Simbiozna učinkovitost autohtonih sojeva Bradyrhizobium japonicum izoliranih iz različitih regija Hrvatske

Galić, Andrijana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:082065

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

SIMBIOZNA UČINKOVITOST AUTOHTONIH SOJEVA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH REGIJA HRVATSKE

DIPLOMSKI RAD

Andrijana Galić

Zagreb, rujan, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Agroekologija – Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi

SIMBIOZNA UČINKOVITOST AUTOHTONIH SOJEVA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH REGIJA HRVATSKE

DIPLOMSKI RAD

Andrijana Galić

Mentor: Prof.dr.sc Sanja Sikora

Neposredni voditelj: Ivana Rajnović, dipl. ing. agr.

Zagreb, rujan, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Andrijana Galić**, JMBAG 0178088884, rođena 08.06.1992 godine, u Makarskoj, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

SIMBIOZNA UČINKOVITOST AUTOHTONIH SOJEVA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH REGIJA HRVATSKE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica 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 s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Andrijane Galić**, JMBAG 0178088884, naslova

SIMBIOZNA UČINKOVITOST AUTOHTONIH SOJEVA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH REGIJA HRVATSKE

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. Prof.dr. sc Sanja Sikora mentor _____
2. Izv.prof. dr. sc. Mihaela Blažinkov član _____
3. Prof.dr. sc. Ana Pospišil član _____

Zahvala

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Sanji Sikori i neposrednoj voditeljici Ivani Rajnović dipl. ing. agr. na savjetima i susretljivosti pri izradi diplomskog rada i što su uvijek imale strpljenja i vremena za moje brojne upite.

Također zahvaljujem djelatnicima Zavoda za mikrobiologiju na iskazanoj pomoći tijekom trajanja pokusa, Zavodu za ishranu bilja koji mi je omogućio prostor za postavljanje pokusa te Zavodu za specijalnu proizvodnju bilja.

Veliko hvala mojim prijateljima, kako širokobriješkim, čija se podrška osjećala na kilometre, tako i zagrebačkim koji su bili mudrice i imali sreće uljepšati mi zadnjih pola godine studiranja. Bili ste sjajni i svaka vaša pohvala, kritika, ali i uvjeti tipa ako ne napišem 10 stranica dnevno da se više nećemo čuti i slično su me dovele do ovdje. Posebno se zahvaljujem „princess" koja je bila uz mene cijelo vrijeme tijekom studiranja te ga učinila lakšim, doduše kako kad, ali i posebnim.

Hvala kolegama IAAS-ovcima na svim druženjima i putovanjima, bez vas studiranje ne bi bilo isto i hvala što ste ga učinili zabavnim.

Želim se zahvaliti svojoj braći, koji su brinuli za mene i nesebično dijelili savjete, sestri koja je dolazila u Zagreb svaki put kad mi je trebalo i bila uz mene te nevjestama koje su uvijek imale neke motivirajuće misli i savjete.

I na kraju, najveću zaslugu pripisujem svojim roditeljima na potpori tijekom cijelog školovanja, koji su me uvijek podržavali i upućivali na pravi put. Ova diploma je velikim dijelom i vaša, stoga vam želim zahvaliti na povjerenju i ljubavi.

Sadržaj

1. Uvod ... 1
2. Pregled literature ... 2
   2.1. Biološka fiksacija dušika ... 2
      2.1.1. Simbiozna fiksacija dušika ... 2
         2.1.1.1. Procesi prepoznavanja kvržičnih bakterija i mahunarki ... 3
         2.1.1.2. Infekcija korijena i nodulacija ... 4
         2.1.1.3. Vrste, raspored i karakteristike kvržica ... 5
         2.1.1.4. Enzim nitrogenaza ... 7
         2.1.1.5. Značaj simbiozne fiksacije dušika ... 8
   2.2. Soja (*Glycine max* (L.) Merill) ... 9
      2.2.1. Morfološka svojstva soje ... 10
      2.2.2. Agroekološki uvjeti uzgoja soje ... 11
         2.2.2.1. Temperatura ... 11
         2.2.2.2. Svjetlost ... 12
         2.2.2.3. Tlo ... 13
         2.2.2.4. Klima ... 14
         2.2.2.5. Vlaga ... 14
      2.2.3. Tehnologija proizvodnje soje ... 15
         2.2.3.1. Plodored ... 15
         2.2.3.2. Obrada tla ... 16
         2.2.3.3. Sjetva soje ... 16
         2.2.3.4. Njega soje ... 17
         2.2.3.5. Žetva soje ... 17
   2.3. Značajni predstavnici kvržičnih bakterija koji noduliraju soju ... 18
   2.4. Kvržična bakterija *Bradyrhizobium japonicum* ... 18
   2.5. Predsjetvena bakterizacija mahunarki ... 19
      2.5.1. Predsjetvena bakterizacija sjemena soje ... 20
3. Cilj istraživanja ... 22
4. Materijal i metode istraživanja ... 23
   4.1. Procjenasimbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum* ... 23
      4.1.1. Vegetacijski pokus u komori rasta ... 23

4.1.2. Površinska sterilizacija sjemena 24
4.1.3. Sjetva soje 24
4.1.4. Sorte soje 26
4.1.4.1. Sorta soje AFZG ANA 26
4.1.4.2. Sorta soje GABRIELA 26
4.1.5. Sojevi kvržičnih bakterija 27
5. Rezultati i rasprava 28
5.1. Procjena simbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum* 28
5.1.1. Broj kvržica po biljci 28
5.1.2. Masa suhe tvari kvržica po biljci 30
5.1.3. Masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke 31
5.1.4. Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke 31
6. Zaključak 33
7. Popis literature 34
8. Životopis 44

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Andrijane Galić**, naslova

SIMBIOZNA UČINKOVITOST AUTOHTONIH SOJEVA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* IZOLIRANIH IZ RAZLIČITIH REGIJA HRVATSKE

Simbiozna fiksacija dušika ima značajnu ulogu u poljoprivrednoj proizvodnji i nastaje kao rezultat simbioznih interakcija između kvržičnih bakterija i mahunarki. Iskorištava se primjenom bakterizacije, a selekcija visoko kvalitetnih sojeva simbioznih fiksatora dušika od velikog je značaja za uspjeh predsjetvene bakterizacije mahunarki. Cilj istraživanja bio je procijeniti simbioznu učinkovitost autohtonih sojeva kvržičnih bakterija koje noduliraju soju te utvrditi kompatibilnost s dvije sorte. U vegetacijskom pokusu testirani su autohtoni sojevi *Bradyrhizobium japonicum* izolirani iz različitih regija Hrvatske te dvije sorte soje, AFZG Ana i Gabriela. U fazi pune cvatnje određivan je broj kvržica po biljci, masa suhe tvari kvržica po biljci, masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke te sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke. Analizom dobivenih rezultata utvrđene su signifikantne razlike za pojedina istraživana svojstva ovisno o primijenjenom soju kvržičnih bakterija kao i sorti soje. Utvrđena je kompatibilnost između svih autohtonih sojeva i referentnog soja s ispitivanim sortama soje. Istraživanje je pokazalo da je primjena autohtonog soja 126F izoliranog s područja Istarske županije rezultirala signifikantno najvećim brojem kvržica po biljci, najvećom masom suhe tvari kvržica po biljci i najvećom masom suhe tvari nadzemnog dijela biljke. Međutim, najveći sadržaj dušika u nadzemnom dijelu biljke utvrđen je uz primjenu autohtonih sojeva 134A i 95, izoliranih s područja Istarske županije i Koprivničko-križevačke županije, a između kojih nema statistički opravdanih razlika. Primjena autohtonih sojeva *B. japonicum* rezultirala je signifikantno boljom nodulacijom, masom suhe tvari nadzemnog dijela biljke i sadržajem ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke u odnosu na referentni soj. Dobiveni rezultati pokazuju da primijenjeni autohtoni sojevi posjeduju veću simbioznu učinkovitost od referentnog soja, a posebno autohtoni sojevi 126F, 134A i 95 s kojima je potrebno provesti daljnja istraživanja.

Ključne riječi: simbiozna fiksacija dušika, soja, autohtoni sojevi, *Bradyrhizobium japonicum*

Summary

Of the masters's thesis – student **Andrijana Galić**, entitled

SYMBIOTIC EFFICIENCY OF INDIGENOUS *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* STRAINS ISOLATED FROM DIFFERENT REGIONS OF CROATIA

Symbiotic nitrogen fixation has significant role in agricultural production and occurs as a result of the symbiotic interaction between nodular bacteria and legumes. It is used by inoculation and the selection of high-quality strains of symbiotic nitrogen fixators is of a great importance for the success of the inoculation. The aim of this study was to evaluate the symbiotic efficiency of indigneous soybean rhizobia and to determine compatibility with two soybean cultivars. In vegetation pot experiment, indigenous *Bradyrhizobium japonicum* strains isolated from different regions of Croatia and two soybean cultivars, AFZG Ana and Gabriela were tested. In full blossom stage, nodule number, nodule dry weight, dry matter weight of soybean aerial parts and total nitrogen content in soybean aerial part were determined. Based on the results obtained, significant differences were found for some examined characteristics depending on the applied strain of nodule bacteria as well as soybean cultivars. The research has shown that the application of indigenous strain 126F, isolated from the Istrian County, resulted in significantly highest nodule number, the highest nodule dry weight and the highest dry matter weight of soybean aerial parts. However, the highest nitrogen content in soybean aerial part was determined by the application of indigenous strains 134A and 95, isolated from the Istrian County and Koprivnica Križevci County, among which statistically significant differences were not determined. The application of indigenous *B. japonicum* strains resulted in significantly better nodulation, highest dry matter weight of soybean aerial part and highest nitrogen content in soybean aerial part from the reference strain. The results obtained show that the applied indigenous *B. japonicum* strains possess higher symbiotic efficiency in comparsion to reference strain, and especially indigenous strains 126F, 134A and 95 which needed to be further characterized.

Keywords: symbiotic nitrogen fixation, soybean, indigenous strains, *Bradyrhizobium japonicum*

1. Uvod

Današnji razvoj poljoprivredne proizvodnje temeljen na principima održive poljoprivrede, zasniva se na prilagodbi agroekosustava stanišnim čimbenicima nekog područja, optimalnom korištenju bioloških i kemijskih izvora u agroekosustavu i očuvanju prirodnih resursa. Jedan od glavnih čimbenika ove proizvodnje je učinkovito iskorištavanje dušika iz okoline, a racionalna gnojidba dušikom je glavna pretpostavka održive poljoprivredne proizvodnje (Redžepović i sur. 2007.). Dušik utječe na proizvodnju organske tvari biljaka, time i na njihov biološki i poljoprivredni prinos, a ujedno je i energetski najvrjedniji element. S druge strane, u tlu se odvija mikrobiološki proces koji je iznimno značajan za tlo, a naziva se biološka fiksacija dušika (Mihalina i sur. 2007.). Usvajanje elementarnog dušika iz zraka ograničeno je na nekoliko rodova prokariotskih mikroorganizama (cijanobakterije i bakterije) koji žive slobodno u tlu i vodama (asimbiozni), na samoj površini korijena (asocijativni) ili u zajednici s određenim eukariotskim organizmima (simbiozni). Zajednička osobina svih mikroorganizama koji imaju sposobnost korištenja velikih rezervi atmosferskog dušika je što imaju takav enzimski sustav (nitrogenaza) koji im omogućuje redukciju elementarnog dušika do amonijaka (Sikora, 1996.). Najveći doprinos biološkoj fiksaciji dušika i obogaćivanju tla ostvaruje se u simbioznom odnosu između mahunarki i kvržičnih bakterija (rizobija) s time da su najznačajniji rodovi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* i *Sinorhizobium* (Vance 1996.). Kod mahunarki značajno mjesto pripada soji (*Glyicine max* (L.) Merrill), biljci koja je izuzetno bogata proteinima i koja po jedinici priroda zrna treba četiri puta više dušika od žitarica (Hardy i Havelka 1975.). Primjenom predsjetvene bakterizacije sjemena soje omogućuje se značajni unos biološki vezanog dušika i na taj način moguće je znatno reducirati primjenu skupog mineralnog dušika (Redžepović i sur. 2006.; 2007.).

