG 0178109383, rođen/a 05.06.1997. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

VERTIKALNA OPSKRBLJENOST TLA DUŠIKOM I NJEGOVO PODRIJETLO NAKON VIŠEGODIŠNJE PRIMJENE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Marije Fiočić**, JMBAG 0178109383, naslova

VERTIKALNA OPSKRBLJENOST TLA DUŠIKOM I NJEGOVO PODRIJETLO NAKON VIŠEGODIŠNJE PRIMJENE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Izv.prof.dr.sc. Aleksandra Perčin, mentor

2. Izv.prof.dr.sc. Aleksandra Bensa, član

3. Doc.dr.sc. Tomislav Karažija, član

Zahvala

Ovime zahvaljujem mentorici izv.prof.dr.sc. Aleksandri Perčin na pruženoj pomoći te uloženom trudu i vremenu pri pisanju ovog diplomskog rada.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Cilj istraživanja	2
2. Pregled literature	3
2.1. Ukupni dušik u tlu i mineralna gnojidba	3
2.2. Izotopi dušika u kopnenim ekosustavima	4
2.3. Primjena izotopne analize u poljoprivredi	6
2.4. Izotopi dušika u mineralnim gnojivima	7
2.5. Izotopi u ciklusu dušika.....	8
3. Materijali i metode	11
3.1. Metodologija istraživanja – tlo i gnojiva.....	11
3.2. Laboratorijsko istraživanje	13
3.3. Statistička analiza.....	14
4. Rezultati i rasprava.....	15
4.1. Vertikalna opskrbljenost tla ukupnim dušikom s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe.....	15
4.2. Podrijetlo dušika u tlu s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe i dubinu tla.....	17
4.3. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima	19
5. Zaključak.....	21
6. Popis literature.....	22
ŽIVOTOPIS	27

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Marija Fiolić**, naslova

VERTIKALNA OPSKRBLJENOST TLA DUŠIKOM I NJEGOVO PODRIJETLO NAKON VIŠEGODIŠNJE PRIMJENE MINERALNIH DUŠIČNIH GNOJIVA

Dušik je jedan od glavnih elemenata koji ima vitalnu važnost u biološkom životu na Zemlji, a u prirodi se nalazi kao smjesa dvaju stabilnih izotopa ^{14}N i ^{15}N . Izotopi dušika primjenjuju se u brojnim istraživanjima, a omjeri ovih izotopa u biljkama i tlu koriste se pri proučavanju teško mjerljivih procesa unutar samog procesa kruženja dušika.

U ovom radu, ciljevi su bili utvrditi vertikalnu opskrbljenost tla ukupnim dušikom do 80 cm dubine nakon višegodišnje primjene mineralnih dušičnih gnojiva te utvrditi varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u tlu s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe i dubinu tla. Također, utvrdila se i $\delta^{15}\text{N}$ vrijednost izotopa u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima. Istraživanje se baziralo na analizi 12 uzoraka tla i 9 komercijalnih mineralnih dušičnih gnojiva (urea, dvije različite granulacije KAN-a i šest formulacija NPK gnojiva). Uzorci tla prikupljeni su sa stacionarnog poljskog pokusa 2018. godine smještenog na lokalitetu Potok nakon 22 godine primjene rastućih doza navedenih dušičnih mineralnih gnojiva (0, 100, 200 i 300 kg N/ha) sa tri različite dubine (0-30, 30-50 i 50-80 cm). Metodom suhog spaljivanja određen je sadržaj ukupnog dušika u arhiviranim uzorcima tla u tri ponavljanja, a EA-IRMS metodom su određene vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u tlu i gnojivima.

Rezultati ukazuju na značajan utjecaj gnojidbenih tretmana i dubine na varijabilnost ukupnog dušika u tlu (0,031 % - 0,151 %) odnosno tlo je bilo siromašno do dobro opskrbljeno ovim hranivom. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa ovisno o rastućim dozama dušične gnojidbe i dubinama profila tla ukazuje na organsko podrijetlo dušika u tlu unatoč višegodišnjoj primjeni mineralnih dušičnih gnojiva (+5,1 ‰ do +7,7 ‰). Raspon $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima iznosio je od -0,96 ‰ u piliranom KAN-u +3,26 ‰ u NPK 7-20-30.

Ključne riječi: tlo, dušik, izotopi, urea, NPK gnojiva

Summary

Of the master's thesis – student **Marija Fiolić**, entitled

VERTICAL SOIL SUPPLY OF NITROGEN AND ITS ORIGIN AFTER LONG TERM APPLICATION OF MINERAL NITROGEN FERTILIZERS

Nitrogen is one of the main elements that have a vital importance in the biological life on the earth and in nature nitrogen is found in the form of two stable isotopes ^{14}N and ^{15}N . These isotopes are used in numerous studies, and the ratios of these isotopes in plants and soil are used in the study of difficult-to-measure processes within the nitrogen cycle process.

Main objectives of these thesis were to determine the vertical supply of soil with total nitrogen up to 80 cm deep after long term application of mineral nitrogen fertilizers and to determine the variability of $\delta^{15}\text{N}$ isotope in the soil with concerning the increase of mineral nitrogen fertilizer doses and soil depth. Also, the $\delta^{15}\text{N}$ isotope value in the applied mineral nitrogen fertilizers was determined. Research was based on 12 soil samples and 9 commercial mineral nitrogen fertilizers (urea, two different LAN granulations, urea and six NPK fertilizer formulations). Soil samples were collected from a stationary field experiment in 2018 located at the Potok site after 22 years of application of increasing mineral nitrogen fertilizer doses (0, 100, 200 and 300 kg N/ha) on three different depths (0-30, 30-50 and 50-80 cm). Total nitrogen in archived soil samples was determined by dry combustion method in three replicates, while the values of $\delta^{15}\text{N}$ isotopes in soil and fertilizers were determined by the EA-IRMS method.

The results indicate a significant impact of fertilization treatments and depth on the variability of total nitrogen in the soil (0.031% - 0.151%), the soil was poor to well supplied with this nutrient. The variability of the $\delta^{15}\text{N}$ isotope in soil (+5.1 ‰ to +7.7 ‰) indicates the organic origin of nitrogen in the soil despite the long term of application of mineral nitrogen fertilizers. The range of $\delta^{15}\text{N}$ values in the applied mineral nitrogen fertilizers was from -0.96 ‰ in piled LAN up to +3.26 ‰ in NPK 7-20-30.

Keywords: soil, nitrogen, isotopes, urea, NPK fertilizers

1. Uvod

Dušik je jedan od glavnih elemenata koji ima vitalnu važnost u biološkom životu na Zemlji, a nalazi se u litosferi, atmosferi, hidrosferi i biosferi. Najveće količine prirodnog dušika utvrđene se u litosferi, a vrijednosti variraju ovisno o pojedinim autorima. Prema Stevensonu (1965) 98 % globalnog dušika sadržano je u litosferi, dok je prema Burns i Hardyju (1975) to 87,8 %. Takav dušik nalazi se u primarnim ili magmatskim stijinama Zemljine kore u obliku željezovih i titanijevih nitrata, ostalih spojeva metala s dušikom te kao NH_4^+ ioni u rešetkastoj strukturi primarnih silikatnih minerala, a samo 0,2 % globalnog dušika nalazi se u sedimentnim stijinama. Iako litosfera predstavlja glavninu zaliha prirodnog dušika u biosferi, stijene vrlo malo doprinose samom ciklusu kruženja dušika. Atmosfera, koja sadrži 78,1 % molekularnog dušika, predstavlja samo 1,9 % ukupne mase dušika na Zemlji te se on većinski nalazi u plinovitoj formi molekularnog N_2 . Mala količina dušika nalazi se i u hidrosferi u obliku otopljenog N_2 u oceanima. Koncentracije amonijaka u zraku iznad mora značajno su niže od onih u zraku iznad kopna te se povećavaju približavajući se kopnu što upućuje na to da je amonijak u oceanskom zraku zapravo kontinentalnog podrijetla. Uz nabrojano, i pedosfera predstavlja važan izvor dušika na Zemlji (Sheng-xiu i sur. 2014).

Tlo je prirodni medij važan za život i rast biljne vegetacije, kultiviranih biljaka i aktivnih populacija različitih mikroorganizama i drugih organizama koji imaju važan utjecaj na fizikalne i kemijske karakteristike tla. Dušik je esencijalno hranivo za rast usjeva, a njegov nedostatak u tlu uzrokuje ograničenja u uzgoju bilja. U tlu se dušik nalazi u različitim oblicima, anorganskim i organskim. Amonijski (NH_4^+) i nitratni (NO_3^-) dušik predstavljaju glavne anorganske ili mineralne forme dušika dostupne biljkama za direktno usvajanje. Amonijski i nitratni dušik zajedno čine mali dio, obično predstavljaju privremeni rezervoar dušika u smislu ukupne zalihe dušika u bilo kojem ekosustavu. Zajedno čine manje od 2 % ukupnih zaliha dušika u tlu, odnosno manje od 1 % dušika na kopnu. Organski dušik nalazi se u organskoj tvari tla. Takav dušik u tlu uglavnom dolazi od proteina, a svi proteini u tlu pomoću proteolitičkih enzima mogu biti prevedeni u nitratni ili amonijski oblik dušika koji je tada direktno dostupan biljkama (Sheng-xiu i sur. 2014, Nitzsche 2017).

Zbog konstantnog porasta svjetske populacije te sve manje dostupnosti obradivih površina, gnojidba dušikom ima veliku ulogu u osiguravanju hrane za svjetsku populaciju. Sve veća primjena dušičnih anorganskih i organskih gnojiva zajedno s dušikom iz otpadnih voda predstavlja veliki problem u održavanju kvalitete podzemnih i površinskih voda u svijetu (Kruk i Mayer 2015). Također, ljudske aktivnosti poput spaljivanja velikih količina mineralnih ulja i ugljena kao i razvoj stočarstva doveli su do povećanog emitiranja dušičnih oksida i amonijaka u atmosferu pri čemu se onečišćuje zrak i doprinosi globalnom zatopljenju (Sheng-xiu i sur. 2014).

Dušik koji se nalazi u prirodi smjesa je dva stabilna izotopa, ^{14}N i ^{15}N . Izotop ^{14}N u prirodi je zastupljen s 99,64 % dok je izotop ^{15}N zastupljen s 0,36 % (Ryabenko 2013). Omjeri ovih izotopa u biljkama i tlu koriste se pri proučavanju teško mjerljivih procesa unutar samog procesa kruženja dušika kako bi se utvrdilo njegovo podrijetlo. Omjere spomenutih izotopa

moгуće je pratiti kroz dulje vremensko razdoblje u tlu, nego što ih je moguće pratiti u biljkama (Craine i sur. 2015). Uz navedeno, izotopi dušika koriste se pri istraživanju okoliša, dijageneze sedimenata, različitih paleontoloških i arheoloških studija te u procesima praćenja stvaranja i evolucije tla. Također, postoje i studije o njihovoj primjeni u proučavanju kemije svemira te visokotemperaturne geokemije koja podrazumijeva okoliš Zemljinog plašta i kore (Cartigny i Busigny 2018).