Važno je odabrati najkvalitetnije sojeve simbioznih fiksatora dušika koji će se koristiti za bakterizaciju soje na određenom području. Međutim, često u tlu mogu postojati i prirodne populacije simbioznih fiksatora dušika čija su svojstva uglavnom nepoznata. Pretpostavka je da se u tlima Hrvatske nalaze autohtoni sojevi koji se međusobno razlikuju po cijelom nizu svojstava pa tako i po simbioznoj učinkovitosti. Zbog toga, identifikacija i karakterizacija autohtonih sojeva simbioznih fiksatora dušika ima velik značaj u primjeni što je dokazano u mnogim istraživanjima (Sikora i sur. 2002.; Hungria i sur. 2003.; Bradić i sur. 2003.; Germano i sur. 2006.)

2. Pregled literature

2.1. Biološka fiksacija dušika

Obzirom na to da postoje dva osnovna načina vezanja atmosferskog dušika – abiotski i biotski, za poljoprivrednu proizvodnju je važna biotska, odnosno biološka fiksacija dušika.

Biološkom fiksacijom dušika osiguravaju se biljkama dovoljne količine dušičnog hranjiva, a u potpunosti se udovoljava zahtjevima gospodarenja tlom kao što su produktivnost, sigurnost, zaštita prirodnih resursa te ekonomičnost (Redžepović i sur. 2007.). Mikroorganizmi u ovom procesu usvajaju elementarni dušik iz atmosfere te ga preko enzima nitrogenaze reduciraju do amonijaka koji se kasnije koristi za sintezu proteina. Biološka fiksacija dušika predstavlja izuzetno značajnu fazu u procesu kruženja dušika u prirodi jer se na ovaj način godišnje unese u tlo otprilike 175 milijuna tona dušika (Burns i Hardy 1975.) što iznosi preko 70% od ukupno fiksiranog dušika na zemlji svake godine.

Prema odnosu mikroorganizama i biljaka, biološku fiksaciju dijelimo na asimbioznu u kojoj mikroorganizmi žive slobodno u tlu i vodama, asocijativnu u kojoj žive na površini korijena biljke te simbioznu gdje žive u zajednici s određenim biljkama (Komesarović 2006.).

2.1.1. Simbiozna fiksacija dušika

U odnosu na asimbioznu i asocijativnu fiksaciju, simbiozna fiksacija dušika ima daleko veću važnost za poljoprivrednu proizvodnju, a obilježava je stvaranje simbioze između pojedinih specifičnih mikroorganizama i određenih biljaka. Rezultat takvog odnosa je stvaranje kvržica (nodula) na korijenju biljaka mahunarki u kojima se odvija proces simbiozne fiksacije atmosferskog dušika (Komesarović 2006.).

Simbioza između leguminoznog bilja i kvržičnih bakterija značajno doprinosi održivosti poljoprivrednih sustava jer čini najvažniji izvor biološki fiksiranog dušika (Zahran 1999; Laranjo i sur. 2014.).

Simbiozni odnos temelji se na uzajamnoj koristi oba člana simbioze. Sposobnost fiksacije atmosferskog dušika proizilazi iz simbiotskih interakcija između mahunarki i bakterija u kojem mahunarke kroz produkte fotosinteze opskrbljuju bakterije ugljikom odnosno energijom, dok zauzvrat bakterije opskrbljuju mahunarke dušikom uglavnom u

obliku amonijaka (Howard i Rees 1996.). Prema tome, bakterije koriste translocirane produkte fotosinteze biljaka te se na taj način opskrbljuju nutrijentima koji predstavljaju izvor energije potrebne za procese fiksacije atmosferskog dušika, dok se biljke opskrbljuju novonastalim proizvodima fiksacije dušika, odnosno reduciranim dušikom u obliku amonijaka. Unutar potpuno razvijenih kvržica odvija se proces simbiozne fiksacije dušika i izmjena hranjiva između oba partnera simbioze (Mylona i sur. 1995.).

Tate (1995.) navodi da simbioza između bakterija iz rodova *Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium, Azorhizobium* i *Mesorhizobium* s većinom biljaka iz porodice *Fabaceae* predstavlja primarni izvor fiksiranog dušika u svim kopnenim sustavima I može osigurati više od polovice fiksiranog dušika iz bioloških izvora.

Posljednjih godina pažnja je usmjerena na proučavanje prirodnih populacija simbioznih fiksatora dušika (Galli-Terasawa i sur. 2003.; Sikora i sur. 2002.; Sikora i Redžepović 2003.) kao i na selekciju učinkovitih sojeva i pronalaženje najkvalitetnije simbiozne zajednice sorata soje i sojeva *B. japonicum* (Redžepović i sur. 1990.; 1991.; Sikora i Redžepović 2000.). Maksimalnim iskorištavanjem prirodnog procesa simbiozne fiksacije dušika povećala bi se proizvodnja proteina u sjemenu, smanjili troškovi proizvodnje soje, a potrošaču ponudili jeftiniji i s gledišta prehrane, biološki vrjedniji proizvodi (Lynch i Smith 1993.; Harper 1999.; Redžepović i sur. 1990.; 1991.; Sikora i Redžepović 2000.).

2.1.1.1. Procesi prepoznavanja kvržičnih bakterija i mahunarki

Simbiozna fiksacija dušika se inicira i odražava aktivnom izmjenom kemijskih signala između biljke domaćina i bakterija tla (Fox i sur. 2007.). Sojevi simbioznih fiksatora dušika razlikuju se u genetskim i fenotipskim karakteristikama što značajno utječe na njihovu učinkovitost, kompetitivnost i infektivnost (Blažinkov 2006.). Genetski faktori oba simbionta sudjeluju u stvaranju simbioznog odnosa koji započinje međusobnim prepoznavanjem bakterije i biljke nakon čega slijedi infekcija biljaka bakterijama, što na kraju rezultira formiranjem kvržica na korijenovom sustavu biljaka unutar kojih će se odvijati procesi simbiozne fiksacije atmosferskog dušika (Topol i Kanižai-Šarić 2013.).

Simbioza između kvržičnih bakterija (rizobija) i biljaka može biti više ili manje specifična, što znači da će pojedine vrste bakterija stvarati simbiozne odnose samo s jednom

ili nekoliko vrsta mahunarki. Upravo zbog toga, proces prepoznavanja je osnova za stvaranje simbioznih odnosa kao i za samu simbioznu fiksaciju dušika.

Rizobije sadrže nodulacijske gene, odnosno nod gene odgovorne za stvaranje bakterijskih signalnih molekula Nod faktora, koji su odgovorni za prepoznavanje točno određene vrste bakterija i mahunarki (Topol i Kanižai-Šarić 2013.). Ti geni se ekspresioniraju samo kod bakterija koje će stvoriti simbiozni odnos s mahunarkom (Mylona i sur. 1995.; Garg i Renseigné 2007.)., a iznimka tome je konstitutivni gen nodD. Taj gen ima sposobnost vezanja na specifične flavonoide koje izlučuje korijen biljke domaćina (Goethals i sur. 1992.), a potom postaje transkripcijski aktivator drugih nod gena (Fisher i Long 1992.), Proizvod transkripcije nod gena su signalne molekule Nod faktori koji zapravo predstavljaju reakciju ili odgovor bakterija na fitokemijske signalne biljke (Goethals i sur. 1992.; Garg i Renseigné 2007.). Bakterijske Nod faktore prepoznaju specijalizirani receptori na korijenu, što rezultira iniciranjem razvoja kvržica na korijenovom sustavu biljke domaćina (Perret i sur. 2000.; Spaink 2000.). Nod faktor djeluje kao začetnik formiranja kvržica jer pokreće cijeli niz procesa za njihov razvoj i ulazak rizobija u korijen biljke (Long 2001.; Gage 2004.).

2.1.1.2. Infekcija korijena i nodulacija

Proces infekcije slijedi nakon procesa prepoznavanja, koji je omogućio prve interakcije i međusobno prepoznavanje odgovarajućih vrsta bakterija i mahunarki. Infekcija je regulirana vrlo složenim kemijskim komunikacijama između odgovarajućih vrsta bakterija i mahunarki. Bakterije koloniziraju korijenov sustav mahunarki te se pričvršćuju na njegovoj površini. Pri tome, bakterije stvaraju Nod faktore koji su od osnovne važnosti za proces infekcije jer iniciraju i reguliraju pojedine faze ovog procesa. Kod biljaka dolazi do aktivacija i ekspresija gena koji im omogućuju pokretanje reakcija i procesa koji su neophodni za uspješnu infekciju, nodulaciju pa i samu simbioznu fiksaciju dušika (Garg i Renseigné 2007.).

Kada se bakterije pričvrste na vrh korijenovih dlačica, dolazi do uvijanja njihovih vrhova te na taj način bakterijske stanice ostaju zarobljene. Na tom mjestu dolazi do razgradnje stanične stijenke biljne stanice, do uvijanja plazma membrane te nakupljanja i ugradnje novih materijala u membranu. Ovo rezultira formiranjem potpuno nove strukture, takozvane infekcijske niti, pomoću koje bakterije ulaze u biljku (Mylona i sur. 1995.).

Infekcijsku nit stvaraju stanice korijena mahunarki kao reakciju na infekciju bakterijama. Širenjem i grananjem infekcijske niti koja sadrži bakterije dolazi do širenja infekcije kroz tkiva korijena. Bakterije unutar infekcijske niti intenzivno se dijele i neprestano stvaraju Nod faktore koji potiču diobu stanica unutar korijena što rezultira stvaranjem primordijalnih kvržica (Ferguson i sur. 2010.).

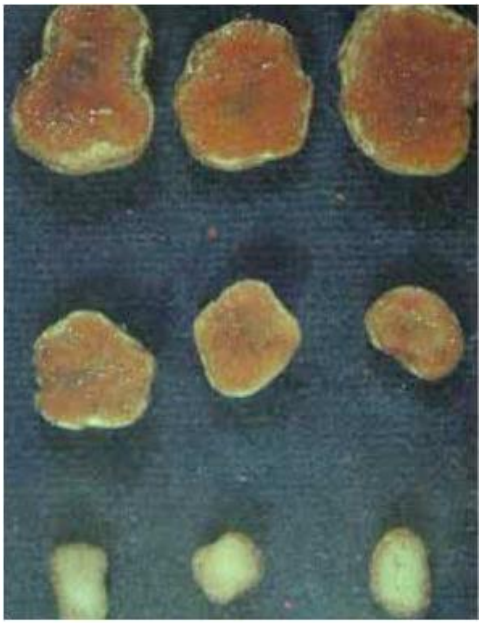
Bakterije iz infekcijske niti se otpuštaju u citoplazmu biljne stanice gdje se odmah okružuju peribakteroidnom membranom koju stvara biljna stanica (Mylona i sur. 1995.). Bakterije se dalje intenzivno dijele te se transformiraju u bakteroide, oblik koji ima sposobnost fiksacije atmosferskog dušika (Oke i Long 1999.). Bakteroidi zajedno s peribakteroidnom membranom koja ih okružuje nazivaju se simbiosomi (Mylona i sur. 1995.).

Nodulacija završava razvojem primordijalnih kvržica na korijenovom sustavu mahunarki u potpuno zrele kvržice unutar kojih se odvija proces fiksacije atmosferskog dušika (Mylona i sur. 1995.; Lindemann i Glover 2003.).

2.1.1.3. Vrste, raspored i karakteristike kvržica

Mahunarke možemo podijeliti na jednogodišnje i višegodišnje vrste pa prema tome postoje razlike između kvržica na jednogodišnjim i višegodišnjim mahunarkama. Kvržice na višegodišnjim mahunarkama manjih su dimenzija, nepravilnog oblika i uglavnom su smještene na glavnom korijenu biljke. Kvržice višegodišnjih mahunarki dugog su vijeka i fiksirat će dušik tijekom cijele sezone rasta (Lindemann i Glover 2003.). Za razliku od toga, kvržice na jednogodišnjim mahunarkama su veće, okruglog su oblika te su raspoređene po cijelom korijenu biljke. Kvržice jednogodišnjih mahunarki su kratko živuće i neprestano će se izmjenjivati tijekom cijele sezone rasta (Lindemann i Glover 2003.).

Razlikujemo također učinkovite i neučinkovite kvržice što je prikazano na slici 1. Učinkovite kvržice su uglavnom velike, nalaze se na primarnom i gornjem lateralnom korijenju te su na presjeku crvene boje koja potječe od pigmenta leghemoglobina, koji je povezan s aktivnim vezanjem dušika u kvržicama mahunarki. Za razliku od učinkovitih, neučinkovite kvržice su male i često raspoređene po cijelom korijenovom sustavu i njihova je unutrašnjost bijele do blijedo zelene boje (Slika 1).