1.1. Cilj istraživanja

Ciljevi ovog diplomskog rada su:

- 1) Utvrditi vertikalnu opskrbljenost tla ukupnim dušikom do 80 cm dubine nakon višegodišnje primjene mineralnih dušičnih gnojiva.
- 2) Utvrditi varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u tlu (podrijetlo dušika) s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe i dubinu tla.
- 3) Utvrditi varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa (izotopni potpis) u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima.

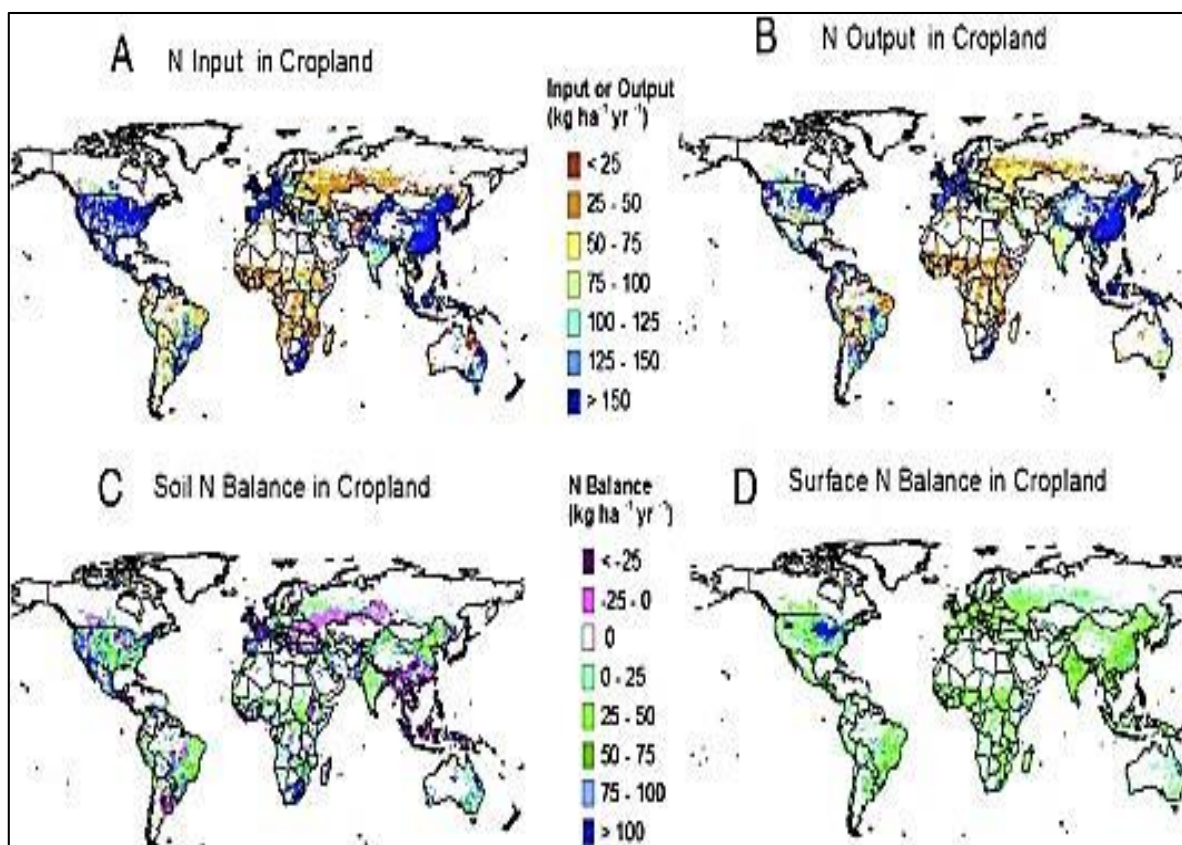
2. Pregled literature

2.1. Ukupni dušik u tlu i mineralna gnojidba

Promatranje i utvrđivanje bilance dušika u agroekosustavima pruža kvantitativni uvid u načine na koje dušik ulazi i izlazi iz tla te na njegovo zadržavanje u tlu. Također na taj se način utvrđuje održivost i produktivnost same poljoprivredne proizvodnje kao i kakvoća tla i okoliša. Dušik se unosi u tlo mineralnim i organskim gnojivima, također dospijeva u tlo putem mokrih i suhih atmosferskih depozicija, putem vode za navodnjavanje te biološkom fiksacijom dušika. Načini na koje se dušik gubi iz tla uključuju: uklanjanje biomase usjeva s poljoprivrednih površina, denitrifikaciju, volatizaciju, površinsko otjecanje, eroziju te starenje biljaka (Sainju 2017).

Promatrano iz perspektive provedenih poljskih istraživanja uvažavajući u obzir sve ulaze i izlaze dušika iz agroekosustava, promjene u sadržaju ukupnog dušika u tlu na početku i kraju istraživanja ukazuju da li je promatrano tlo izvor dušika ili se on iz njega gubi s obzirom na procese njegove imobilizacije i mineralizacije. Dubina uzorkovanja tla za potrebe utvrđivanja njegovog sekvestracijskog potencijala ovisi o pokusnim tretmanima, tipu tla, klimatskim uvjetima, načinu korištenja tla i trajanju samog istraživanja. U poljoprivrednim sustavima sa izostavljenom obradom sekvestracija dušika se odvija u plitkom površinskom dijelu, dok u konvencionalnim sustavima obrade tla u kojima se primjenjuje inkorporacija biljne biomase u tlo dolazi do povećanja sadržaja dušika u dubljim slojevima tla (Sainju 2017).

Dušična gnojidba nezamjenjiva je agrotehnička mjera u suvremenoj poljoprivrednoj proizvodnji s ciljem postizanja visokih prinosa. Dušično gnojivo jedini je izvor dušika koji se primjenjuje u velikim količinama za povećanje prinosa i kvalitete usjeva. Količine primijenjene dušične gnojidbe ovise o vrstama usjeva, zahtjevima usjevima za dušikom, značajkama tla i klimatskim uvjetima. Također, primijenjena količina dušičnog gnojiva različita je i za iste usjeve jer je uvjetovana i sortama i hibridima pojedinih usjeva, ali i zbog sadržaja zaostalog dušika u tlu do 60 cm dubine u vrijeme sjetve te dušičnog mineralizacijskog potencijala tla tijekom vegetacije (Meisinger i Randall 1991; Sainju i sur. 2017). Uzgoj usjeva jedan je od glavnih razloga ljudskog utjecaja na promjene globalnog ciklusa dušika. Liu i sur. (2010) izračunali su da ukupni unos dušik godišnje iznosi 136,60 Tg od čega se gotovo polovica odnosi na mineralnu dušičnu gnojidbu. Ukupno godišnje iznošenje (izlaz) dušika iz tla iznosi 148,14 Tg od se čega 55 % odnosi na žetvu usjeva i žetvene ostatke. Slika 1 na globalnoj razini prikazuje količine dospjelog dušika u tlo, količine njegovog gubitka iz tla te bilance dušika u obradivim površinama.



Slika 1. Karta globalnog ulaza (A), izlaza (B), ravnoteže dušika u tlu (C) i na površini tla (D)

Izvor: Liu i sur. (2010)

2.2. Izotopi dušika u kopnenim ekosustavima

Prirodni izotopni potpis dušika u kopnenim ekosustavima uvjetovan je složenošću ciklusa dušika, njegovim brojnim transformacijama, ali i stupnjevima izotopnog frakcioniranja (Craine i sur. 2015). **Udio stabilnih izotopa dušika ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) određuje se spektrometrijom masa (engl. Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS), a njihov se sastav izražava kao delta (δ) ^{15}N u promilima (‰).** Poznavanje različitih klimatskih i bioloških utjecaja na ciklus kruženja dušika u kopnenim ekosustavima važno je za razumijevanje globalnih obrazaca u ključnim procesima pojedinih ekosustava. Također, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ u biljkama i tlu koristi se kao neizravni pokazatelj ciklusa dušika u okolišu (Hoering 1955). Hoering (1955) je prvi izvijestio o izotopnom sastavu ($\delta^{15}\text{N}$) pojedinih biljnih vrsta. U zobi je $\delta^{15}\text{N}$ iznosio +6,2 ‰, u bijeloj djetelini -6,5 ‰, a u hrastu +0,9 ‰. Također, navodi i vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ nekih komponenata životinjskog podrijetla, primjerice za kokošja jaja +5,8 ‰ i mlijeko + 5,1 ‰.

Kada je riječ o **izotopnom dušiku u tlu neki od čimbenika kojima je uvjetovan su: srednja godišnja temperatura zraka, godišnja količina oborine te sadržaj gline i organskog ugljika u tlu** (Craine i sur. 2015). Böhlke i sur. (1993) u svojim su istraživanjima izvijestili o izrazitim variranjima vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$, od -20 ‰ do +30 ‰ u većini kopnenih materijala te od -49 ‰ do +102 ‰ u prirodnim materijalima kopnenih ekosustava. Tablica 1 prikazuje variranje $\delta^{15}\text{N}$ u

tlima ovisno o različitim načina gospodarenja tlom. Vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ kreću se od $-0,3\text{ ‰}$ ušumskim tlima Njemačke do $+9,48\text{ ‰}$ u obradivim tlima u Australiji (Nitzsche 2017; Jones i Dalal 2017). Također, s povećanjem dubine profila tla uočava se povećanje $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti.

Tablica 1. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u tlima s obzirom na njegovo korištenje

Tlo s obzirom na korištenje	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Literaturni izvor
Oranica	$+3,7\pm 0,3$	Nitzsche (2017)
Travnjak	$+2,9\pm 0,6$	
Šuma	$-0,3\pm 1,7$	
Prirodno tlo 0-10 cm	$+5,7$	Cadisch i sur. (2000)
Prirodno tlo 10-20 cm	$+7,0$	
Prirodno tlo 20-30 cm	$+9,2$	
Prirodno tlo 0-60 cm	$+4,86 / +8,48$	Jones i Dalal (2017)
Oranica 0-60 cm	$+6,96 / +9,48$	

Na količinu $\delta^{15}\text{N}$ u kopnenim ekosustavima utječe i hranidba životinja, a kada se govori o izotopnom otisku dušika u samom tlu, veliku ulogu imaju gnojidba i stočarstvo kao poljoprivredna aktivnost. Barros i sur. (2017) bavili su se praćenjem izotopa ^{15}N u hranidbi mliječnih krava pasmine Holstein tako što su pratili količinu izotopa u mlijeku, urinu i fekalijama krava. Osim navedenih aktivnosti i materijala, i zrak kao jedna od glavnih sastavnica kopnenih ekosustava ima svoj izotopni potpis. Različiti plinovi u atmosferi sadrže dušik (NH_4 , N_2O , HNO_3 , NO_x) pa tako imaju i svoj izotopni otisak preko kojeg im je moguće odrediti njegovo podrijetlo (Cartigny i Busigny 2018).

Na količinu $\delta^{15}\text{N}$ u biljkama u prirodi utječu vrsta i stupanj mikorize, oblik dušičnog spoja koji je biljka usvojila te različite karakteristike tla koje je ponekad teško razlikovati jednu od druge (Klaus i sur. 2013). Promatrajući folijarni $\delta^{15}\text{N}$, uočene razlike ovise o brojnim čimbenicima i izvorima dušika, bilo da potječe iz geoloških izvora, simbiotske fiksacije ili mikorizne simbioze. Također, utvrđivanjem izotopnog dušika moguće je pratiti i izgubljeni dušik iz biljke odnosno iz ekosustava. U tablici 2 prikazane su vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ u određenim biljnim vrstama i variraju od $-5,7\text{ ‰}$ u granama crnogorica do $+13,9\text{ ‰}$ u lucerni (Gurmesa i sur. 2017; Unkovich i sur. 2008). Mogućnost praćenja izotopa ^{15}N u okolišu dovela je do boljeg razumijevanja kruženja dušika između tla i biljaka (Nitzsche 2017).

Tablica 2. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u biljnom materijalu

Biljni materijal	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Literaturni izvor
Ječam – lišće	-3,8±0,3	Nitzsche (2017)
Uljana repica – lišće	-1,4±0,3	
Kukuruz – lišće	-2,7±0,3	
Bukva	-5,4±0,4	
Maslačak	-2,7±0,3	
Sjeno lucerne	+1,2	Inácio i sur. (2017)
Ostatci od prerade šećerne trske	+4,4	
Ostatci od prerade uljane repice	+5,3	
Ostatci od prerade palminih sjemenki	5,4	
Slanutak	+2,8	Unkovich i sur. (2008)
Soja	+1,7	
Lucerna	+13,9	
Leća	+2,0	Peoples i sur. (2002)
Listopadna šuma – lišće	-4,0 / -3,4	Gurmesa i sur. (2017)
Listopadna šuma – grane	-4,6 / -4,1	
Listopadna šuma – kora	-2,8 / -2,4	
Listopadna šuma – korijen	-2,8 / -1,7	
Crnogorična šuma – lišće	-5,4 / -3,5	
Crnogorična šuma – grane	-5,7 / -4,1	
Crnogorična šuma – kora	-4,0 / -2,6	
Crnogorična šuma – korijen	-5,1 / -3,6	
Rajčica – Konvencionalni uzgoj	-0,1	Bateman i sur. (2007)
Rajčica – Ekološki uzgoj	+8,1	
Salata – Konvencionalni uzgoj	+2,9	
Salata – Ekološki uzgoj	+7,6	
Mrkva – Konvencionalni uzgoj	+4,1	
Mrkva – Ekološki uzgoj	+5,7	
Durum pšenica – Italija	-0,1 / +10,6	Bontempo i sur. (2016)
Durum pšenica - Njemačka	0,0 / +5,0	
Paprika – list	+4,7	Flores i sur. (2007)
Paprika – plod	+1,2	

2.3. Primjena izotopne analize u poljoprivredi

Primjena stabilnih dušikovih izotopa (^{15}N i ^{14}N) je raznolika i mnogobrojna, no još uvijek se prirodno bogatstvo dušikovih izotopa puno manje koristi u različitim istraživanjima fiziologije i ekologije biljaka u odnosu na neke druge izotope, primjerice izotope ugljika (^{13}C i ^{12}C). Neki od razloga tome su i analitički problemi, manja frakcijska zastupljenost ^{15}N izotopa u odnosu na ^{13}C izotop u biosferi, ciklus dušika složeniji je od ciklusa ugljika te općenito smanjena sposobnost razlikovanja u prirodi.

Jedna od najčešće korištenih metoda vezanih uz dušikove izotope u poljoprivredi jest praćenje izvora dušika kojeg biljka usvaja, a također je moguće odrediti i podrijetlo dušika koji se gubi u okolišu. Li i sur. (1982) su preko praćenja izotopa ^{15}N ustanovili da je ozima pšenica usvojila 75 % do 79 % dušika iz tla te samo 21 % do 26 % dušika iz primijenjenih mineralnih

gnojiva. Omjeri stabilnih izotopa pa tako i izotopa dušika koriste se za dokazivanje autentičnosti prehrambenih proizvoda u pogledu zemljopisnog podrijetla. Rummel i sur. (2010) odredili su zemljopisno podrijetlo uzoraka soka naranče pomoću omjera stabilnih izotopa $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{34}\text{S}$ i $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Nadalje, Kelly i sur. (2018), došli su do zaključka kako je odnos izotopa dušika $\delta^{15}\text{N}$ ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) u izoliranim proteinima meda odraz stanja tla područja u kojem su pčele skupljale nektar. Također, ovom metodom dokazuje se i botaničko podrijetlo meda jer pojedine biljke poput bagrema i djeteline fiksiraju dušik iz zraka. Uz navedeno, izotopi dušika koriste se za određivanje izvora nitrata u podzemnim i površinskim vodama. Praćenjem tragova $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{18}\text{N}$ u vodi moguće je otkriti potencijalno miješanje podzemne vode s različitim izvorima nitrata (Trček i Zojer, 2010).

2.4. Izotopi dušika u mineralnim gnojivima

Mineralna gnojiva sadrže biljna hraniva u lako dostupnim oblicima za biljke te se zbog toga prekomjerni unos i akumulacija odvija u korijenovom sustavu, lišću i drugim biljnim organima (Rembalkowska 2016). Nakon značajnog smanjenja primjene gnojiva u EU tijekom 1990-ih i 2000-ih, povezanog s reformama Zajedničke poljoprivredne politike, ukupna se primjena gnojiva stabilizirala u posljednjem desetljeću (EU Agricultural Markets Briefs 2019). Prema podacima FAOSTAT-a (2013) u 2011. godini Republika Hrvatska se nalazila na 41. mjestu po ukupnoj proizvodnji i 76. mjestu po potrošnji mineralnih gnojiva na svijetu. Suvremena proizvodnja dušičnih mineralnih gnojiva u Hrvatskoj započela je početkom eksploatacije prirodnoga plina na poljima Moslavine i zapadne Slavonije. Tvornica mineralnih gnojiva Petrokemija proizvodi dušična (N), dušično-sumporna (NS), dušično-fosforna (NP) i dušično-fosforno-kalijeva (NPK) mineralna gnojiva (Hrvatska tehnička enciklopedija 2018).

Podaci o vrijednostima izotopa pojedinih kemijskih elementa u gnojivima koriste se za utvrđivanje podrijetla primarnih sastojaka i sirovina koje se primjenjuju u njihovoj proizvodnji. Također su korisni su i za usporedbu izotopnog potpisa gnojiva s prirodnim vrijednostima i drugim antropogenim onečišćivačima te za procjenu onečišćenosti samih gnojiva. Većina studija o $\delta^{15}\text{N}$ usmjerena je na determinaciju izvora onečišćenja nitratima kao i detaljnijim istraživanjima stanja okoliša (Vitòria i sur. 2004). **Izotopni potpis dušičnih gnojiva uvjetovan je podrijetlom samog gnojiva. $\delta^{15}\text{N}$ organskog dušika u tlu kreće se u rasponu od +4 ‰ do +9 ‰ (Heaton, 1986), a različitih formulacija mineralnih dušičnih gnojiva od -1,7 ‰ do +3,9 ‰ (Vitòria i sur., 2004). Vitòria i sur. (2004) navode da se $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u 27 komercijalnih mineralnih dušičnih gnojiva u Španjolskoj kreću u rasponu od -1,7 ‰ (NPK 15-15-15) do +3,9 ‰ u $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Smatra se da je takav potpis mineralnih gnojiva uvjetovan njihovom proizvodnjom i Haber-Boschovim postupkom koji uključuje fiksaciju atmosferskog N, pa gnojiva poput uree, NH_4NO_3 i KNO_3 , odražavaju njihov atmosferski izvor (Kendall i Aravena, 2000). Dodatno je iz tablice 3, vidljivo da se u pojedina mineralnim gnojivima izotopni potpis dušika može zabilježiti i do 5,7 ‰ (Chalk 2018).**

Tablica 3. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u mineralnim gnojivima

Vrsta gnojiva	Raspon $\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Literaturni izvor
NH_4NO_3	-0,7	
NH_4NO_3	+2,5	Vitòria i sur. (2004)
Urea	-1,1	
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	+3,9	
Mineralno gnojivo	+2,45±0,23	Rapisarda i sur. (2010)
Mineralno gnojivo	-0,5	Kruk i Mayer (2015)
Mineralno gnojivo	-3,9 / +5,7	Chalk (2018)
KNO_3	+1,23	Flores i sur. (2007)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	-1,72	

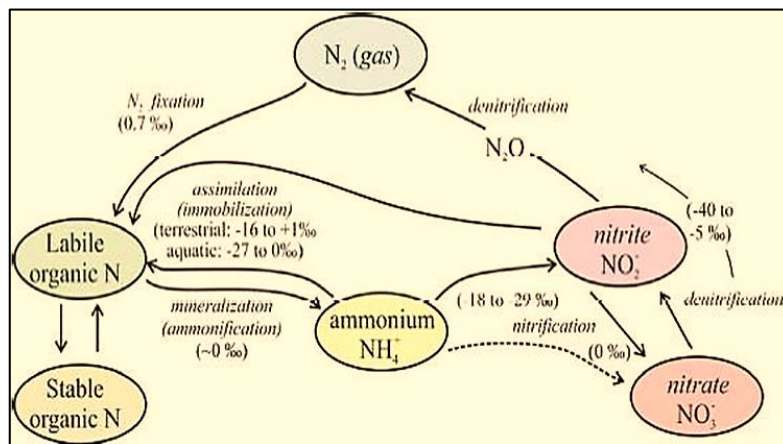
2.5. Izotopi u ciklusu dušika

Dušik je najmobilniji element u okolišu te je zbog svojih specifičnih kemijskih svojstava vrlo podložan procesima transformacije odnosno prelasku iz jednog oblika u drugi. Dušik neprestano kruži između atmosfere, tla i živih organizama (Galloway i sur. 1995). Kruženje dušika u prirodi možemo podijeliti na nekoliko odvojenih procesa koji su međusobno povezani u ciklus. Osnova ciklusa kruženja dušika u prirodi je njegov prijelaz iz anorganskih spojeva u organske spojeve i obratno. U istraživanju ciklusa dušika najčešće se koristi metoda praćenja izotopa ^{15}N . Ova metoda omogućuje praćenje pretvorbe jednog oblika dušika u drugi, odnosno praćenje pojedinačnih pretvorbi dušičnih oblika, kao i simultanih pretvorbi u ciklusu dušika (Sharp, 2017).

Robinson (2001) navodi kako postoji više načina primjene metode koja uključuje izotop ^{15}N . Taj je izotop prisutan u prirodi i s obzirom na to, koristi se pri proučavanju kruženja dušika u ekosustavima travnjaka tijekom godine, zatim kruženja dušika u porječjima te pri praćenju biljnog usvajanja organskog dušika. Postoji i metoda obogaćivanja s izotopom ^{15}N koja se primjenjuje kod procjene fiksacije N_2 u ekološki jednostavnijim sustavima, pri praćenju prodora onečišćivača u hranidbeni lanac te praćenju vegetacijskog usvajanja NH_3 .