Slika 1. Učinkovite (prvi red odozgo), manje učinkovite i neučinkovite kvržice

Izvor:

https://agro.basf.ca/West/KnowledgeCenter/AgSolutionsAdvisor/CurrentIssue/PulsesEditionNov/buildupPulses.html

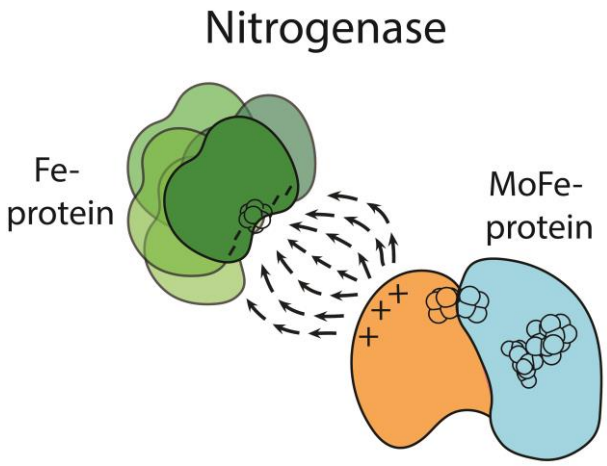
Kvržice mahunarki koje više ne fiksiraju atmosferski dušik, postepeno mijenjaju boju u zelenkastu nakon čega ih biljka čak može odbaciti. U sredini sezone rasta na korijenu mahunarki trebale bi dominirati kvržice koje su na presjeku ružičaste ili crvene boje. Ali ako dominiraju bijele, sive ili zelene kvržice, fiksacija dušika je slaba, što može biti rezultat infekcije i nodulacije s neučinkovitim sojem kvržičnih bakterija, nedovoljne ishrane biljke, razvoja mahune ili nekog drugog uzroka stresa biljke (Lindemann i Glover 2003.).

Kod mahunarki razlikujemo dva morfološka tipa kvržica, a to su nedeterminantne i determinantne kvržice (Garg i Reneseigne 2007.). Kvržice koje zadržavaju svoj vršni meristem te neprestano razvijaju novo inficirano tkivo su nedeterminantne. Cilindričnog oblika su zrele kvržice unutar kojih je vidljiva zonalnost odnosno različiti stadiji simbioznog razvoja. Determinantne kvržice se stvaraju pod utjecajem simbioznih bakterija tako da se stanice vršnog meristema u potpunosti diferenciraju kad kvržica postigne konačnu veličinu. Kada su kvržice zrele, okruglog su oblika, a razvojni stadij unutar kvržice je uniforman (Garg i Reneseigne 2007.).

2.1.1.4. Enzim nitrogenaza

Za proces fiksacije dušika, enzim nitrogenaza ima glavnu ulogu jer je jedini enzim koji može konvertirati atmosferski dušik u biološki iskoristivi amonijak, a sastoji se od dvije komponente. Prva komponenta uglavnom sadrži kompleks željezo/sumpor/molibden, odnosno kompleks MoFe – protein (Slika 2) koji je aktivan i odgovoran za denitrogenazu reduktazu, a može sadržavati i manje uobičajen kompleks željezo/sumpor koji se naziva P - klaster (Dean i sur. 1993.).

Druga komponenta se označava kao Fe - protein (Slika 2) i sastoji se od jednog 4Fe-4S kompleksa po dimeru koji prenosi elektrone do prve komponente, popraćen hidrolizom od maksimalno dva ATP-a do ADP-a. S obzirom da je ovaj proces energetski vrlo zahtjevan, slobodno živući organizmi reguliraju ekspresiju gena nitrogenaze (Berger i sur. 1994.) kao i samu aktivnost nitrogenaze (Ludden i Roberts 1988.).



Slika 2. Enzim nitrogenaza

Izvor: http://tezcan.ucsd.edu/index.php/2016/02/15/evidence-for-functionally-relevant-encounter-complexes-in-nitrogenase-catalysis/

Oba proteina nitrogenaze su jako osjetljiva na kisik pa su aerobne bakterije razvile različite mehanizme za zaštitu nitrogenaze. Među članovima roda *Azotobacter* postoje tri mehanizma u koje ubrajamo respiratornu zaštitu, konformacijsku zaštitu te regulaciju kisika tijekom sinteze nitrogenaze (Kennedy i Toukdarian 1987.).

2.1.1.5. Značaj simbiozne fiksacije dušika

Osim što se poljoprivredna tla obogaćuju dušikom (Fox i sur. 2007.) simbioznom fiksacijom dušika poboljšavaju se fizikalna, kemijska i biološka svojstva tla, održava se plodnost tla i omogućuje kulturama korištenje biološki vezanog dušika (Štafa i sur. 1999.). Uzgojem leguminoznih usjeva smanjuje se količina mineralnih gnojiva koje treba aplicirati, a osim što se simbioznom fiksacijom dušika osiguravaju biljkama dovoljne količine dušičnog hranjiva, u potpunosti se udovoljava zahtjevima gospodarenja tlom (Redžepović i sur. 2007.).

Zahvaljujući ovoj fiksaciji nije potrebno unositi dušična mineralna gnojiva te se nekim biljnim vrstama biološkom fiksacijom osigurava i do 50% potrebnog dušika (Heichel 1987.; Bohlool i sur. 1992.), a osim ekonomske koristi, ima koristiti i za ekologiju okoliša (Fox i sur. 2007.).

Primjenom bakterizacije u uzgoju mahunarki može se povećati učinkovitost procesa simbiozne fiksacije dušika i samim time povećati količina fiksiranog dušika. Kako navode Deaker i sur. (2004.) bakterizacija predstavlja vrlo učinkovitu metodu kojom se efikasni sojevi kvržičnih bakterija uvode u tlo, odnosno rizosferu.

Uz bakterizaciju, danas se svestrano radi na selekciji visoko kvalitetnih sojeva koji fiksiraju dušik, na prenošenju gena iz fiksatora dušika u druge mikroorganizme, razvoju vrhunskih sorti mahunarki i poboljšanju postojeće poljoprivredne prakse, a sve to u cilju što boljeg iskorištavanja biološke fiksacije dušika (Becker i sur. 1995.).

2.2. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill)

Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) jednogodišnja je kultura koja pripada porodici *Fabaceae*. To je biljka s dobro definiranom glavnom stabljikom i granama s brojnim lišćem (Appiah-Kubi 2012.). Jedna je od značajnijih kultura u svijetu te je danas glavna bjelančevinasta i uljna kultura, čije se sjeme koristi kao izvor jestivih ulja i bjelančevina kako za ishranu ljudi tako i za ishranu stoke. Proizvodnja soje razvila se u brojnim zemljama u svijetu gdje je postala integralni dio njihove moderne poljoprivrede u sustavu hrane (Vratarić i Sudarić 2008.).

Ova kultura izvorno potječe iz Azije, a danas se sije u više od 60 zemalja koje imaju uvjete za proizvodnju i unaprjeđenje njezine proizvodnje. Na području Hrvatske soja se prvi puta pojavljuje u 19 stoljeću, a postupno se interes za proizvodnju soje počeo povećavati te se 2000. godine udvostručila površina pod sojom na preko 50 000 ha. Slavonija i Baranja su područja u Hrvatskoj koja imaju najbolje agroekološke uvjete gdje je na malim obiteljskim gospodarstvima prosječni urod sjemena niži (2300 kg/ha) nego na velikim posjedima (2640 kg/ha). Zato se mora uzeti u obzir da je soja specifična biljka koja je daleko složenija i zahtjevnija za proizvodnju od mnogih drugih ratarskih kultura te da ona traži obučene proizvođače i primjenu svih tehnoloških mjera u optimumu (Vratarić i Sudarić 2008.).

Značaj i važnost soje proizlaze iz kakvoće njezinog sjemena koje sadrži 35-50% bjelančevina te 18-24% ulja, ovisno o sorti i uvjetima uzgoja (Slika 3).



Slika 3. Sjeme soje
Izvor: https://rwa.hr/dh-5170-nova-vrhunska-sorta-soje/

Bjelančevine iz sjemena soje bogate su esencijalnim aminokiselinama, a posebno lizinom i metioninom. Kvalitetom bjelančevina i visokim sadržajem ulja nadomjestak je za meso te je važna hrana rastućoj svjetskoj populaciji koja je na našoj planeti već nadmašila sedam milijardi, a procjenjuje se da će za 25 godina narasti na 9,5 milijardi.

Također treba istaknuti agrotehnički značaj soje kao leguminoze u plodoredu jer ona s bakterijama *B. japonicum* na korijenu obogaćuje tlo dušikom u količini od 40 do 75% koja varira u zavisnosti od tipa zemljišta i ostalih biotičkih i abiotičkih čimbenika (Miladinović i sur. 2008.; Popović 2010.).

2.2.1. Morfološka svojstva soje

Ovisno o sorti i čimbenicima vanjske sredine soja je jednogodišnja biljka s variranjem u morfološkim svojstvima.

Tako je sjeme soje različitog oblika, veličine i boje što ovisi o sorti i načinu uzgoja te agroekološkim čimbenicima pa je kod većine sorata u komercijalnoj proizvodnji masa tisuću zrna od 150 do 200 grama (Vratarić i Sudarić 2008.). Može biti okruglog ili spljoštenog oblika, a izgrađuju ga hilum, halaza, hipokotil, mikropila te sjemenska ljuska. Hilum prema Enkenu (1959.) predstavlja trag funculusa kroz koji, za vrijeme rasta, prolazi provodni snop koji sjedinjuje sjemenku sa stijenkama mahune.

Biljka soje razlikuje se u površini korijenskog sustava i njegovoj masi suhe tvari kod pojedinih sorata, a velik utjecaj imaju i drugi vanjski čimbenici (Carlson 1973.; Kaspar 1985.). Korijenski sustav sastoji se od jakog glavnog vretenastog korijena i velikog broja sekundarnog korijenja, rasprostranjenog u različitim dubinama, a na kojem se razvijaju kvržice s kvržičnim bakterijama *B. japonicum* (Slika 4) (Vratarić i Sudarić 2008.).



Slika 4. Korijen soje s kvržicama
Izvor: Galić, 2017. (foto original)

Kvržice se počinju stvarati na korijenu soje od trenutka infekcije korijena bakterijama *B. japonicum* kroz korjenove dlačice. Nakon četiri tjedna od infekcije promjer kvržica je najveći i fiksiranje dušika je intenzivno. Na aktivnost sojinih bakterija utječu fizikalna i kemijska svojstva tla, posebno pH tla jer se bakterije slabo razvijaju u kiselim tlima, zatim klimatski čimbenici u vidu temperature i oborina, prozračnost tla, agrotehnika i gnojidba tla.

2.2.2. Agroekološki uvjeti uzgoja soje

Primarni vanjski čimbenici koji utječu na urod soje su temperatura, svjetlost, tlo, klima i vlaga. Sorta ima genetski potencijal rodnosti, a ekološki čimbenici određuju u kojoj mjeri će genetski potencijal rodnosti biti realiziran (Vratarić i Sudarić 2008.).

2.2.2.1. Temperatura

Soja tijekom razvoja ima određene zahtjeve za toplinom koja joj je potrebna za odvijanje mnogobrojnih životnih procesa, od klijanja sjemena do zriobe kompletne biljke koji su prikazani u tablici 1. (Vratarić i Sudarić 2007.). Kako navodi Sunj Sin Dun (1958.) biljke soje zahtijevaju različitu količinu topline ovisno o fazama rasta i razvoja. Prema ovom autoru

minimalne temperature za klijanje soje su 6 – 7 °C za određene vrste soje, dovoljne 12 – 14 °C, a optimalne 15 – 25 °C.

Tijekom intenzivnog rasta, soja zahtjeva relativno visoku temperature (20 – 25 °C) dok niske temperature u stadiju cvatnje i sazrijevanja odgađaju zriobu, a ispod 14 °C prestaje svaki rast. Utjecaj temperature je važan za rast korijenskog sustava i apsorpciju pojedinih hraniva kao i na razvoj lisne mase pa je tako pri temperaturi do 30 °C masa korijena najveća, a razvoj listova se povećava porastom temperature u rasponu od 18 – 30 °C (Ciha i Brun 1975.).

Tablica 1. Zahtjevi soje za temperaturom (°C) tijekom različitih faza razvoja soje (Holmberg 1973.)