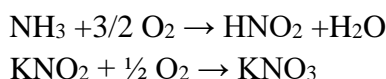
Ciklus dušika sastoji se od više procesa: fiksacija N_2 , nitrifikacija, denitrifikacija, mineralizacija i amonifikacija (slika 2). Veliki broj biljnih vrsta ne može usvojiti atmosferski dušik, nego usvajaju dušik iz tla u obliku NH_4^+ i NO_3^- iona. One biljne vrste koje mogu usvojiti atmosferski dušik imaju sposobnost fiksacije N_2 (Sharp 2017). Dušik egzistira u više oksidacijskih stanja, od -3 (NH_4^+) do +5 (NO_3^-) (Hanrahan i Chan, 2005), a najveća količina dušika u prirodi prisutna je u atmosferskom obliku čiji je oksidacijski broj nula (Howarth 2009). Dušik u tlu uglavnom je prisutan u organskom obliku te procesom mineralizacije prelazi u anorganske oblike neophodne za ishranu bilja. U mineralizaciji sudjeluju heterotrofne bakterije koje provode razgradnju organske tvari. Nakon mineralizacije organskog dušika, slijedi amonifikacija. Dušik se u tkivima i izlučevinama živih organizama nalazi u organskom obliku, poput aminokiselina i DNK. U procesu amonifikacije sudjeluju različiti mikroorganizmi, gljive i bakterije, koji razgrađuju navedena tkiva i otpuštaju anorganski dušik natrag u ekosustav u obliku amonijaka koji postaje dostupan biljkama za rast i razvoj (Bernhard 2010).

Frakcioniranje povezano s razlaganjem organske tvari do amonijevih iona u tlu je malo te iznosi $\delta = 0 \pm 1$ ‰. Nitrifikacija je oksidacija amonijaka u NO_3^- pod djelovanjem nitrificirajućih organizama (primjerice kemotrofnih bakterija). Sastoji se od dvije faze, nitritacije i nitratacije, pri čemu u prvoj djeluju bakterije roda *Nitrosomonas* pretvarajući NH_4^+ u NO_2^- , a zatim bakterije roda *Nitrobacter* pretvarajući NO_2^- u NO_3^- . Dosadašnje procjene za frakcioniranje od amonijaka do nitrita u fazi nitritacije ukazuju na raspon od -18 do -29 ‰, a nitriti imaju niže $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u odnosu na ishodišni amonijak. S druge strane, frakcioniranje izotopa dušika ne može se povezati s nitratacijom jer se prilikom navedenog procesa sav nitrit pretvara u nitrate (Sharp, 2017).

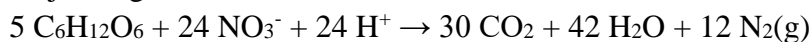


Slika 2. Ciklus dušika s izotopnim potpisom
Izvor: Sharp (2017)

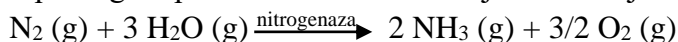
Izvori kisika za proces nitrifikacije su H_2O i O_2 . U navedenom procesu se otpušta energija koju zatim organizmi koriste kao izvor energije. Tipičan redoslijed reakcija prema Kaplanu (1983) je:



Denitrifikacija je proces redukcije nitrata do elementarnog dušika (N_2) djelovanjem anaerobnih bakterija te nekih gljiva i aerobnih bakterija. Također, prati razgradnju organske tvari, primjerice glukoze:



Proces denitrifikacije najčešće se zbiva u dubljim slojevima tla ili u slabo prozračnim tlima gdje je koncentracija O_2 niska. N_2 dobiven u procesu denitrifikacije odlazi u atmosferu te biva ponovno podvrgnut procesu biološke fiksacije dušika čija reakcija glasi:



Prema rezultatima laboratorijskih istraživanja, $\delta^{15}\text{N}$ plinoviti N_2 – otopljeni nitrati iznosi -17 do -20 ‰ (Sharp, 2017). Frakcionirani izotopi dušika utvrđeni u stvarnim uzorcima tla sa poljskih pokusa često su nižih vrijednosti te iznose između -12 i -14 ‰ (Blackmer i Bremner, 1977). Mariotti i sur. (1982) utvrdili su frakcioniranje $\delta^{15}\text{N}$ N_2O – NO_2 u rasponu od -11 do -33 ‰.

Gubitkom plinovitog N_2 kao produkta denitrifikacije, dolazi do povećanja $\delta^{15}N$ vrijednosti preostalog nitrata (Sharp, 2017).

Fiksacija dušika podrazumijeva vezanje elementarnog odnosno molekularnog dušika (N_2) iz atmosfere u spojeve koji su onda raspoloživi mikroorganizmima i biljkama da ih iskoriste za svoje potrebe. Procesi fiksacije dušika omogućuju razdvajanje 6 dušikovih atoma iz molekule kako bi se oni mogli kemijski vezati s drugim elementima i pri tome stvoriti nove spojeve. Fiksacija atmosferskog dušika ima veliki značaj za poljoprivrednu proizvodnju, naročito u područjima s niskom plodnošću tla. To je energetski zahtjevan proces koji može provoditi samo određena grupa mikroorganizama. Fiksacija dušika može biti simbiotska, asimbiotska i asocijativna. Fiksatori dušika imaju enzimatski sustav nitrogenazu koja katalizira redukciju N_2 do NH_3 (Bernhard 2010). Frakcioniranje izotopa dušika povezanih s procesom fiksacije dušika općenito je malo. Prema Hoeringu i Fordu (1960), izmjerene vrijednosti ($\delta^{15}N$ fiksirani dušik - $\delta^{15}N_{zrak}$) kreću se u rasponu od -2,2 do +3,7 ‰ te navode da prosječno frakcioniranje između atmosferskog N_2 i dušika fiksiranog u organsku tvar iznosi otprilike 0 ‰. Frakcioniranje izotopa dušika u procesu fiksacije dušika prema Fogelu i Cifuentesu (1993) iznosi od -3 do +1 ‰.

3. Materijali i metode

3.1. Metodologija istraživanja – tlo i gnojiva

Kako bi se utvrdili ciljevi ovog rada, iz arhive tla Zavoda za opću proizvodnju bilja Agronomskog fakulteta izdvojeno je 12 uzoraka tla sa lokaliteta Potok. Navedeni uzorci se odnose na stacionarni poljski pokus u sklopu višegodišnjeg (od 1996.) znanstvenog projekta kojem je cilj bio utvrditi kako rastuće doze mineralne dušične gnojidbe utječu na prinos važnijih ratarskih kultura, agronomsku učinkovitost gnojidbe, ispiranje nitrata i akumulaciju dušika u tlu. Lokalitet Potok smješten je u području zapadno-panonske podregije Hrvatske u blizini Parka prirode Lonjsko polje (slika 3). To je područje umjerene kontinentalne klime s prosječnom godišnjom temperaturom zraka od 10,7 °C i sumom oborina od 865 mm (referentno razdoblje 1965.-1990.).



Slika 3. Lokacija i satelitski snimak pokusne površine (45°33' N, 16°31' E)

Izvor: prilagođeno sa GoogleMaps, 2021.

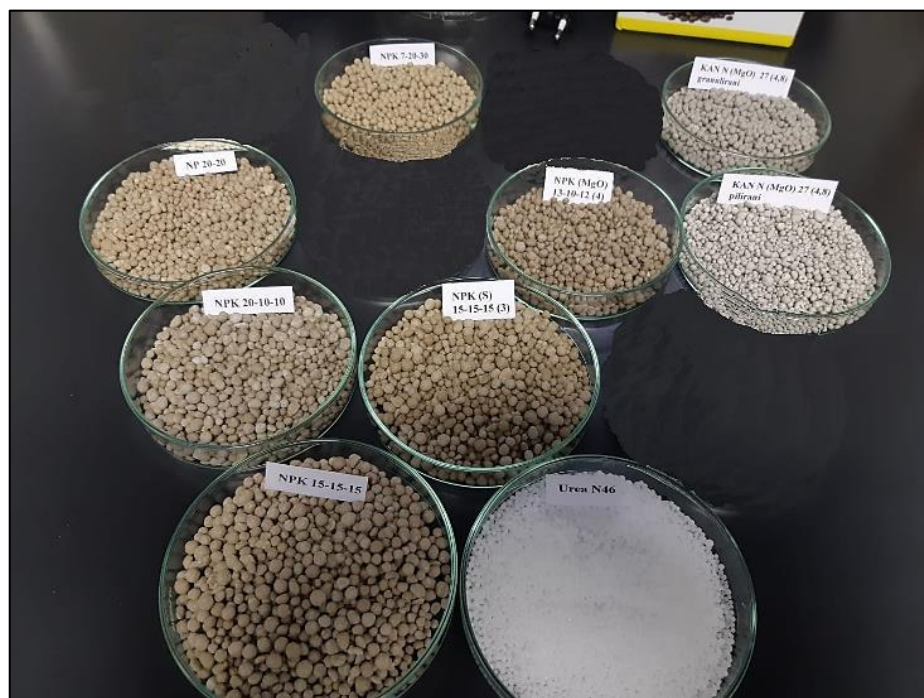
Uzorci tla, uzorkovani 2018. godine nakon žetve soje, razlikovali su se prema dubinama uzorkovanja (0-30 cm, 30-50 cm, 50-80 cm) i četiri rastuće doze primijenjenog mineralnog dušika (četiri gnojidbena tretmana: 0, 100, 200 i 300 kg N/ha – N0, N100, N200 i N300). Tlo s pokusne površine spada u odjel hidromorfnih tala, preciznije ravničarski distrični pseudoglej. Hidromorfizam je rezultat prekomjernog navlaživanja površinskih dijelova soluma stagnirajućom površinskom vodom. Duže ili kraće zadržavanje suficitne vode pretpostavlja pojavu teže propusnog horizonta koji sprječava normalnu filtraciju (Škorić, 1990). Hidromorfno tlo pseudoglej karakterizira naizmjenično smjenjivanje mokre i suhe faze što uvjetuje redukcijske i oksidacijske procese te specifičnu morfologiju, odnosno mramoriranost "g" horizonta te tvorbu Fe i Mn konkreција. U tablici 4 prikazane su kemijske značajke istraživnog tla.

Tablica 4. Kemijske značajke istraživanog tla

Genetski horizont		pH	Sadržaj hraniva (mg/100 g tla)		Humus	CaCO ₃
Oznaka	Dubina (cm)	1 M KCl	P ₂ O ₅	K ₂ O	(%)	(%)
P	0-32	4,84	17,72	10,45	1,01	-
Eg	32-52	5,12	5,20	7,15	0,91	-
Btg	52-97	6,02	7,68	6,43	0,35	0,62
Cg ₁	97-116	7,41	7,64	4,95	0,22	2,08
Cg ₂	>116	7,18	2,88	3,90	0,13	0,83

Izvor: Mesić i sur. (2008)

Za potrebe utvrđivanja trećeg cilja ovog diplomskog rada kao i potvrde podrijetla dušika na pokusnoj površini prikupljeno je devet (9) komercijalnih mineralnih dušičnih gnojiva različitih prema formulaciji i granulaciji [NP 20-20, KAN (27 % N + 4,8 % MgO, pilirani), NPK 7-20-30, NPK 20-10-10, NPK 15-15-15, KAN (27 % N+ 4,8 % MgO, granulirani), NPK 13-10-12 (4 % MgO), NPK 15-15-15 (3 % S), UREA (46 % N)] kako je prikazano na slici 4. Odabrana dušična gnojiva su sličnih formulacija onima koja su se primjenjivala tijekom 22 godine dušične gnojidbe na pokusnoj površini. Baš zbog toga potrebno je nadodati da su na spomenutoj pokusnoj površini prema plodoredu i metodologiji znanstvenog projekta test kulture u razdoblju od 1997. do 2018. godine bile: ozima pšenica, uljana repica, kukuruz, soja i pšenoraž. Ovisno o plodoredu i potrebama pojedinih ratarskih kultura tijekom 22 godine provodila se jesenska i predsjetvena gnojidba kao i proljetna prihrana kultura različitim formulacijama dušičnih gnojiva: NPK (6-18-36, 7-20-30, 10-20-30), urea i KAN.



Slika 4. Formulacije istraživanih gnojiva
Izvor: Fiočić, 2020.

3.2. Laboratorijsko istraživanje

Priprema uzoraka tla obavljena je ranije s obzirom na to da su uzorci izdvojeni iz arhive Zavoda za opću proizvodnju bilja, a pripremljeni su prema ISO protokolu (ISO 11464:2004). ISO protokol uključuje sušenje uzoraka na zraku ($T < 40^{\circ}\text{C}$), mljevenje i prosijavanje kroz sito promjera 2 mm te homogenizaciju uzoraka. Prije analize i utvrđivanja sadržaja ukupnog dušika i njegovog izotopnog sastava, arhivirani uzorci tla su dodatno osušeni do konstantne mase u sušioniku (Nüve, FN 120) na 105°C .

Nakon opisane pripreme, uzorci su podijeljeni na dva djela. U jednom djelu svakog uzorka (u tri ponavljanja) u analitičkom laboratoriju Zavoda za opću proizvodnju bilja određen je sadržaj ukupnog dušika (N_{uk}) metodom suhog spaljivanja prema ISO protokolu 13878 (1998) elementarnom analizom koristeći Vario MACRO CHNS analizator (Elementar, Njemačka, slika 5). U institutu "Jožef Štefan" u Ljubljani na Odsjeku o znanostima okoliša, u drugom dijelu uzorka, $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti, odnosno stabilni izotopi dušika, detektirani su i kvantificirani EA-IRMS metodom. Ta metoda podrazumijeva kombiniranu tehniku, odnosno elementarnu analizu (EA) i spektrometriju masa kojom se određuje udio izotopa (*engl.* Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS). Navedeno je provedeno uporabom ISOPrime100-Vario PYRO Cube analizatora (IsoPrime, Cheadle, Hulme, UK, slika 6) u dva ponavljanja.



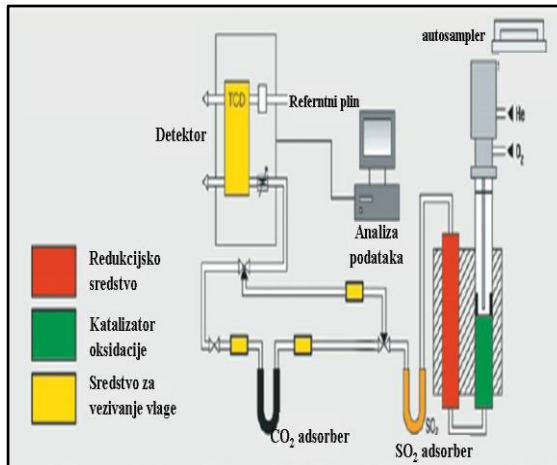
Slika 5. Vario MACRO CHNS analizator
Izvor: Laboratorij Zavoda za OPB



Slika 6. ISOPrime100-Vario PYRO Cube
(OH/CNS) analizator
Izvor: www.elementar.com

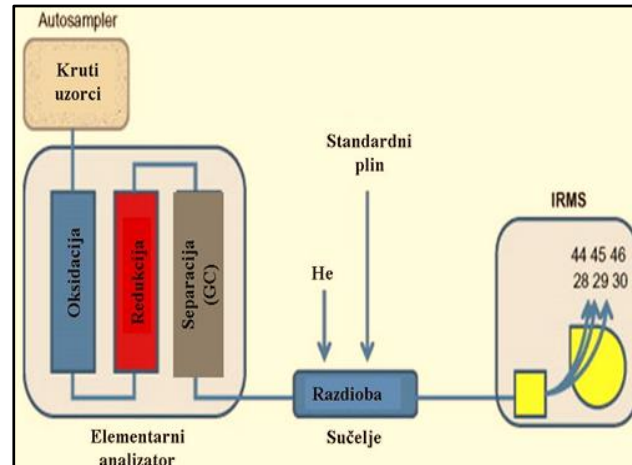
Oba analizatora u jednom djelu svog analitičkog procesa djeluju na istom principu, taj dio se odnosi na suho spaljivanje prema Dumas-u. Postupak elementarne analize i određivanje sadržaja ukupnog dušika zasniva se na spaljivanju uzorka tla u struji kisika na 1150°C uz katalizator (WO_3). Prilikom spaljivanja oslobađaju se NO_x plinovi. U redukcijskoj koloni na 850°C , uz bakar kao redukcijско sredstvo, NO_x plinovi reduciraju se do N_2 kojeg helij kao plin nosilac nosi direktno na TCD detektor (slika 7). EA-IRMS tehnika također se u prvom dijelu analitičkog procesa bazira na Dumas spaljivanju (1700°C , Cr_2O_3 katalizator) i redukciji NO_x plinova na 600°C uz bakar do N_2 . Uzimajući u obzir da se ovom metodom simultano mogu odrediti i udjeli ^{13}C izotopa, plinovi nakon redukcije (N_2 i CO_2) se separiraju plinskom

kromatografijom (GC). Rezultirajući kromatografski vrhovi ("pikovi") transportiraju se u izvor iona IRMS-a gdje se ioniziraju i pobuđuju. U konačnici plinovi različitih masa razdvajaju se u magnetskom polju i simultano mjere. Za N₂ se prate mase 28, 29 i 30, a za CO₂ mase 44, 45 i 46 (slika 8).



Slika 7. Shema simultane elementarne CHNS analize

Izvor: prilagođeno s www.tecnologia-aplicada.com



Slika 8. Shema simultane EA-IRMS analize $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{13}\text{C}$

Izvor: prilagođeno s www.sciencedirect.com

Izotopni sastav dušika u uzorku izražava se kao delta (δ) ¹⁵N u promilima (‰) i računa se prema sljedećem izrazu: $\delta^{15}\text{N} = (\mathbf{R}_{\text{uzorak}}/\mathbf{R}_{\text{standard}} - 1) \times 10^3$, gdje je R omjer atoma ¹⁵N/¹⁴N u uzorku i standardu. Atmosferski N₂ predstavlja referentnu vrijednost standarda pri $\delta^{15}\text{N}$ mjerenjima (Mariotti 1983) u kojemu omjer stabilnih izotopa dušika ¹⁵N/¹⁴N (1/272) iznosi 0,0036764 odnosno +3,68 ‰ (Robinson 2001).

U promatranim uzorcima tla, za dodatnu potvrdu utvrđenog podrijetla dušika u tlu, određen je i sadržaj humusa volumetrijskom metodom po Tjurinu.

Za potrebe utvrđivanja trećeg cilja ovog diplomskog rada, devet odabranih uzoraka mineralnih gnojiva su samljeveni i prosijani i zajedno sa uzorcima tla poslani u institut "Jožef Štefan" u Ljubljani, gdje su na istovjetan način kao i uzorci tla analizirani stabilni izotopi dušika primjenom EA-IRMS metode.

3.3. Statistička analiza

Statistička obrada podataka provedena je u statističkom programu SAS 9.1.3. analizom varijance (ANOVA). Utjecaj dubine profila tla (0-30 cm, 30-50 cm te 50-80 cm) i rastućih doza dušične gnojidbe (0, 100, 200, 300 kg N/ha) na varijabilnost akumuliranog ukupnog dušika testiran je Fisher LSD testom uz vjerojatnost pogreške od 5 %. Procjena jačine i smjera povezanosti između $\delta^{15}\text{N}$ i N_{uk}, kao i $\delta^{15}\text{N}$ te sadržaja humusa (organske tvari) u tlu provedena je izračunom Pearsonovih koeficijenta korelacije. Dodatno je provedena i jednostavna regresijska analiza primjenom linearnog modela za navedene parametre tla.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Vertikalna opskrbljenost tla ukupnim dušikom s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe

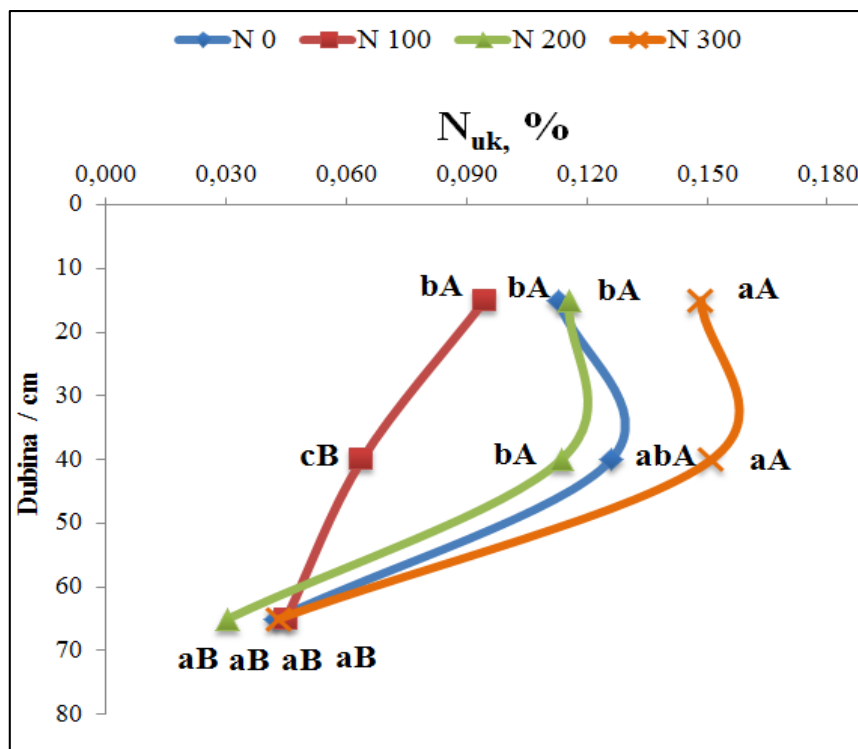
Tablica 5 prikazuje rezultate analize varijance utjecaja gnojidbenih tretmana i dubina tla na varijabilnost sadržaja ukupnog dušika u tlu. Prikazane su i LSD vrijednosti prema Fisherovom testu, one predstavljaju potrebnu minimalnu razliku između pojedinih prosječnih vrijednosti kako bi se moglo tvrditi o značajnom utjecaju tretmana ili dubine na varijabilnost ovog parametra u tlu prikazanog na grafikonu 1. Iz tablice 5 vidljiv je značajni utjecaj gnojidbenih tretmana i dubine na varijabilnost ukupnog dušika u tlu. Iznimka se uočava na posljednjoj dubini profila (50-80 cm) na kojoj gnojidbeni tretmani nisu značajno utjecali ($Pr > F$ 0,6350) na varijabilnost ukupnog dušika u tlu gdje su se vrijednosti ukupnog dušika kretale u rasponu od 0,031 % do 0,045 %.