Temperatura (°C)			
Faze razvoja	**Minimalna**	**Dovoljna**	**Optimalna**
Klijanje	6-7	12-14	20-22
Sjetva-nicanje	8-10	15-18	20-22
Formiranje reproduktivnih organa	16-17	18-19	21-23
Cvatnja	17-18	19-20	20-25
Formiranje zrna	13-14	18-19	21-23
Zrioba	8-9	14-18	19-20

2.2.2.2. Svjetlost

Iako je soja biljka kratkog dana, važnost svjetla za soju je velika. Prema Kupermanu (1968.) spektralni sastav svjetla je važan za diferenciranje cvjetova, a Molnar (1998.) navodi da dugovalno crveno-narančasto svjetlo usporava dok kratkovalno plavo-ljubičasto ubrzava cvatnju. Intenzitet svjetla utječe na veličinu i masu kvržica na korijenu soje pa ako ima dovoljno svjetla kvržice su krupnije te imaju veću masu i povećanu moć fiksacije dušika.

Garner i Allard (1930.) uvrstili su soju u biljku kratkog dana putem preciznih istraživanja da utjecaj dužine dana, odnosno reakcija soje na dužinu dana i spoznaja da početak cvatnje ovisi o dužini trajanja dnevnog osvjetljenja. To znači da je vrsti potreban kratki dan, kraći od „kritične dužine" dana, odnosno potrebno joj je od 12 do 14 sati za prelazak iz vegetativnog u generativni stadij. Najvažniji učinak dužine svjetla na razvoj soje je taj što svjetlo inicira početak cvatnje. Prema Cooperu (2003.) važan je početak cvatnje biljaka soje i njeno odgađanje je glavna barijera za postizanje visokih uroda sjemena. Prelazak

iz vegetativne u generativnu fazu razvoja soje u velikoj mjeri ovisi o broju sati dnevnog osvjetljenja koje biljka prima svaki dan.

Svjetlo značajno utječe na morfološke osobine soje uzrokujući promjene u vremenu cvjetanja i zriobe, dalje uzrokuje razlike u visini biljaka, visini do prve mahune, površini lista, polijeganju i drugim osobinama. Također, funkcioniranje fotosintetskog mehanizma ovisi o svjetlosti koja dalje utječe na fiksaciju dušika (N), ukupnu proizvodnju suhe tvari, urod sjemena i slično (Vratarić i Sudarić 2007.).

2.2.2.3. Tlo

Proizvodna područja uzgoja soje imaju duboka, plodna tla, a upravo ova biljka najbolje uspijeva na dubokim, strukturnim, plodnim tlima koja su bogata humusom i imaju dobre vodozračne odnose i pH vrijednost 7. To ne znači da soja ne može uspjeti i na tlima slabije kvalitete ako imaju dovoljno vode tijekom cijele vegetacije (Vratarić i Sudarić 2007.). Soja ima čvrst i jak korijen i za njegov razvoj, a posebno za razvoj kvržičnih bakterija na korijenu, potrebno je da tlo nije niti kiselo niti slano, da su vodozračni odnosi povoljni, a hranjiva dovoljna u pristupačnom obliku. S obzirom da određene sorte soje imaju različite zahtjeve za tlo, prilikom selekcije soje radi se na stvaranju sorata pogodnih za alkalna tla i jako kisela tla te tla manje opskrbljena hranjivima. Do sada su stvorene sorte manje osjetljive na klorozu te sorte koje mogu podnijeti viši pH (Fehr i sur. 1987.).

Velik utjecaj na proizvodnju soje ima i plodnost tla. Hrvatski autori (Jurić i sur., 1986.; Kovačević i sur. 1990.; Tomić 1992.; Mađar i Dadić 1993.) navode da su oranice istočne Hrvatske različitog nivoa plodnosti, ali da su pogodnije za ratarsku proizvodnju od oranica u zapadnom dijelu Hrvatske, ponajviše zbog kisele reakcije tla na zapadnim područjima. Da bi se izbjegle ovakve razlike u nivou plodnosti tla od velikog značaja je prilagođena gnojidba tla.

Tako se na slabijim plodnim tlima mora više pažnje posvetiti gnojidbi kako bi se dobili zadovoljavajući urodi, dok se na srednje plodnim tlima postižu urodi kao na plodnim tlima u aridnoj zoni.

2.2.2.4. Klima

Obzirom na to da je područje rasprostranjenosti soje jako veliko, soja može uspjeti u uvjetima tropske, suptropske, umjerene i kontinentalne klime što joj omogućuje veliki broj sorata različitih grupa zriobe (Vratrić i Sudarić 2007.). Ako su agroekološki uvjeti zadovoljeni nadmorska visina nema veliki utjecaj pa se tako soja uspješno uzgaja na 2000 metara nadmorske visine u tropskom pojasu. Također se soju pokušalo uzgojiti i u hladnijim područjima, u umjerenom pojasu na visokim nadmorskim visinama (Soldati i Keller 1985.; Soldati 1995.).

2.2.2.5. Vlaga

Prema Vratarić i Sudarić (2008.) jedan od osnovnih činitelja koji limitira biljnu proizvodnju je voda. Za vrijeme rasta služi za prenošenje hranjivih elemenata i proizvoda izmjene tvari iz pojedinih tkiva i organa u druga tkiva i organe te također omogućuje izmjenu raznih enzimskih procesa. Voda ima jako veliki utjecaj na rast i razvoj soje pa je prema tome stres izazvan sušom najozbiljniji limitirajući faktor u njezinoj proizvodnji (Popović i sur. 2015.). Deficit vode i ishrane te visoke temperature izazivaju abiotički stres kod soje. Jako je osjetljiva na nedostatak vode pogotovo u fazi cvjetanja i formiranja mahuna. U takvom sušnom periodu razvoja prinos soje se može smanjiti za 32 do 42%. U sušnim uvjetima soja odbacuje cvjetove i dolazi do velikog smanjenja oplodnje, a samim time i do značajno nižih prinosa. Kako navodi Popović (2010.) biljke soje koje su izložene suši (Slika 5) i visokim temperaturama proizvode manje mahuna, manji broj sjemena u mahuni, nižu masu sjemena te je krajnji rezultat laboratorijska i poljska klijavost sjemena. .



Slika 5. Soja pod utjecajem suše
Izvor: http://www.poljomagazin.com/?p=35112

Soja u svim fazama rasta i razvoja ima određene zahtjeve prema vodi. Za vrijeme klijanja, sjeme soje treba apsorbirati 50% više vode od svoje mase da bi moglo klijati. S druge strane, u procesu klijanja suvišna voda može biti štetna jednako kao i njezin manjak uslijed duge suše koja također nepovoljno djeluje na razvoj kvržičnih bakterija (Vratarić i Sudarić 2007.). Također, prevelika vlažnost negativno utječe na rast biljke. Višak vode u tlu blokira zrak te je na taj način kisik korijenu nedostupan. Posljedica viška vode je i usporeni rast biljke soje, a osim toga stvoreni su i uvjeti za rast i razvoj mnogih patogena (Vratarić i Sudarić 2008.).

U područjima gdje nema uvjeta za natapanje soja bi se trebala uzgajati na terenima koji su bogatiji oborinama tijekom vegetacije soje i gdje relativna vlaga zraka, tijekom kritičnih razdoblja rasta i razvoja soje, ne pada ispod optimalnih vrijednosti od 70 do 80% (Molnar i sur. 1982.). Prema istom autoru treba se pobrinuti da i ostali ekološki čimbenici budu optimalni tako da kultura lakše izdrži sušu s manje štetnih posljedica na urode sjemena.

2.2.3. Tehnologija proizvodnje soje

Za postizanje stabilnih i visokih uroda soja kao specifična kultura zahtijeva potpuno poštivanje agrotehnoloških mjera (Vratarić i Sudarić 2008.). Glavne agrotehničke mjere o kojima ovisi urod sjemena soje su plodored, obrada tla, sjetva, njega i žetva.

2.2.3.1. Plodored

Kao jedna od preventivnih mjera očuvanja zdravstvenog stanja, plodored je sve važniji zbog porasta bolesti soje, posebno gljivičnih bolesti. Obzirom da se te bolesti prenose i putem tla, primjenom pravilnog plodoreda velikim se dijelom može smanjiti intenzitet njihove zaraze. Važnost plodoreda se očituje i na način da biljka ovim putem puno učinkovitije iskorištava biljna hranjiva. Butorac (1999.) navodi da različite kulture u plodoredu različito iskorištavaju hranjiva iz tla.

Soja, kao jedan od najboljih predusjeva za mnoge ratarske kulture, putem kvržičnih bakterija veže dušik iz zraka i obogaćuje tlo organskom tvari. Njezin korijenski sustav prodire duboko u tlo te time poboljšava fizikalna svojstva i čuva vlagu, a sve to skupa utječe na porast uroda sljedeće kulture (Vratarić i Sudarić 2008.). Iako soja uglavnom nije osjetljiva na predusjev te se prema Pendleton i Hartwig (1973.) i Vratarić i Sudarić (2000.) može sijati u

monokulturi, a Molnar (1999.) navodi da su urodi zrna soje sigurniji u plodoredu nego u monokulturi.

Činjenica je da su urodi zrna uvijek veći kada se soja uzgaja u plodoredu, a osim toga soja redovito ostavi nešto dušika u plodoredu za sljedeću kulturu koja time može reducirati potrebu za dušičnim gnojivima (Vratarić i Sudarić 2008.).

2.2.3.2. Obrada tla

Važan čimbenik za uspjeh proizvodnje je i obrada tla. Obradom tla, odnosno oranjem, osiguravaju se normalni uvjeti za rast i razvoj biljaka u proizvodnji soje (Vratarić i Sudarić, 2008.). U slučaju pravilne obrade tla stvara se povoljna struktura, potiče se biološka aktivnost i biljna hranjiva postaju pristupačnija te se popravljaju fizička, kemijska i biološka svojstva tla. Prozračnost tla se popravlja obradom pomoću koje se pospješuju biokemijski procesi u tlu te stvaranje i rad kvržica na korijenju koje služe za fiksaciju dušika (N). Prema Vratarić i Sudarić (2008.) obradu tla za soju dijelimo na osnovnu ili temeljnu, dopunsku ili predsjetvenu pripremu tla i obradu tla nakon nicanja usjeva (kultivacija). Prilikom obrade tla treba paziti na vrijeme obrade, dubinu, tlo te treba koristiti pravodobno oruđe za obradu tla.

2.2.3.3. Sjetva soje

Preduvjet visokog uroda je kvalitetno sjeme, priznata i adaptirana sorta koja je provjerena na užem području. Sjeme treba biti popraćeno certifikatom o kvaliteti te posjedovati deklaraciju koja jamči o zdravstvenom stanju, čistoći, klijavosti, uporabnoj vrijednosti te da u sjemenu nema nikakvih karantenskih korova (Vratarić i Sudarić 2008.).

Jamstvo sigurnog uroda je kvaliteta sjemena i zbog toga se treba isključivo sijati sjeme dobre kvalitete.

Rok sjetve značajno utječe na uspješnost proizvodnje soje. Svako odgađanje sjetve iza optimalnog roka ima utjecaj na urod sjemena, kvalitetu sjemena, visinu biljaka i dužinu vegetacije koja može biti produžena. Prema Hrustić i sur. (1998.) trebaju se utvrditi optimalni rokovi sjetve za određenu grupu sorata na svakom području uzgoja. Treba obratiti pažnju i na način sjetve i broj biljaka po hektaru, dubinu sjetve, količinu sjemena za sjetvu te oruđa za sjetvu koji svaki na svoj način doprinosi uspješnosti cijelog procesa.

2.2.3.4. Njega soje

Tijekom vegetacije, mjere njege koje se izvode su mehaničke i kemijske. Mehaničke mjere poput međuredne kultivacije su višekratne, ovisno o stanju usjeva i tipu tla. Ako je kvalitetno izvedena, povoljno djeluje na suzbijanje korova, prozračnost tla i čuvanje vlage. Ukoliko su korovi suzbijeni herbicidima smatra se da međurednu kultivaciju ne treba ni obavljati. Međutim, ukoliko se ne obavlja stvara se tvrdi pokrovni sloj što uzrokuje slabiju prozračnost pa je mjera opravdana ukoliko se primjeni na vrijeme, odnosno dok su korovne biljke još uvijek male.

Tijekom vegetacije, ukoliko je to potrebno, provodi se zaštita usjeva soje od bolesti i štetnika. Suzbijanje korova obavlja se herbicidima koji se mogu primijeniti nakon sjetve, a prije nicanje soje, ili nakon nicanja soje.

2.2.3.5. Žetva soje

Prema Vratarić i Sudarić (2008.) za uspjeh proizvodnje soje jako je bitna kvalitetna i pravovremena žetva te joj treba posvetiti punu pažnju. Obavlja se isključivo univerzalnim žitnim kombajnima koji sve više zadovoljavaju tehnološke zahtjeve žetve i treba joj se pristupiti čim je soja zrela i kada vlaga dostigne odgovarajuću razinu.

Postoji mogućnost gubitaka tijekom žetve, koji mogu nastati i prije uslijed pucanja mahuna. Prema Malinović i sur. (1998.) gubici žetve su najvećim dijelom postignuti zbog mehanizacije, odnosno zbog hedera kombajna. Ti gubici važno su mjerilo za ocjenu kvalitete rada kombajna, a posebno njegovog hedera. Oni nastaju uslijed loma stabljike, kada sjeme u mahuni ostane ispod reza kose ili ako ostane u neodrezanim mahunama i sl. Kako bi se spriječili ovi nedostaci najbolje je da podešavanje kombajna za rad obavi stručna osoba, odnosno mehanizator (Vratarić i Sudarić 2008.).

2.3. Značajni predstavnici kvržičnih bakterija koji noduliraju soju

Prema Martinez-Romero (2000.) mikroorganizmi koji u simbioznom odnosu s mahunarkama stvaraju kvržice (rizobije) klasificirani su u 6 rodova među kojima su *Azorhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium, Rhizobium, Allorhizobium* i *Sinorhizobium*. S obzirom na to da se konstantno primjenjuju nove molekularne metode te provode istraživanja različitih mahunarki koje omogućuju otkrivanje novih vrsta klasifikacija je podložna stalnim promjenama.

Simbiozni fiksatori dušika koji noduliraju soju pripadaju rodovima *Bradyrhizobium* i *Sinorhizobium* sa sljedećim najpoznatijim vrstama: *B. japonicum, B. elkanii, B. lianoningense, S. fredii* i *S. xinjiangense.*

2.4. Kvržična bakterija *Bradyrhizobium japonicum*

Biološka fiksacija dušika koja se odvija uz pomoć bakterija *Bradyrhizobium spp.* jedno je od najvažnijih ekoloških svojstava s potencijalnom primjenom u poljoprivredi. Klasična taksonomija bakterija *Rhizobium* prvi put je izmijenjena kada je Jordan (1982.) opisao nove vrste iz roda *Bradyrhizobium* koji je uključivao sve simbiozne fiksatore dušika koje imaju simbiozne asocijacije sa sojom. Bakterije su pleomorfne s prevladavajućim oblikom štapića koji može biti pravilnog ili nepravilnog oblika. Postoji raznolikost fenotipskih, metaboličkih i ekoloških svojstava povezanih sa svakim rodom, a njihovo sudjelovanje u biogeokemijskim ciklusima je od iznimne važnosti. Sve vrste porodice *Bradyrhizobiaceae* karakterizirane su kao Gram-negativne bakterije s veličinama u rasponu od 0.5 do 1.3 μm, a širine od 1 do 5 μm. Prema Jordan (1982.) rod je definiran kao spororastuće kvržične bakterije s generacijskim vremenom od 10 do 12 sati.

Za razliku od mnogih simbioznih fiksatora dušika koji su u interakciji s mahunarkama, vrste iz roda *Bradyrhizobium* ne grupiraju simbiozne gene u većim plazmidima, već imaju simbiozni kromosomski otok koji grupira gene povezane s nodulacijom i biološkom fiksacijom dušika (Kaneko i sur. 2002.).

Vrsta *B. japonicum* pokazuje izuzetnu genetsku raznolikost pa su na osnovu toga provedena brojna istraživanja.

Chen i sur. (2000.) proučavali su genetske karakteristike sojinih rizobija u Paragvaju. Istraživanja su provedena na 78 korijenskih izolata koji su prikupljeni sa 16 lokacija. Utvrđena je velika genetička raznolikost većine uzoraka pomoću ERIC-PCR metode. Većina sojeva okarakterizirana je kao spororastući sojevi *B. japonicum* i *B. elkanii*, odnosno njih 58, dok je preostalih 20 uzoraka okarakterizirano brzim rastom.

Proučavanje genetske raznolikosti između brzo i spororastućih sojinih riziobija pomoću RAPD metode proveli su Young i Cheng (1997.). U istraživanju je korišteno šest sojeva od koji su tri soja *B. japonicum* i tri *S. fredii*. RAPD metodom identificirano je 46 uzoraka. Utvrđeno je da geografska rasprostranjenost može utjecati na raznolikost i da je veća povezanost bila između Tajvanskih sojeva, nego između sojeva koji su introducirani iz Kine.

Istraživanja čiji je cilj bio identificirati i karakterizirati autohtone kvržične bakterije na soji koje su izolirane iz različitih tipova tala istočne Slavonije proveli su Sikora i Redžepović (2003.). Za utvrđivanje stvarnog sastava i genetske raznolikosti prirodne populacije korištene su različite PCR molekularne metode. Osamnaest sojeva izoliranih iz sojinih kvržica, karakterizirani su i uspoređeni s referentnim tipskim sojevima *B. japonicum, B. elkanii* i *S. fredii.* Utvrđena je znatna genetička raznolikost između izolata *B. japonicum* pomoću metode 16s rDNA PCR-RFLP koje jasno pokazuju postojanje dviju različitih skupina između autohtonih bradirizobija. Svi izolati su nadalje su karakterizirani primjenom RAPD i rep-PCR metoda. Obje metode su pokazale učinkovitost te je između sojeva *B. japonicum* utvrđen visok stupanj raznolikosti.

2.5. Predsjetvena bakterizacija mahunarki

Unošenjem bakterija fiksatora dušika u tlo povećava se sadržaj bjelančevina u sjemenu soje, štede se dušična gnojiva za sljedeću kulturu. Budući da kvržične bakterije nisu zastupljene u dovoljnom broju ili nisu zadovoljavajućih karakteristika, inokulacija sjemena ili tla visokoučinkovitim specifičnim sojevima kvržičnih bakterija je od velike važnosti. Prema Catroux (1991.) glavni cilj bakterizacije je da se osigura dovoljan broj učinkovitih kvržičnih bakterija koje bi omogućile brzu kolonizaciju rizosfere, a samim time da infekcija i nodulacija počnu odmah nakon klijanja i nicanja te da se time biljke opskrbe odgovarajućom količinom dušika za razvoj. Primjenom predsjetvene bakterizacije sjemena omogućava se značajan unos biološki vezanog dušika pomoću kojeg se značajno reducira primjena mineralnog dušika.

Bakterizacija osigurava da infekcija korijena počinje ubrzo nakon nicanja, otklanja rizik da će se fiksirati male količine dušika, odnosno da će fiksacija izostati.

Rizobiji se mogu razlikovati po svojoj kompatibilnosti s određenim sortama biljke domaćina pa prema tome, soj koji se koristi za pripremu preparata za predsjetvenu bakterizaciju mahunarki mora biti specifičan za biljku. Vrlo česta karakteristika autohtonih sojeva u tlu je da stvaraju kvržice koje su neučinkovite i koje osiguravaju male količine dušika za rast biljaka. Proces selekcije novih i boljih sojeva zahtijeva izolaciju bakterijskih sojeva iz kvržica i testiranje njihove sposobnosti fiksacije dušika.

Za uspjeh bakterizacije važno je da što veći broj bakterija preživi na inokuliranom sjemenu, a na zastupljenost i efikasnost bakterija utječe sam postupak izvođenja bakterizacije i sjetve, tip tla, pH tla, biološka svojstva sorata i drugi čimbenici. Također uspjeh ovisi i o kompeticiji komercijalnih sojeva s autohtonim sojevima bakterija u tlu i o simbioznoj učinkovitosti komercijalnih sojeva. Bitno je iz razloga što neke bakterije mogu biti visoko kompetitivne i stvoriti kvržice na korijenu leguminoza, ali nemaju sposobnost fiksacije velikih količina dušika.

2.5.1. Predsjetvena bakterizacija sjemena soje

Predsjetvena bakterizacija sjemena soje posebno je značajna na tlima gdje soja nije ranije uzgajana ili nije sijana duže vrijeme te se treba smatrati obaveznom i učinkovitom mjerom u tehnologiji proizvodnje soje (Vratarić i Sudarić 2008.). Bakterije soje koje žive u tlu imaju sposobnost prodiranja do korijena soje kroz korjenove dlačice kao i bakterije koje su unesene u tlo preko inokuliranog sjemena.

Primjena visoko kvalitetnih sojeva u predsjetvenoj bakterizaciji nekada ne uzrokuje značajno povećanje prinosa u područjima gdje je soja bila sijana prethodno (Ham i sur. 1971.; Kvien i sur. 1981.) zbog pojave autohtonih sojeva *B. japonicum* visoke kompetitivnosti koji mogu ograničiti uspjeh inokulacije. Poznato je da postoje velike razlike između sojeva *B. japonicum* u pogledu učinkovitosti fiksacije dušika. Veliki utjecaj ima i genetska varijabilnost biljke domaćina u količini dušika kojeg može fiksirati u simbioznoj zajednici, što rezultira iz njezine kompatibilnosti s visokoučinkovitim sojevima *B. japonicum* (Komesarović i sur. 2007.).

Prema Minamisawa i sur. (1992.) jedan od glavnih agronomskih problema kod aplikacije sojeva *B. japonicum* kao inokuluma je prisutnost visoko adaptirane autohtone populacije u tlu koja najčešće ima veću sposobnost kompeticije za mjesto nodulacije nego sojevi iz inokuluma, a znatno slabiju učinkovitost.

Predsjetvenom bakterizacijom procjenjuje se učinkovitost sojeva, kompatibilnost sa sortama soje te njihova adaptacija na određene agroekološke uvjete, a kako navodi Milaković i sur. (2012.) povećavaju se broj i masa suhe tvari kvržica po biljci, broj mahuna, masa sjemena i samim time povećava se i prinos soje. Osiguravanjem kvalitetnih autohtonih sojeva nastoji se smanjiti potreba za introdukcijom stranih komercijalnih sojeva, koji često ne mogu dati očekivane rezultate u našim agroekološkim uvjetima (Redžepović i sur. 1999.).

Stoga, kako navode Sikora i Redžepović (2000.) predsjetvena bakterizacija sjemena soje visoko kvalitetnim sojevima *B. japonicum* preporučena je redovna mjera u proizvodnji ove mahunarke.

3. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je procjena simbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum* koji su izolirani iz najznačajnijih proizvodnih područja uzgoja soje u Hrvatskoj te utvrđivanje kompatibilnosti dobivenih izolata s različitim sortama soje. Tijekom pokusa određivana su sljedeća svojstva: broj kvržica po biljci, masa suhe tvari kvržica po biljci, masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke te sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke.

4. Materijal i metode istraživanja

4.1. Procjenasimbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum*

4.1.1. Vegetacijski pokus u komori rasta

U svrhu utvrđivanja simbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum* izoliranih iz najznačajnijih proizvodnih područja uzgoja soje u Hrvatskoj, 16.02.2017. godine, postavljen je vegetacijski pokus (Slika 6) u komori rasta Zavoda za ishranu bilja, Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Po shemi slučajnog bloknog rasporeda postavljen je dvofaktorijelni pokus (8x2) u tri ponavljanja. Faktori pokusa bili su sojevi *B. japonicum,* 6 autohtonih sojeva izoliranih iz različitih regija Hrvatske, jedan referentni soj, nebakterizirana kontrola i sorte soje (AFZG Ana i Gabriela).



Slika 6. Vegetacijski pokus u komori rasta nakon sjetve soje (16.02.2017.)
Izvor: Galić, 2017. (foto original)

Tijekom pokusa, uvjeti u komori rasta su bili postavljeni na način da su dnevna temperatura i vlaga iznosile 26°C, odnosno 65%, a noćne vrijednosti su za temperaturu iznosile 22°C, dok je vlažnost ostala jednaka. Početak noći je bio u 22:00h, a početak dana u 06:00h što je značilo da je dan trajao 16h, a noć 8h.