Tablica 5. Rezultati analize varijance varijabilnosti ukupnog dušika u tlu prema gnojidbenim tretmanima i dubinama uzorkovanja

Tretman	Pr > F	LSD (%)	Dubina uzorkovanja	Pr > F	LSD (%)
N0	0,0030	0,036			
N100	0,0032	0,021	0-30 cm	0,0036	0,022
N200	< .0001	0,016	30-50 cm	0,0050	0,027
N300	0,0001	0,028	50-80 cm	0,6350	0,026

Grafikon 1 prikazuje vertikalnu raspodjelu ukupnog dušika (N_{uk}) u tlu prema gnojidbenim tretmanima. Vrijednosti označene različitim malim slovom ukazuju na značajne razlike u sadržaju N_{uk} s obzirom na gnojidbene tretmane na pojedinim dubinama profila tla. Vrijednosti označene različitim velikim slovom ukazuju na značajne razlike u sadržaju N_{uk} s obzirom na dubinu tla na pojedinim gnojidbenim tretmanima. Iz grafikona 1 vidljiv je značajan utjecaj pojedinih tretmana na prve dvije dubine uzorkovanja profila (0-30 cm i 30-50 cm) s $Pr > F$ vrijednostima od 0,0036 i 0,0050. Srednje vrijednosti dušika u površinskom sloju tla (0-30 cm) na N0, N100 i N200 tretmanima redom su iznosile: 0,113 %, 0,095 % i 0,115 %. Srednja vrijednost dušika na N300 tretmanu iznosila je 0,148 % što je značajno više od vrijednosti utvrđenih na prethodno spomenutim tretmanima (N0, N100 i N200). Na dubini od 30 do 50 cm zabilježen je sličan trend, gdje je u odnosu na N100 i N200 tretmane značajno najviše dušika akumulirano u tlu sa 300 kg/ha primijenjenog gnojiva ($N_{uk} = 0,151$ %). U najdubljem promatranom dijelu profila tla (50-80 cm) utvrđeno je da gnojidbeni tretmani nisu imali značajan utjecaj na varijabilnost dušika. Njegov je sadržaj na sva četiri tretmana u prosjeku iznosio 0,040 %. Treba nadodati da se kontrolni tretman odnosio na dio pokusne površine s crnim ugarom koja nije gnojena, ali je obrađivana. Na takvom N0 tretmanu tijekom svih godina istraživanja (22 godine) akumulirala se dodana količina organske tvari, a time i dušika u tlu što je dijelom uzrokovalo varijabilnost N_{uk} prikazanu na grafikonu 1, odnosno izostanak proporcionalnog značajnog porasta ukupnog dušika u tlu s porastom apliciranih doza gnojiva u odnosu na kontrolni tretman. U slučaju da je kontrolni tretman uključivao i test kulture, one bi

svih godina istraživanja usvajale dušik iz tla i time bi dijelom pridonijele nižoj vrijednosti ukupnog dušika na tom tretmanu.



Grafikon 1. Vertikalna raspodjela ukupnog dušika u tlu prema gnojidbenim tretmanima

Promatrajući utjecaj dubine na varijabilnost ukupnog dušika u tlu, u tablici 5 i grafikonu 1 uočava se značajno sniženje sadržaja ukupnog dušika s porastom dubine od površine do najdubljeg horizonta na svim tretmanima uz naznaku da se srednje vrijednosti sadržaja N_{uk} na prve dvije dubine (0-30 cm i 30-50 cm) nisu značajno razlikovale na N0, N200 i N300 tretmanima (velika ista slova na grafikonu 1). Navedeno ukazuje na to da su se prekomjerne primijenjene količine dušika (200 i 300 kg N/ha), osim u površinskom sloju tla na tim tretmanima, akumulirale i u potpovršinskom sloju (30-50 cm). Za stvarni uvid o utjecaju dubina na kontrolnom tretmanu (s obzirom da prikazane vrijednosti nisu bile pod utjecajem rasta soje i njezinog usvajanja dušika nego crnog ugara) treba istaknuti da su vrijednosti N_{uk} na tretmanu bez N gnojidbe i soje kao test kulture te godine varirale u rasponu od 0,092 % na dubini 0-30 cm, 0,075 % na dubini 30-50 cm do 0,028 % na dubini 50-80 cm (Interni podaci, Zavod za opću proizvodnju bilja, 2018).

Navedeni rezultati u skladu su s istraživanjima drugih autora koji također navode da se ukupni dušik u tlu značajno smanjivao s porastom dubine tla, a povećavao s porastom apliciranih količina mineralnih dušičnih gnojiva. Sartori i sur. (2007) navode kako je ukupni dušik u tlu u SAD-u varirao ovisno o dubini uzorkovanja i rastućim dozama dušične gnojidbe od 0,050 % do 0,120 %. Znanstvenici u Kini (Huang i sur. 2007) navode kako su se te vrijednosti kretale od 0,078 % do 0,123 %, a u Danskoj (Mortensen i sur. 1998) je to bilo od

0,025 % do 0,226 %. Također i prijašnja istraživanja iz Hrvatske (Jurišić 2012) potkrepljuju navedenu tezu i navode vrijednosti od 0,001 % do 0,218 %.

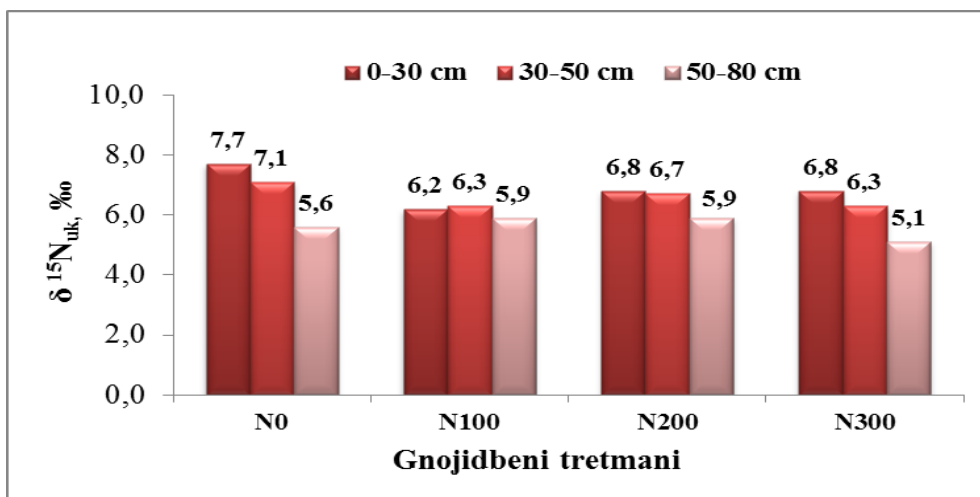
Analizirajući utvrđeni raspon ukupnog dušika prikazanog na grafikonu 1 (od 0,031 % do 0,151 %) može se zaključiti da je opskrbljenost tla dušikom ovisno o dubini profila i primijenjenoj gnojidbi varirala od siromašne do dobre. Za detaljniji uvid s obzirom na vrijednosti iz grafikona 1, u tablici 6 prikazana je opskrbljenost dušikom analiziranih uzoraka. U najdubljim slojevima tlo je siromašno ovim hranivom, umjereno opskrbljeno na prve dvije dubine na tretmanu na kojemu je aplicirano 100 kg N/ha i dobro opskrbljeno na N200 i N300 tretmanima, baš kao i na kontrolnom prirodnom tlu bez uzgajanog usjeva.

Tablica 6. Opskrbljenost tla dušikom prema Woltmann-u s obzirom na dubine i gnojidbene tretmane

Tretman Dubina	N0	N100	N200	N300
0-30 cm	Dobra	Umjerena	Dobra	Dobra
30-50 cm	Dobra	Umjerena	Dobra	Dobra
50-80 cm	Siromašna	Siromašna	Siromašna	Siromašna

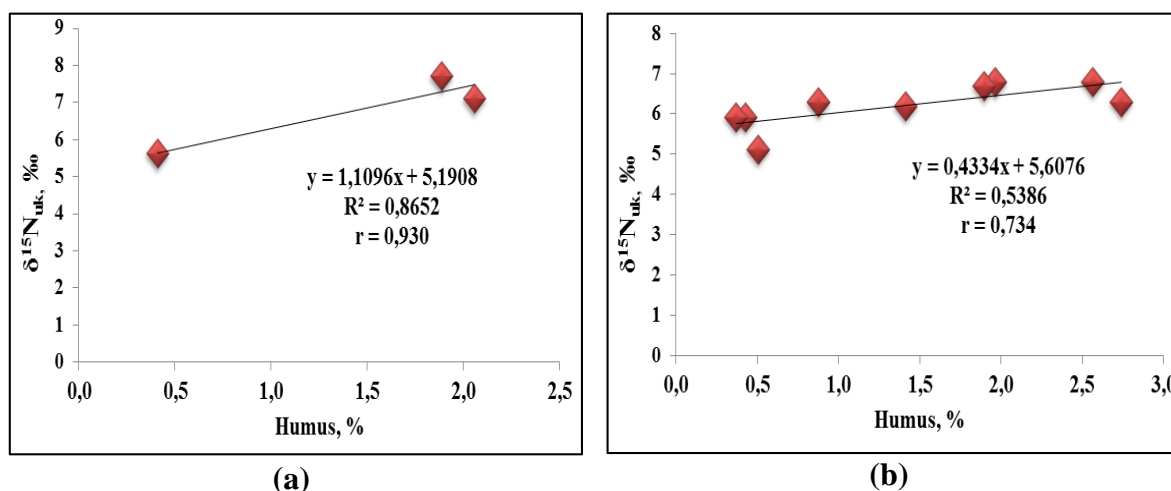
4.2. Podrijetlo dušika u tlu s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe i dubinu tla

Grafikon 2 prikazuje varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti s obzirom na rastuće doze mineralne dušične gnojidbe i dubine profila tla. Vrijednosti izotopnog dušika varirale su u rasponu od +5,1 ‰ na tretmanu s 300 kg/ha primjenjenog mineralnog dušika na dubini 50-80 cm do +7,7 ‰ u površinskom sloju tla kontrolnog tretmana. Kao što je već ranije navedeno, kontrolni tretman predstavljao je crni ugar s obradom tla, a na ostalim gnojidbenim tretmanima prema plodoredu od 1997. do 2018. izmjenjivalo se pet ratarskih kultura uz različite formulacije dušičnih gnojiva sezonski primijenjene u već navedenim količinama. Zbog svega navedenog, očekivano je bilo da će izotopni potpis dušika u uzorcima s gnojidbenih tretmana (N100, N200 i N300) biti mineralnog podrijetla, točnije da će ostaviti trag mineralnih gnojiva (NPK 7-20-30, urea, KAN) koja su se primijenila tijekom vegetacije soje u razdoblju od rujna 2017. do lipnja 2018. godine. Za razliku od pretpostavljenog, raspon izotopnog dušika od +5,1 ‰ do +6,8 ‰ (grafikon 2) na gnojidbenim tretmanima ukazuje da mu je podrijetlo organski dušik iz tla.