4.1.2. Površinska sterilizacija sjemena

Prije sjetve obavljena je površinska sterilizacija sjemena čija je svrha uklanjanje moguće kontaminacije površine sjemena. Sterilizacija se provodi na način da se sjeme soje uroni u 96%-tni etanol na nekoliko sekundi. Nakon etanola, sjeme se sterilizira tri minute u 0,2% $HgCl_2$, nakon čega slijedi višekratno ispiranje sjemena u sterilnoj, destiliranoj vodi.

4.1.3. Sjetva soje

Nakon površinske sterilizacije sjemena uslijedila je sjetva soje. U svaki lonac je dodan vermikulit te 300 mL vode.

Površinski sterilizirano sjeme soje inokulirano je s čistim kulturama 7 sojeva rizobija među kojima je šest autohtonih i jedan referentni soj, a u pokus je uključena i nebakterizirana kontrola. Za pripremu inokuluma, čiste kulture svakog soja razmnožene su u 120 mL tekuće hranjive podloge (tablica 2).

Tablica 2. Sastav hranjive otopine za pripremu inokuluma

Sastav	**Količina**
K_2HPO_4	1,0 g
KH_2PO_4	0,5 g
K_2SO_4	0,25 g
$CaCl_2$	0,1 g
NaCl	0,1 g
$FeSO_4$	0,01 g
$MnSO_4$	0,01 g
$Na_2B_4O_7$	u tragu
Na_2MnO_4	u tragu
D - manitol	10,0 g
Kvasni ekstrakt	50 ml
Bromthymol blau	1,0 ml
Voda	950 ml

Za vrijeme vegetacijskog pokusa biljke su zalijevane bezdušičnom hranjivom otopinom čiji je sastav naveden u tablici 3.

Tablica 3. Hranjiva otopina za biljke (FAO 1993.)

Reagens	**Stock otopina g/250ml**	**Količina otop. za 1 L hranjive otop.**
KH_2PO_4	34.025	1ml
K_2HPO_4	43.55	1ml
K_2SO_4	21.775	1ml
$CaCl_2$	13.87	2ml
$MgSO_4 \times 7H_2O$	30.8	1ml

Soja je uzgajana u komori rasta do faze pune cvatnje (27.03.2017.) (Slika 7) nakon čega su biljke izvađene iz lonaca te je određen broj kvržica po biljci, masa suhe tvari kvržica po biljci, masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke i sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke. Određivanje sadržaja ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke provedeno je u Zavodu za ishranu bilja Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Svi rezultati vegetacijskog pokusa statistički su obrađeni analizom varijance (ANOVA) prema modelu slučajnog bloknog rasporeda dvofaktorijalnog pokusa (sorta x soj).



Slika 7. Vegetacijski pokus u komori rasta s inokuliranom sojom u fazi pune cvatnje (27.03.2017.)

Izvor: Galić, 2017. (foto original)

4.1.4. Sorte soje

4.1.4.1. Sorta soje AFZG ANA

Sorta soje AFZG Ana (slika 8) ima čvrstu stabljiku, dobru otpornost na plamenjaču te je otporna na polijeganje. Ovu sortu ubrajamo u vegetacijsku skupinu 0. Sadrži 35-40% bjelančevina te 19-23% ulja. Značajnije fenotipske karakteristike su da ima izdužene liske, sivu boju dlačica, okruglo sjeme sivog hiluma te ljubičastu boju cvijeta. Potencijal rodnosti iznosi 5 t/ha dok je preporučeni sklop 580 000-650 000 biljaka po hektaru.



Slika 8. Sorta soje AFZG Ana

Izvor: Agronomski fakultet u Zagrebu, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja

4.1.4.2. Sorta soje GABRIELA

Sorta soje Gabriela (Slika 9) također ima čvrstu stabljiku, dobru otpornost na plamenjaču i polijeganje. Ovu sortu soje ubrajamo u vegetacijsku skupinu 00-0. Kao i prethodna sorta sadrži 35-40% bjelančevina te sadrži 20-23% ulja. Fenotipske karakteristike nešto su drugačije pa tako sorta Gabriela ima ovalne liske, sivu boju dlačica, okruglo sjeme žutog hiluma te bijelu boju cvijeta. Potencijal rodnosti iznosi 5 t/ha, a preporučeni sklop je 600 000-700 000 biljaka po hektaru.



Slika 9. Sorta soje Gabriela

Izvor: Agronomski fakultet u Zagrebu, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja

4.1.5. Sojevi kvržičnih bakterija

Sojevi koji su korišteni u pokusu su izolirani s područja Baranje, Istre, Koprivnice te Istočne Slavonije. U tablici 4 navedene su oznake autohtonih sojeva kvržičnih bakterija koje noduliraju soju.

Tablica 4. Autohtoni sojevi kvržičnih bakterija korišteni za bakterizaciju soje

Porijeklo autohtonih sojeva	**Oznaka izoliranih sojeva**
nebakterizirana kontrola	0
referentni soj *B. japonicum*	344
Baranja	55
Baranja	57
Istarska županija	126F
Istarska županija	123A
Koprivničko-križevačka županija	95
Istočna Slavonija	33

5. Rezultati i rasprava

5.1. Procjena simbiozne učinkovitosti autohtonih sojeva *B. japonicum*

Rezultati analize varijance za broj kvržica po biljci, masu suhe tvari kvržica po biljci, masu suhe tvari nadzemnog dijela biljke te sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke prikazani su u tablici 5.

Statističkom obradom dobivenih podataka utvrđene su signifikantne razlike za sva istraživana svojstva ovisno o primijenjenom soju kvržičnih bakterija, dok je opravdano djelovanje sorti soje utvrđeno za masu suhe tvari kvržica po biljci i sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke.

Tablica 5. Rezultati analize varijance – opravdanost djelovanja istraživanih faktora i interakcije za istraživana svojstva

Izvor varijabilnosti	broj kvržica po biljci	masa suhe tvari kvržica	masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke	sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke
Sorte	ns	*	ns	*
Sojevi	*	*	*	*
Sorta x soj	*	ns	ns	*

5.1.1. Broj kvržica po biljci

Na osnovi rezultata za broj kvržica po biljci nisu utvrđene signifikantne razlike između sorata AFZG Ana i Gabriela. U tablici 6 prikazane su prosječne vrijednosti za broj kvržica po biljci.

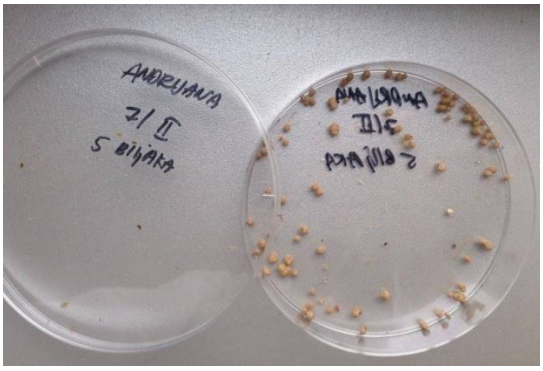
Utvrđen je statistički opravdan utjecaj različitih sojeva na ovo svojstvo s time da je najveći broj kvržica utvrđen uz inokulaciju s autohtonim sojem 126F koji je izoliran s područja Istarske županije. Najmanji broj kvržica po biljci utvrđen je uz primjenu referentnog soja 344. Premda se najveći broj kvržica po biljci postigao uz primjenu autohtonog soja 126F, važno je napomenuti da između njega i autohtonog soja 33, koji je izoliran s područja istočne Slavonije, nisu utvrđene statistički opravdane razlike. Na osnovu ovih rezultata utvrđeno je da je referentni soj 344 signifikantno slabiji od drugih primijenjenih sojeva uz izuzetak autohtonog soja 55. Na slici 10 prikazane su kvržice sakupljene s biljaka koje su inokulirane

autohtonim sojem 95 koji se po broju kvržica značajno ne razlikuje od autohtonog soja 33. Iz dobivenih rezultata utvrđen je statistički opravdan utjecaj inokulacije sojevima na ovo svojstvo.

Utvrđeno je statistički opravdano interakcijsko djelovanje sorta x soj za broj kvržica po biljci. Signifikantno najveće vrijednosti utvrđene su uz primjenu autohtonog soja 126F koji ima najveću sposobnost nodulacije sorte AFZG Ana, dok autohtoni soj 57 ima najveću sposobnost nodulacije sorte soje Gabriela. Signifikantno najniže vrijednosti za svojstvo broja kvržica utvrđene su uz primjenu referentnog soja 344 kod sorte soje AFZG Ana i autohtonog soja 55 kod sorte soje Gabriela.

Tablica 6. Broj kvržica po biljci

Soj *B. japonicum*	Sorta		x_{sojeva}	Grupa
	Ana	Gabriela		
0	1.067	0.633	0.85	E
344	14.267	12.867	13.567	D
55	16.467	12.733	14.600	CD
57	14.400	20.600	17.500	B
126F	21.600	19.533	20.567	A
134A	18.533	15.265	16.900	BC
95	18.200	17.067	17.633	B
33	16.533	19.600	18.067	AB
x_{sorte}	**15.133**	**14.787**		



Slika 10. Kvržice sakupljene s biljaka inokuliranih s autohtonim sojem 95

Izvor: Galić, 2017. (foto original)

5.1.2. Masa suhe tvari kvržica po biljci

U tablici 7 prikazane su prosječne vrijednosti za masu suhe tvari kvržica po biljci. Na osnovu dobivenih rezultata utvrđena je razlika u masi suhe tvari kvržica između sorata AFZG Ana i Gabriela. Na korijenu soje sorte Gabriela utvrđena je masa suhe tvari kvržica po biljci od 0,028 grama što je statistički opravdana razlika u masi suhe tvari kvržica po biljci u odnosu na sortu soje AFZG Ana čija je masa iznosila 0,024 grama.

Svi primijenjeni sojevi mogu se podijeliti u dvije grupe obzirom na masu suhe tvari kvržica po biljci. Primjena autohtonog soja 126F, izoliranog s područja Istre, rezultirala je signifikantno najvećom masom suhe tvari kvržica po biljci u odnosu na sve druge primijenjene sojeve između kojih nema statistički opravdanih razlika.

Tablica 7. Masa suhe tvari kvržica po biljci (g)

Soj *B. japonicum*	**Sorta**		**x_{sojeva}**	**Grupa**
	Ana	**Gabriela**		
0	0.008	0.007	0.008	C
344	0.021	0.024	0.023	B
55	0.023	0.023	0.023	B
57	0.021	0.036	0.028	B
126F	0.047	0.051	0.049	A
134A	0.025	0.029	0.027	B
95	0.029	0.027	0.028	B
33	0.021	0.026	0.023	B
x_{sorte}	**0.024**	**0.028**		

Smatra se da je masa suhe tvari kvržica kao svojstvo pouzdaniji parametar od svojstva broj kvržica po biljci jer neki sojevi mogu stvarati jako puno kvržica koje su ekstremno sitne.

Iako svi istraživani sojevi imaju sposobnost nodulacije, jako je važno istražiti i druga simbiozna svojstva o kojima vrlo često ovisi uspjeh predsjetvene bakterizacije (Sikora i Redžepović 2000.).

5.1.3. Masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke

Statističkom obradom podataka za masu suhe tvari biljke nije utvrđeno statistički opravdano djelovanje sorata kao ni interakcije sorta x soj što je prikazano u tablici 8.

Na osnovu dobivenih rezultata utvrđeno je da primjena autohtonih sojeva nije rezultirala signifikantnom razlikom u masi suhe tvari nadzemnog dijela biljke. Primjenom soja 126F postigla se najveća masa suhe tvari nadzemnog dijela biljke iako se statistički ne razlikuje od ostalih primijenjenih sojeva.

Tablica 8. Masa suhe tvari biljke (g)

Soj *B. japonicum*	Sorta		x_{sojeva}	Grupa
	Ana	Gabriela		
0	0.413	0.447	0.430	B
344	0.467	0.560	0.513	AB
55	0.607	0.547	0.577	A
57	0.547	0.603	0.575	A
126F	0.600	0.567	0.583	A
134A	0.560	0.573	0.567	A
95	0.580	0.533	0.557	A
33	0.487	0.547	0.517	A
x_{sorte}	**0.533**	**0.547**		

5.1.4. Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke

Prosječne vrijednosti za sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke prikazane su u tablici 9. Kod sorte soje Gabriela utvrđene su veće vrijednosti sadržaja ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke u odnosu na sortu soje AFZG Ana. Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke kod sorte soje Gabriela iznosio je 0.609% što je signifikantno veće nego kod sorte soje AFZG Ana, čiji sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke iznosi 0.575%.