Grafikon 2. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti prema rastućim dozama dušične gnojidbe i dubinama profila tla

Prema Heatonu i sur. (1986) izotopni potpis ($\delta^{15}\text{N}$) organskog dušika u tlu kreće se od +4 ‰ do +9 ‰, a različite formulacije mineralnih dušičnih gnojiva imaju vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ od -1,7 ‰ do +3,9 ‰ (Vitoria i sur. 2004). Vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ na kontrolnom tretmanu varirale su od +5,6 ‰ do +7,7 ‰ što ukazuje na organski dušik u tlu. Navedeno je bilo i očekivano, osobito zbog prirode kontrolnog tretmana (crni ugar bez gnojidbe), a sve je dodatno potvrđeno potpunom korelacijom ($r = 0,930$) između sadržaja humusa i $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u navedenim uzorcima tla (grafikon 3a). Također, tezu da je dušik s gnojidbenih tretmana organskog podrijetla dodatno potvrđuje i korelacijski odnos (grafikon 3b) između sadržaja humusa i $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti koji je pozitivan i jak ($r = 0,734$). Organski dušik u ukupnom dušiku zauzima više od 90 ‰ (Haynes, 1986), odnosno 96 ‰ (Mesić i sur., 2010). Ostali mali udio anorganskog dušika nakon aplikacije mineralnih gnojiva dijelom bude usvojen korijenom biljaka, a dijelom se nepovratno izgubi u okolišu, bilo ispiranjem u dublje slojeve tla i podzemne vode ili transportom na susjedne površine i u površinske tokove. Navedeno bi moglo biti jedno od objašnjenja zašto je podrijetlo dušika u tlu i nakon 22 godine aplikacije mineralnih dušičnih gnojiva i dalje bilo organsko.



Grafikon 3. Regresijski model i Pearsonov koeficijent korelacije za $\delta^{15}\text{N}$ i humus za uzorke s kontrole – crni ugar bez gnojidbe (a); za uzorke s gnojidbenih tretmana (b)

Jones i Dalal (2017) navode da s porastom dubine rastu i $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u prirodnom tlu ($\Delta +3,62 \text{ ‰}$) i obradivom tlu ($\Delta +2,52 \text{ ‰}$). U površinskom sloju prirodnog tla (0-30 cm) utvrdili su $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti od $+4,86 \text{ ‰}$, na dubini od 30 do 60 cm ta je vrijednost iznosila $+8,48 \text{ ‰}$. U oraničnom površinskom sloju $\delta^{15}\text{N}$ bio je $+6,96 \text{ ‰}$, a na dubini od 30 do 60 cm $+9,46 \text{ ‰}$. Za razliku od njihovog istraživanja, rezultati iz grafikona 2 ukazuju na relativno sniženje $\delta^{15}\text{N}$ vrijednost s porastom dubine u prosjeku za $+2,1 \text{ ‰}$ u prirodnom tlu (kontrola – crni ugar) i $+1,0 \text{ ‰}$ u obradivom tlu gnojidbenih tretmana (N100, N200 i N300). Navedeno se može dijelom objasniti i sniženjem sadržaja humusa odnosno organske tvari u profilu tla koja se na kontrolnom tretmanu od površine do 80 cm smanjila za $78,4 \text{ ‰}$ (sa $1,89 \text{ ‰}$ humusa na $0,41 \text{ ‰}$ humusa), a na tri gnojidbena tretmana u prosjeku za $78,2 \text{ ‰}$ (u prosjeku sa $1,99 \text{ ‰}$ humusa na $0,43 \text{ ‰}$ humusa). Istraživanje Jonesa i Dalala (2017) uključivalo je praćenje dvadesetogodišnje primjene standardnih doza mineralne dušične gnojidbe u proizvodnji pšenice i ječma, a rezultati njihovog istraživanja također ukazuju na organsko podrijetlo dušika u tlu, odnosno da mineralna dušična gnojidba nije doprinijela podrijetlu dušika u tlu.

4.3. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima

Treći cilj ovog diplomskog rada imao je zadatak utvrditi varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa u mineralnim dušičnim gnojivima sličnih formulacija onima koje su se na pokusnoj površini primjenjivale uzastopno 22 godine. Točnije cilj je bio dodatno potvrditi utvrđeno podrijetlo dušika u tlu (organski N) kako je prikazano u prethodnom poglavlju.

Iz tablice 7 vidljivo je da je izotopni dušik u primijenjenim dušičnim gnojivima varirao od $-0,96 \text{ ‰}$ u piliranom KAN-u do $+3,26 \text{ ‰}$ NPK 7-20-30. Navedeno je u skladu s literaturnim navodima koji raspon $\delta^{15}\text{N}$ u različitim formulacijama mineralnih dušičnih gnojiva ističu od -4 ‰ do $+3,9 \text{ ‰}$ (Kendall, 1998; Vitoria i sur., 2004). Vitoria i sur. (2004) navode raspon $\delta^{15}\text{N}$ od $-1,7 \text{ ‰}$ u NPK 15-15-15, $-0,7 \text{ ‰}$ u amonij nitratu, $+2,5 \text{ ‰}$ u urei i $+3,9 \text{ ‰}$ u $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Heaton (1986) još pojašnjava da mineralna gnojiva koja su proizvedena na osnovu kvantitativnih procesa "industrijske" fiksacije atmosferskog dušika rezultiraju vrlo malim izotopnim frakcioniranjem što posljedično uzrokuje da takvi proizvodi (gnojiva) imaju $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti približne nuli (0 ‰).

Sve dodatno ukazuje da utvrđene $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u tlu sa gnojidbenih tretmana potvrđuju organsko podrijetlo dušika u tlu nakon 22 godine mineralne gnojidbe jer je izotopni potpis dušika u primijenjenim gnojivima ($-0,96 \text{ ‰}$ do $3,26 \text{ ‰}$) znatno niži i razlikuje se od izotopnog dušika utvrđenog u tlu ($5,1 \text{ ‰}$ do $6,8 \text{ ‰}$) na tri gnojidbena tretmana (N100, N200 i N300).

Tablica 7. Vrijednosti $\delta^{15}\text{N}$ u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima

Mineralno gnojivo	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
NP 20-20	$+0,70 \pm 0,02$
KAN (27 % N + 4,8 % MgO, pilirani)	$-0,96 \pm 0,02$
NPK 7-20-30	$+3,26 \pm 0,09$
NPK 20-10-10	$-0,18 \pm 0,06$
NPK 15-15-15	$+0,74 \pm 0,14$
KAN (27 % N + 4,8 % MgO, granulirani)	$-0,91 \pm 0,03$
NPK 13-10-12 (4 % MgO),	$-0,28 \pm 0,03$
NPK 15-15-15 (3 % S)	$+1,09 \pm 0,04$
UREA (46 % N).	$-0,08 \pm 0,03$

5. Zaključak

Na temelju rezultata istraživanja vertikalne opskrbljenosti tla ukupnim dušikom, kao i podrijetla dušika u tlu te njegovog izotopnog potpisa u odabranim mineralnim dušičnim gnojivima mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Utvrđen je značajan utjecaj gnojidbenih tretmana i dubine na varijabilnost ukupnog dušika u tlu. Sadržaj ukupnog dušika varirao je od 0,031 % do 0,151 % i može se zaključiti da je tlo bilo siromašno do dobro opskrbljeno dušikom ovisno o dubini profila i primijenjenoj gnojidbi.
2. Varijabilnost $\delta^{15}\text{N}$ izotopa ovisno o rastućim dozama dušične gnojidbe i dubinama profila tla kretala se od +5,1 ‰ do +7,7 ‰ što ukazuje na organsko podrijetlo dušika unatoč kontinuiranoj višegodišnjoj i prekomjernoj (300 kg N/ha) primjeni mineralnih dušičnih gnojiva.
3. Raspon $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u primijenjenim mineralnim dušičnim gnojivima iznosio je od -0,96 ‰ u piliranom KAN-u +3,26 ‰ u NPK 7-20-30 što ukazuje na anorgansko podrijetlo dušika i činjenicu da su promatrana mineralna dušična gnojiva proizvedena procesima "industrijske" fiksacije atmosferskog dušika. Navedeno dodatno potvrđuje da dugogodišnja kontinuirana mineralna dušična gnojidba nije utjecala na podrijetlo dušika na pokusnoj površini.

6. Popis literature

1. Barros T., Powell J.M., Danes M.A.C., Afuerre M.J., Wattiaux M.A. (2017). Relative partitioning of N from alfalfa silage, corn silage, corn grain and soybean meal into milk, urine, and feces, using stable ^{15}N isotope. *Animal Feed Science and Technology*. 229: 91–96
2. Bateman A.S., Kelly S.D., Woolfe M. (2007). Nitrogen Isotope Composition of Organically and Conventionally Grown Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 2664–2670
3. Bernhard A. (2010). The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. *Nature Education Knowledge*. 3(10):25
4. Blackmer A.M., Bremner J.M. (1977). N-isotope discrimination in denitrification of nitrate in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 9: 73–77
5. Bontempo L., Camin F., Paolini M., Micheloni C., Laursen K.H. (2016). Multi-isotopic signatures of organic and conventional Italian pasta along the production chain. *Journal of Mass Spectrometry*. 51(9): 675-683
6. Burns R.C. i Hardy R.W. F. (1975). *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants*. Springer Verlag, Berlin i New York.
7. Böhlke K., Gwinn C.J., Coplen T.B. (1993). New reference materials for nitrogen-isotope-ratio measurements. *Geostandards Newsletter*. 17: 159-164
8. Cadisch G., Hairah K., Giller K.E. (2000). Applicability of the natural ^{15}N abundance technique to measure N_2 fixation in *Arachis hypogaea* grown on an Ultisol. *Netherlands Journal of Agricultural Science*. 48: 31-45
9. Cartigny P., Busigny V. (2018). Nitrogen isotopes. U: *Encyclopedia of Geochemistry: A Comprehensive Reference Source on the Chemistry of the Earth*. (Ur. White W.M.). Springer, Switzerland. 991-1003
10. Chalk P. M. (2018). Can N fertilizer use efficiency be estimated using ^{15}N natural abundance? *Soil Biology and Biochemistry*. 1-9
11. Craine J., Brookshire E.N.J., Cramers M.D., Hasselquist N.J., Kobe K., Marin-Spiotta E., Wang L.(2015). Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant Soil*. 36: 1-26
12. AOSTAT (2013).
Raspoloživo: <http://faostat.fao.org/site/422/default.aspx#ancor>