Tablica 9. Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke (%)

Soj *B. japonicum*	Sorta		x_{sojeva}	Grupa
	Ana	Gabriela		
0	0.308	0.327	0.317	E
344	0.589	0.591	0.590	D
55	0.601	0.625	0.613	C
57	0.595	0.637	0.616	C
126F	0.572	0.655	0.613	C
134A	0.652	0.684	0.668	A
95	0.649	0.682	0.666	A
33	0.631	0.671	0.651	B
x_{sorte}	**0.575**	**0.609**		

Najveće vrijednosti za sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke utvrđene su uz primjenu autohtonih sojeva 95, koji je izoliran s područja Koprivnice i autohtonog soja 33, koji je izoliran s područja istočne Slavonije. Signifikantno najniže vrijednosti utvrđene su primjenom referentnog soja 344.

Rezultati istraživanja pokazuju da su autohtoni sojevi 134A i 95 signifikantno bolji od ostalih autohtonih sojeva premda među njima nema statistički opravdanih razlika.

Utvrđeno je statistički opravdano interakcijsko djelovanje sorta x soj za sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke. Najveće vrijednosti za sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke na obje sorte soje utvrđene su uz primjenu autohtonog soja 134A. Signifikantno najniže vrijednosti na obje sorte soje dobivene su primjenom referentnog soja 344.

Temeljem dobivenih rezultata utvrđeno je da su svi autohtoni sojevi kvržičnih bakterija kompatibilni s istraživanim sortama soje od kojih je sorta soje Gabriela bila signifikantno bolja od sorte soje AFZG Ana.

6. Zaključak

Na osnovi provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- Primjena autohtonih sojeva *B. japonicum* rezultirala je signifikantno većim vrijednostima za broj kvržica po biljci, masu suhe tvari kvržica po biljci, masu suhe tvari nadzemnog dijela biljke i sadržaju ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke u odnosu na referentni soj.
- Utvrđeno je da se autohtoni sojevi *B. japonicum* međusobno značajno razlikuju po svojoj simbioznoj učinkovitosti
- Utvrđena je kompatibilnost između autohtonih sojeva i referentnog soja s ispitivanim sortama soje AFZG Ana i Gabriela. Između sorata za masu suhe tvari kvržica i mase suhe tvari nadzemnog dijela biljke nisu utvrđene statistički opravdane razlike. Sorta soje AFZG Ana bila je signifikantno bolja od druge sorte u pogledu broja kvržica po biljci, dok je kod sorte soje Gabriela utvrđen veći sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke.
- Najveći broj kvržica po biljci postignut je uz primjenu autohtonog soja 126F, izoliranog s područja Istarske županije. Između istraživanih sojeva utvrđena je statistički opravdana razlika te je dokazano da svi sojevi nemaju istu sposobnost nodulacije obje sorte soje.
- Bakterizacija sjemena soje autohtonim sojem 126F rezultirala je najvećom masom suhe tvari kvržica po biljci kao i masom suhe tvari nadzemnog dijela biljke.
- Najveći sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke ostvaren je uz primjenu autohtonih sojeva 134A i 95 što govori o njihovoj potencijalnoj većoj simbioznoj učinkovitosti.
- Procjenom simbiozne učinkovitosti sojeva, kao najkvalitetniji pokazali su se autohtoni sojevi 126F, 134A i 95 koji bi mogli poslužiti u proizvodnji preparata za primjenu predsjetvene bakterizacije soje, no ipak su potrebna daljnja istraživanja.

7. Popis literature

1. Appiah-Kubi, D. (2012). Diversity studies in soybean (Glycine max (L.) Merrill) and validation of shattering resistant markers for marker assisted selection. Department of crop and soil science

2. Becker, M., Laeha, J. K., Ali, M. (1995). Plant Soil 174, 181-194 in C. P. Vance, Legume Symbiotic Nitrogen Fixation Agronomic aspects, H. P. Spaink, A. Kondorosi, P. J. J. Hooykaas (eds.), The *Rhizobiaceae*, Kluwer Academic Publishers, 510-530

3. Berger,D.K., Narberhaus, F., Kustu, S. (1994). The isolated catalytic domain of NIFA, bacterial enhancer-binding protein, activates transcription in vitro: activation is inhibited by NIFL. Proc Natl Acad Sci USA 91: 103-107

4. Blažinkov, M. (2006). Genetička raznolikost prirodnih populacija Rhizobium leguminosarum bv. viciae u tlima ekološkog područja Hrvatske. Doktorska disertacija, Zagreb

5. Bohlool, B. B., Ladha, J. K., Garrity, D. P., George, T. (1992). Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture: A perspective Plant and soil, 141: 1-11.

6. Bradić, M., Sikora, S., Redžepović, S. (2003). Genetic identification and symbiotic efficiency of an indigenous *Sinorhizobium meliloti* field population. *Food Technol. Biotechnol* 41, 1, 69-75

7. Burns, R. C., Hardy, R. W. F. (1975). Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Springer-Verlag, New York

8. Butorac, A. (1999). Opća agronomija (monografija). Školska knjiga, Zagreb: 1-648.

9. Carlson, J. B. (1973). Morphology. In Soybeans; Improvement, production and uses. Ed. Caldwell, B. E. Amer. Soc. Agron. Madison, Winsconsin, 19-95.

10. Catroux, G. (1991). Inoculant quality standards and controls in France. In: Thompson J. A., (ed., Expert Consulation on Legume Inoculant Production and Quality Control, FAO, Rome, 113-120.

11. Chen, J., Swissheim, K., Sager, R. (2000). A Cautionary Note on Reaction Tubes for Differential Display and Cdna Amplification in Thermal Cycling. BioTechniques. 16: 1003-1006.

12. Ciha, R. L., Brun, W. A. (1975). Stomatol Size and Frequency in Soybeans. Crop. Sci. 15: 309-313

13. Cooper, R. L. (2003). A delayed flowering barrier to higher soybean yields. Field Crops Research. 82, 1: 27-35

14. Deaker, R., Roughley, R. J., Kennedy, I. R. (2004). Legume seed inoculation technology- a review. Soil Biology & Biochemistry. 36: 1275-1288.

15. Dean, D. R., Bolin, J. T., Zheng, L. M. (1993). Nitrogenase metalloclusters-structures, organization, and synthesis. J. Bacteriol 175: 6737-6744

16. Enken, B. N. (1959). Soja. Moskva

17. Fehr, W. R. (1987). Breeding methods for cultivar development. In: J.R. Wilcox (ed.). Soybeans; Improvement, Production and Uses. p 249-203. ASA 16 Medison USA

18. Ferguson, B. J., Indrasumunar, A., Hayashi, S., Meng-Han Lin, Yu-Hsiang Lin, Reid, D. E., Gresshoff, P. M. (2010). Molecular Analysis of Legume Nodule Development and Autoregulation. Invited Expert Review Journal of Intergrative Plant Biology, 52 (1): 61-76.

19. Fisher, R. F., Long, S. R. (1992).*Rhizobium*-plant signal exchange. Nature 357: 655-660.

20. Fox, J. E., Gulledge, J., Engelhaukt, E., Burow, M. E., McLachlan, J. A. (2007). Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America 104: 10282-10287.

21. Gage, D. J. (2004). Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperature legumes. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 68: 280-300.

22. Galli-Terasawa, L. V., Glienke-Blanco, C., Hungria, M. (2003). Diversity of a soybean rhizobial population adapted to a cerrads soil. World J. Microbiol. Biotehnol. 19: 933-939.

23. Garg, N., Renseigne N. (2007). Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: process and signaling. A review. Agronomy for Sustainable Development. 27 (1): 59-68.

24. Garner, W. W., Allard, H. A. (1930). Photoperiod response of soybeans in relation to temperature and other environmental factor. J. Agr. Res. 41:719-735

25. Germano, M. G., Menna, P., Mostasso, F. L., Hungria, M. (2006). RFLP analysis of the rRNA operon of a razilian collection of bradyrhizobial strains from 33 legume species. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 217-229

26. Geurts, R., Bisseling, T. (2002). Rhizobium Nod factor perception and signalling. The Plant Cell 14 (suppl 1), S239-S249.

27. Giongo, A., Ambrosini, A., Vargas, L. K., Freire. J. R. J., Bodanese-Zanettini, M. H., Passaglia, L. M. P. (2008). Evaluation of genetic diversity of bradyrhizobia strains nodulating soybean (Glycine max (L.)Merill) isolated from South Brazilian fields. Applied Soil Ecology, 38, pp. 261-269.

28. Goethals, K., Van Montagu, M., Holsters, M. (1992). Conserved motifs in a divergents nod box of *Azorhizobium caulinodans* ORS571 reveals a common structure in promoters regulated by LyrR-type proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. 89, 1646-1650.

29. Ham, G. E., Cardwell, V. B., Johnson, H. W. (1971). Evaluation of *Rhizobium japonicum* inoculants in soils containing naturalized populations of rhizobia. Agron. J. 63: 301-372.

30. Hardy, R. W. F., Havelka, U. D. (1975). Nitrogen fixation research a key to world food? Science 188: 633-643

31. Harper, J. E. (1999). Nitrogen fixation – limitations and potentials. World research Conference VI – Proceedings, pp. 235.

32. Heichel, G. H. (1987). Legume nitrogen: Symbiotic fixation and recovery by subsequent crops. In: Helsel ZR (Ed). Energy in Plant Nutrition and Pest Control. 68-80. Elsevier, Amsterdam

33. Holmberg, S. A. (1973). Soybeans for cool temperature climates. Agric. Hort. Gent, 31: 1-20.

34. Howard, J. B., Rees, D. C. (1996). Structural basis of biological nitrogen fixation. Chemical Reviews 96 (7): 2965-2982.

35. Hrustić, M., Vidić, M., Dražić, D., Konstantinović, B. (1998). p. 190-226. Agrotehnika soje. U: Hrustić, M., Vidić M., Jocković, Đ. (ur.) Soja (monograf.), Novi Sad

36. Hungria, M., Galli-Terasawa, L. V., Glienke-Blanco, C. (2003). Diversity of soybean rhizobial population adapted to a Cerrados soil; World Journal Of Microbiology & Biotechnology. 19: 933-939.

37. Jordan, D. C. (1982). Transfer of Rhizobium japonicum Buchanan 1980 to Bradyrhizobium gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 136-139.

38. Jurić, I., Žugec, I., Kovačević, V., Buljan, V. (1986). Osvrt na kalcizaciju i fosfatizaciju i humizaciju pseudogleja. Slavonije. Poljoprivredne aktualnosti 3: 441-446.

39. Kaneko, T., Nakamura, Y., Sato, S., Minamisawa, K., Uchiumi, T., Sasamoto, S., Watanbe, A., Idesawa, K., Iriguchi, M., Kawashima, K., Kohara, M., Matsumoto, M., Shimpo, S., Tsuruoka, H., Wada, T., Yamada, M., Tabata, S. (2002). Complete genomic sequence of nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. DNA Res 9: 189-197.

40. Kaspar, T. C. (1985). Growth and development of soybean root systems. p. 841-847. In: R. Shibles (ed.) Proceedings of WSRC III. Ames. Iowa, USA.

41. Kennedy, C., Toukdarian, A. (1987). Genetics of azotobacters: applications to nitrogen fixation and related aspects of metabolism. Annu. Rev. Microbiol. 41: 227-258.

42. Komesarović, B. (2006). Simbiozna učinkovitost selekcioniranih autohtonih sojeva *Bradyrhizobium japonicum*. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

43. Komesarović, B., Redžepović, Blažinkov, M., Sudarić, A., Uher, D., Sikora, S. (2007). Simbiozna učinkovitost selekcioniranih autohtonih sojeva *Bradyrhizobium japonicum*. Mljekarstvo, 57, 4: 289-302.

44. Kovačević, V., Jurić, I., Žugec, I. (1990). Kalcizacija i fosfatizacija kao faktori biljne proizvodnje na pseudogleju PIK-a Vinkovci. Znanost i praksa u polj. i preh. tehnol. Osijek G 20,3-4: 437-452.

45. Kuperman, F. M. (1968). Morfofiziologijrastenij. Moskva

46. Kvien, C. S., Ham, G. E., Lambert, J. W. (1981). Recovery of Introduction *Rhizobium japonicum* Strains by Soybean Genotypes. Agron. J. 7: 900-905.

47. Laranjo, M., Alexandre, A., Oliviera, S. (2014). Legume growth-promoting rhizobia. An overview on the *Mesorhizobium* genus. Microbiological Research 169: 2-17.

48. Lindemann, W. C., Glover, C. R. (2003). Nitrogen Fixation by Legumes, Guide A-129, College of Agriculture and Home Economics.

49. Long, S. R. (2001). Gene and signals in the *Rhizobium*-legume symbiosis. Plant Physiol. 125: 69-72

50. Ludden, P. W., Roberts, E. A. (1988). Regulation of nitrogenase activity by reversible ADP-ribosylation of dinitrogenase reductase. In: Boethe H., de Bruijn F.J., Newton W.E. (eds) Nitrogen fixation: hundred years after. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp 157-162

51. Lynch, D. H., Smith, D. L. (1993). Early seedling and seasonal N_2-fixing symbiotic activity of two soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars inoculated with *Bradyrhizobium* strains of diverse origin. Plant and soil, 157(2): 289-303.

52. Mađar, S., Dadić, M. (1993). Učinci drenaže na razini podzemnih voda u prinosu ratarskih kultura. Znan. i praksa u poljopr. i prehr. tehnologiji. (Posebno izdanje), 21: 153-159.

53. Malinović, N., Lazić, V., Đukić, N., Sinđić, M. (1998). Mehanizacija u proizvodnji soje. p. 375-398. U: monografiji „Soja“, Hrustić, M., Vidić, M., Jocković, Đ. (ur.), Novi Sad-Bečej

54. Martinez-Romero, E. (2000). Ecological phylogenetic and taxonomic remarks on diazotrophe and related genera in F. O. Pedrosa et al. (eds.) Nitrogen Fixation, From Molecules to Crop Productivity. Kluwer Academic, 155-160.

55. Mihalina, Ž., Kristek, K., Kristek, A., Antunović, M. (2007). Prinos soje u zavisnosti od gnojidbe dušikom i bakterizacije sjemena. 42. Hrvatski i 2. Međunarodni Simpozij Agronoma. 429-431.

56. Miladinović, J., Hrustić, M., Vidić, M. (2008). Soja, monografija. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Sojaprotein, Bečej. 513.

57. Milaković, Z., Kanižai Šarić, G., Veselovac, I., Kalajžić, I. J. (2012). Djelotvornost adhezivnih sredstava u predsjetvenoj bakterizaciji sjemena soje. Poljoprivreda, 18 (1): 12-23.

58. Minamisawa, K., Seki, T., Onodera, S., Kubota, M., Asami, T. (1992). Genetic Relatedness of Bradyrhizobium japonicum Field Isolates as Revealed by Repeated Sequences and Various Other Characteristics. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2832-2839.

59. Molnar, I. (1998):.Odnos soje prema spoljnim činiocima. U: Soja. Hrustić M., Vidić, M. i Jocković Đ (ur.). Novi Sad – Bečej: 153-166.

60. Molnar, I. (1999). Predusevna vrednost i zahtevi ratarskih useva prema predusevu. U: Plodoredi u ratarstvu, Molnar I. (ur.), Mala knjiga, Novi Sad: 79-107.

61. Molnar, I., Belic, B., Pekanović, V. (1982). Utjecaj važnosti zemljišta i vazduha na prinos i kvalitet semena soje. Arhiv za poljoprivredne nauke, 43: 445-454.

62. Mylona, P., Pawlowski, K., Bisseling, T. (1995). Symbiotic Nitrogen Fixation. The Plant Cell. Vol. 7: 869-885. American Society of Plant Physiologists.

63. Oke, V., Long, S. R. (1999). Bacteroid formation in the *Rhizobium* – legume symbiosis. Current Opinion in Microbiology, 2: 641-646.

64. Pendleton, J. W., Hartwig, E. E. (1973). Management. p. 211-237. In: B. E. Caldwell (ed.), Soybeans: Improvement, production and uses. Agron. Monogr. 16, ASA, Madison WI, USA.

65. Perret, X., Staehelin, C., Broughton, W. J. (2000). Molecular basis of symbiotic promiscuity. Microbiol Mol Biol Rev. 64: 180-201

66. Popović, V. (2010). Agrotehnički i agroekološki uticaji na proizvodnju semena pšenice, kukuruza i soje. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Zemun, 62-65.

67. Popović, V., Miladinović, J., Vidić, M., Vučković, S., Dolijanović, Ž., Ikanović, J., Živanović, Lj., Kolarić, Lj. (2015). Suša – Limitirajući faktor u proizvodnji soje; efekat navodnjavanja na prinos soje – *Glycine max*, Originalni naučni rad, Vol. 21. br. 1-2, 11-20

68. Redžepović S., Sikora S., Čolo J., Blažinkov M., Pecina M. (2007). Influence of plant growth regulator and rhizobial inoculation of nodulation on soybean nitrogen content. *Cereal Research Communications* 35, 993-996

69. Redžepović, S., Čolo, J., Blažinkov, M., Poljak, M., Pecina, M., Sikora, S., Šeput, M. (2006). Effect of inoculation and growth regulator on soybean yield and photosynthetic pigment content. *Poljoprivredna znanstvena smotra* 71, 75-80

70. Redžepović, S., Sikora, S., Dropulić, D., Šeput, M., Vasilj, Đ., Sertić, Đ., Varga, B. (1990). Istraživanje efikasnosti nekih sojeva Bradyrhizobium japonicum pri različitoj ishrani soje mineralnim dušikom. II Jugoslavenski simpozij mikrobne ekologije, 16-19.10.1990. Zagreb, zbornik radova, 163-169.

71. Redžepović, S., Sikora, S., Sertić, Đ., Manitašević, J., Šoškić, M., Kalić, Ž. (1991). Utjecaj fungicida i gnojidbe mineralnim dušikom na bakterizaciju i prinos soje. Znanstvena praksa u poljoprivrednoj tehnologiji. 21: 41-49.

72. Redžepović, S., Vratarić, M., Sudarić, A., Sikora, S. (1999). Symbiotic efficiency of indigenous Bradyrhizobium strains used in soybean production in agroecological conditions of Croatia. World Soybean Research Conference VI, Chicago, Illinois, USA, Proceedings, 547.

73. Sikora, S. (1996). Simbiozna učinkovitost prirodne populacije *Bradyrhizobium japonicum* izolirane iz nekih tala zapadne Slavonije. Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

74. Sikora, S., Redžepović, S. (2000). Identifikacija autohtonih sojeva Bradyrhizobium japonicum izoliranih iz različitih tipova tala zapadne Slavonije, Poljoprivredna znanstvena smotra, 65 (4): 229-236.

75. Sikora, S., Redžepović, S. (2003). Genotypic characterization of indigenous soybean rhizobia by PCR-RFLP of 16S rDNA, rep-PCR, rep-PCR and RAPD analysis. Food Technol. Biotechnol. 41 (1): 61-67

76. Sikora, S., Redžepović, S., Bradić, M. (2002). Genomic fingerprinting of *Bradyrhizobium japonicum* isolates by RAPD and rep-PCR. Microbiological Research. 157 (3): 213-219.

77. Soldati, A., Keller, E. R. (1985). Soybeans adapted for cooler regions. P 460-467. In: R. Shibles (ed.). Proceedings of the WSRC III, Ames, Iowa, USA.

78. Soldati, I. (1995). Soybean. In W. Diepenbrock and H. C. Becker (eds.)., Physiological Potentials for Yield Improvement of Annual oil and Protein Crops. Advances in Plant Breeding 17:169-218, Berlin-Vienna

79. Spaink, H. P. (2000). Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 54: 257-288

80. Štafa, Z., Redžepović, S., Grbeša, D., Uher, D., Maćešić, D., Leto, J. (1999). Effects of Inoculation and Top- Dressing with KAN on Yields and Characteristics of Winter Peas in Wheat Mixture Agriculturae Consppectus Scientificus 64: 211-222-

81. Sunj Sin Dun. (1958). Soja (prijevod s kineskog), Moskva

82. Tate, R. L. (1995). Soil microbiology. Symbiotic nitrogen fixation. John Wiley & Sons, Inc., New York. 307-333.

83. Tomić, F. (1992). Istraživački rad i podloge za projektiranje i izvođenje sustava natapanja: Priručnik hidrotehničke melioracije, II kolo, Natapanje, knjiga 1, Opći dio. Zagreb.

84. Topol, J., Kanižai Šarić, G. (2013). Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. Agronomski glasnik, 75 (2): 117-134.

85. Vance, C. P. (1996). Root bacteria interactions symbiotic nitrogen fixation in Y Waisel, A. Eschel, and U. Kafkati (eds.) Plant roots: The hidden Half, Marcel Dekker, Inc, New York, 723-756 in C. P. Vance, Legume Symbiotic Nitrogen Fixation Agronomic aspects, H. P. Spaink, A. Kondorosi, P. J. J. Hookyaas (eds.), The *Rhizobiaceae*, Kluwer Academic Publishers, 510-530

86. Vratarić, M., Sudarić A. (2000). Soja (monografija) Poljoprivredni institut Osijek, Osijek: 1-217.

87. Vratarić, M., Sudarić, A. (2008). Soja, *Glycine max* (L.) Merr. Poljoprivredni institut Osijek, 21-218.

88. Vratarić. M., Sudarić, A. (2007). Tehnologija proizvodnje soje. Poljoprivredni institut Osijek

89. Young, C. C., Cheng, K. T. (1997). Genetic diversity of fast-and slow-growing soybean rhizobia determined by random amplified polymorphic DNA analysis; Biol Fertil Soils, 26: 254-256.

90. Zahran, H. H. (1999).*Rhizobium*-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate, Microbiology and molecular biology reviews, 63: 968-989.

91. BASF (2016). <https://agro.basf.ca/West/KnowledgeCenter/AgSolutionsAdvisor/CurrentIssue/PulsesEditionNov/buildupPulses.html>Pristupljeno 10. travnja 2018.

92. POLJOMAGAZIN (2000). http://www.poljomagazin.com/?p=35112 Pristupljeno 14. srpnja 2018.

93. RWA (2017). <https://rwa.hr/dh-5170-nova-vrhunska-sorta-soje/> Pristupljeno 21. svibnja 2018.

94. TEZCAN LAB (2016). Uscddepartment of chemistry and biochemistry http://tezcan.ucsd.edu/index.php/2016/02/15/evidence-for-functionally-relevant-encounter-complexes-in-nitrogenase-catalysis/ Pristupljeno 10. travnja 2018.

8. Životopis

Andrijana Galić rođena je u Makarskoj 08. lipnja 1992. godine. Nakon završene osnovne škole „Prva osnovna škola“ upisuje opću gimnaziju „Gimnazija fra Dominika Mandića“ 2008. u Širokom Brijegu, a završava 2011. godine. Preddiplomski studij Agroekologije upisala je 2011. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, a nakon toga, 2014. godine upisuje diplomski studij Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi na istom fakultetu. Tijekom školovanja stekla je znanje engleskog jezika u svim područjima na C1 razini, španjolskog na A2 razini i pohađala je radionicu „World in the city“ gdje je s izvornim govornicima učila osnove portugalskog jezika.

Prisustvovala je međunarodnoj konferenciji o poljoprivredi i prehrani „Slavonika“ u Osijeku, radionicama „Predstavi se kroz životopis“, „Razgovor za posao – korak po korak“ te „Prezentacijske vještine“ na Danima karijera na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Također je prisustvovala međunarodnom sajmu poduzetništva, obrtništva i poljoprivrede „Viroexpo“ u Virovitici.

Članica je Hrvatskog udruženja studenata agronomije i srodnih znanosti – IAAS Hrvatska gdje je bila predsjednica udruge u razdoblju od godine dana. Dobre organizacijske vještine stekla je organizacijom tjedna razmjene studenata „Turizam kao pokretač poljoprivrede u primorskoj Hrvatskoj“ na Kvarneru, Subregionalnom sastanku u Zagrebu te 61. Svjetskom kongresu „Croatia: A tale of land and water“ koji se održavao u Zagrebu, Istri i Dalmaciji. Sudjelovala je na tjednu razmjene u Italiji, Španjolskoj i Švicarskoj, na seminaru u Njemačkoj te skupu europskih članica u Hrvatskoj i Crnoj Gori.

Predstavnica je studenata u Povjerenstvu za usklađivanje rada i podataka s GDPR na Agronomskom fakultetu.

Dobro vlada svim računalnim vještinama, Microsoft Office paketom te se zna služiti programom „Prometheus“. U slobodno vrijeme bavi se izradom nakita, uređivanjem Facebook stranice i fotografiranjem.