13. Fertilisers in the EU: Prices, trade and use. EU Agricultural Markets Briefs. (2019).
Raspoloživo: https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/food-farming-fisheries/farming/documents/market-brief-fertilisers_june2019_en.pdf
14. Flores P., Fenoll J., Hellín P. (2007). The Feasibility of Using $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ Values for Discriminating between Conventionally and Organically Fertilized Pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 5740-5745
15. Fogel M.L., Cifuentes L.A. (1993). Isotope fractionation during primary production. U: Organic Geochemistry. (Ur. Engel M.H., Macko S.A.). Plenum Press, New York. 73–98
16. Galloway J.N., Aber J.D., Erisman J.W., Seitzinger S.P., Howarth R.W., Cowling E.B., Cosby B.J. (2003). The nitrogen cascade. Bioscience. 53: 341-356
17. Galloway J.N., Schlesinger W.H., Levy H. II, Michaels A.II, Schnoor J.L. (1995). Nitrogen fixation: Anthropogenic enhancement–environmental response. Global Biogeochemical Cycle. 9: 235-252
18. Gurmesa G.A., Lu X., Gundersen P., Fang Y., Mao Q., Hao C., Mo J. (2017). Nitrogen input ^{15}N signatures are reflected in plant ^{15}N natural abundances in subtropical forests in China. Biosciences. 14: 2359-2370
19. Handley L.L., Raven J.A. (1992). The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology. Plant, Cell & Environment. 15(9): 965–985
20. Hanrahan G., Chan G. (2005). Nitrogen. U: Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition) (Ur: Paul Worsfold, Alan Townshend and Colin Poole). Elsevier. Amsterdam. 191–196
21. Haynes R.S. (1986). The decomposition processes: Mineralization, immobilization, humus formation and degradation. U: Mineral nitrogen in the plant –soil system. (Ur. Haynes R.S). Medison, Wisconsin. 52-109
22. Heaton T.H.E. (1986). Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: A review. Chemical Geology: Isotope Geoscience Section, 59: 87-102
23. Hoering T. (1955). Variations of Nitrogen-15 Abundance in Naturally Occurring Substances. Science. 122: 1233-1234
24. Hoering T.C., Ford T.H. (1960). The isotope effect in the fixation of nitrogen by Azotobacter. Journal of the American Chemical Society. 82: 376-378
25. Howarth R. (2009). Nitrogen. U: Encyclopedia of Inland Waters (Ur. Likens G.E.). 57-64
26. Hrvatska tehnička enciklopedija (2018). Leksikografski zavod Miroslav Krleža

27. Huang B., Sun W., Zhao Y., Zhu J., Yang R., Zou Z., Ding F., Su J. (2007). Temporal and spatial variability of soil organic matter and total nitrogen in an agricultural ecosystem as affected by farming practices. *Geoderma*. 139: 336-345
28. Inácio C.T., Magalhães A.M.T, Souza P.O., Chalk P.M., Urquiaga S. (2017). The relative isotopic abundance ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) during composting of agricultural wastes in relation to compost quality and feedstock. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 1-11
29. ISO 11464 (2004). Soil quality - Pretreatment of samples for physico-chemical analysis. Genève. Switzerland
30. ISO 13878 (1998). Soil quality - Determination of total nitrogen content by dry combustion. Genève. Switzerland
31. Jones A.R., Dalal R.C. (2017). Enrichment of natural ^{15}N abundance during soil N losses under 20 years of continuous cereal cropping. *Science of the Total Environment*. 574: 282-287
32. Jurišić A. (2012). Doktorski rad. Prostorna i vremenska raspodjela ukupnog i mineralnog dušika u pseudogleju pri različitoj gnojidbi dušikom. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
33. Kaplan I.R. (1983). Stable isotopes of sulfur, nitrogen and deuterium in Recent marine environments. U: *Stable Isotopes in Sedimentary Geology* (Ur. Arthur M.A., Anderson T.F., Kaplan I.R., Veizer J., Land L.S.). SEMP Short course, Columbia. 2(1): 2-108
34. Kelly S., Christopher B., Hilkert A. (2018). *Isotopic-Spectroscopic Technique: Stable Isotope-Ratio Mass Spectrometry (IRMS)*. Modern Techniques for Food Authentication (Second Edition), Academic Press
35. Kendall C. i Aravena R. (2000). Environmental Tracers. U *Subsurface Hydrology*. (Ur. Cook, P.G., Herczeg, A.L.). Springer US, Boston, MA. 261-297
36. Klaus V.H., Hölzel N.H., Prati D., Schmitt B., Schöning I., Schrupf M., Fischer M., Kleinebecker T. (2013). Organic vs. Conventional Grassland Management: Do ^{15}N and ^{13}C Isotopic Signatures of Hay and Soil Samples Differ? 8(10): e78134. doi:10.1371
37. Kruk M. i Mayer B. (2015). Stable isotope tracing of sources of nitrate in aquatic systems: examples from rivers in southern Alberta. *GeoConvention: Geoscience New Horizons*. 1-4
38. Li R.G., Wang S.M., Wang K.W., Wu Y.Z., Wu W.K. (1982). Studies on the uptake of soil N and fertilizer by winter wheat and N balance. *Chinese Journal of Soil Science*. 13: 21-22

39. Liu J., You L., Amini M., Obersteiner M., Herrero M., Zehnder A.J.B., Yang H. (2010). A high-resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107(17): 8035–8040
40. Mariotti A. (1983). Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature*, 303: 685-687
41. Mariotti A., Germon J.C., Leclerc A., Catroux G., Létolle R. (1982). Experimental determination of kinetic isotope fractionation of nitrogen isotopes during denitrification. U: *Stable Isotopes, Proceedings of the 4th International Conference* (Ur. Schmidt H.L., Förstel H., Heinzinger K.). Elsevier, Jülich. 459-464
42. Meisinger J.J. i Randall G.W. (1991). Estimating Nitrogen Budgets for Soil-Crop Systems. U: *Managing Nitrogen for Groundwater Quality and Farm Profitability* (Ur. Follett R.F., Keeney D.R., Cruse R.M.). Soil Science Society of America. 85–124
43. Mesić M., Zgorelec Ž., Vuković I., Kisić F., Bašić F., Jurišić A., Sajko K. (2010). Ukupni, NO_3^- , NO_2^- i NH_4^+ dušik u tlu pri različitoj gnojidbi dušikom. U: *Perspektive gospodarenja tlom u budućnosti*. (Ur. Husnjak S.). Zagreb, HTD. 93
44. Mortensen J., Nielsen K.H., Jorgensen U. (1998). Nitrate leaching during establishment of willow (*Salix viminalis*) on two soil types and at two fertilization levels. *Biomass & Bioenergy*. 15: 457–466
45. Nitzsche K. (2017). Applying isotope geochemistry to identify mechanisms regulating the aquatic-terrestrial carbon and nitrogen dynamics across scales in a moraine landscape. Dissertation. Humboldt-Universität zu Berlin.82: 13–31
46. Peoples M.B., Boddey R.M., Herridge D.F. (2002). Quantification of nitrogen fixation. U: *Nitrogen fixation at the millenium* (Ur. Leigh G.J.). Elsevier Science. Amsterdam. 357–389
47. Rapisarda P., Camin F., Fabroni S., Perini M., Torrisi B., Intrigliolo F. (2010). Influence of Different Organic Fertilizers on Quality Parameters and the $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{34}\text{S}$, and $\delta^{18}\text{O}$ Values of Orange Fruit (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 10(58): 3502–3506
48. Rembiałkowska E. (2016). Organic Food: Effect on Nutrient Composition. U: *Encyclopedia of Food and Health*. 171–177
49. Robinson D. (2001). $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology & Evolution*. 16 (3): 153–162

50. Rummel S., Hoelzl S., Horn P., Rossmann A., Schlicht C. (2010). The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices. *Food Chemistry*. 118: 890–900
51. Sainju U.M. (2017). Determination of nitrogen balance in agroecosystems. *MethodsX*. 4: 199–208
52. Sartori F., Markewitz D., Borders B.E. (2007). Soil carbon storage and nitrogen and phosphorous availability in loblolly pine plantations over 4 to 16 years of herbicide and fertilizer treatments. *Biogeochemistry*. 84: 13–30
53. Sharp Z. (2017). *Principles of Stable Isotope Geochemistry*, 2nd edition. 9/1- 9/16
54. Sheng-xiu L., Zhao-hui W., Yan-fang M., Shi-qing L. (2014). Soil Organic Nitrogen and Its Contribution to Crop Production. *Journal of Integrative Agriculture*. 13(10): 2061–2080
55. Stevens W.B., Hoefl R.G., Mulvaney R.L. (2005). Fate of nitrogen-15 in a long-term nitrogen rate study: II. Nitrogen uptake efficiency. *Agronomy Journal*. 97: 1046-1053
56. Stevenson F J. (1965). *Origin and distribution of nitrogen in soil*. U: Soil Nitrogen. America Society of Agronomy (Ur. Bartholomev W.V. i Clark F.E.) Madison, Wisconsin. 1–42
57. Szpak P. (2014). Complexities of nitrogen isotope biogeochemistry in plant-soil systems: implications for the study of ancient agricultural and animal management practices. *Front. Plant Sci.* doi.org/10.3389/fpls.2014.00288
58. Škorić A. (1990). *Postanak, razvoj i sistematika tla*. Fakultet poljoprivrednih znanosti sveučilišta u Zagrebu. Zagreb
59. Trček B. i Zojer H. (2010). Recharge of Springs u *Groundwater Hydrology of Springs*. 3: 87–127
60. Unkovich M., Herridge D., Peoples M., Cadisch G., Boddey R., Giller K., Alves B., Chalk P. (2008). Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. *ACIAR Monograph*. 136: 258
61. Vitòria L., Otero N., Soler A., Canals À. (2004). Fertilizer Characterization: Isotopic Dana (N, S, O, C, and Sr). *Environmental Science & Technology*. 38: 3254–3262

ŽIVOTOPIS

Marija Fiolić rođena je 5. lipnja 1997. godine u Zagrebu. Pohađala je osnovnu školu Savski Gaj u Zagrebu te je nakon nje upisala I. gimnaziju u Zagrebu. Godine 2016. završava srednju školu s odličnim uspjehom i upisala preddiplomski studij Agroekologije na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. 2019. godine upisala je diplomski studij Agroekologija, usmjerenje Agroekologija. Na drugoj i trećoj godini preddiplomskog studija ostvarila je pravo na primanje STEM stipendije. Odlično se služi engleskim jezikom te se dobro snalazi u radu na računalu.