

DJELOTVORNOST ADHEZIVNIH SREDSTAVA U PREDSJETVENOJ BAKTERIZACIJI SJEMENA SOJE

Zlata Milaković, Gabriella Kanižai Šarić, I. Veselovac, I.J. Kalajžić

Izvorni znanstveni članak
Original scientific paper

SAŽETAK

Učinkovitost predsjetvene bakterizacije sjemena soje može se poboljšati primjenom tvari koji povećavaju adheziju preparata na sjeme. Na taj se način osigurava veći inicijalni inokulum u tlu, što utječe na stvaranje većega broja i mase kvržica, što u konačnici rezultira i većim ostvarenim prinosom. U ovome radu ispitana je djelotvornost različitih adhezivnih tvari na nodulacijsku sposobnost i komponente prinosa soje. Najbolji učinak na ispitane parametre utvrđen je primjenom šećera i meda, dok s karboksimetil celulozom nije zabilježen takav utjecaj.

Ključne riječi: soja, bakterizacija, adhezivne tvari, nodulacija, prinos

UVOD

Predsjetvena bakterizacija sjemena soje visokoučinkovitim sojevima *Bradyrhizobium japonicum* preporučena je redovna mjera u proizvodnji te leguminoze. Soja i kvržične bakterije uspostavljaju simbiotsko-mutualistički odnos, koji omogućava usvajanje atmosferskoga dušika unutar kvržica koje se formiraju na korijenu. Uspješna nodulacija ovisi o nizu abiotskih i biotskih interakcija u tlu. Nadalje, nodulacija, a potom i fiksacija dušika, zahtijeva ispunjenje dva bitna uvjeta, kolonizaciju površine korijena s kompatibilnim *Rhizobium* sojem i infekciju korijenovih dlačica (Singleton i Bohlool, 1984). Na taj se način može fiksirati 40 kg N ha⁻¹, a u povoljnim uvjetima i do 300 kg N ha⁻¹ (LaRue i Patterson, 1981.; Keyser i Li, 1992.). Upotreba mikrobioloških preparata koji sadrže simbiotske fiksatore dušika stoga je ekonomski isplativa, jer se smanjuje potreba usjeva za mineralnom ishranom dušika, a, osim toga, i ekološki je prihvatljiva (Sikora i Redžepović, 2000.; Sudarić i sur. 2008.). Biološka fiksacija dušika smatra se bitnom i integralnom komponentom održivoga poljoprivrednoga sustava (Sessitsch i sur. 2002.). Poznato je da se različiti sojevi *B. japonicum* međusobno znatno razlikuju po svojoj simbioznoj učinkovitosti, stoga je selekcija visoko učinkovitih sojeva od presudnoga značaja u proizvodnji preparata za bakterizaciju (Sikora i Redžepović, 2000.). Autohtoni sojevi visoko su adaptirani na naše agroekološke uvjete i preparat koji sadrži više aktivnih sojeva je i kvalitetniji (Sikora i Redžepović, 2000.; Vratarić i Sudarić, 2008.). Komercijalni preparati prisutni na tržištu R. Hrvatske koriste treset kao nosač

bakterijskih stanica. Treset je prvi izbor većine proizvođača mikrobioloških preparata u svijetu, zbog visokoga sadržaja organske tvari, optimalnoga kemijskoga sastava i dobrog kapaciteta zadržavanja vode (Stephens i Rask, 2000.; Deaker i sur. 2004.). Djelotvornost preparata može se poboljšati dodatkom različitih adhezivnih sredstava. Ta sredstva pomažu boljem prijanjanju/lijepljenju aktivnih sastojaka preparata na površinu sjemena, osim toga štite stanicu od isušivanja, što rezultira očuvanjem vijabilnosti stanica kvržičnih bakterija na sjemenu leguminoza (Scott, 1989.; Deaker i sur. 2004.). Na taj se način utječe na bolju infekciju, potom i na bolju nodulaciju korijena soje. Adhezivi koji se koriste u poljoprivrednoj praksi su polimeri, poput arapske gume, metil celuloze, polivinilpirolidina, polivinil acetata (Deaker i sur. 2004.) ili adhezivi, poput kazeina, želatine, škroba ili brašna (Scott, 1989.; Hungria i sur. 2005.).

U ovome je radu ispitana djelotvornost lako pristupačnih adhezivnih sredstava, poput šećera, meda te karboksimetil celuloze, kao umjetnoga zgušnjivača, i njihov utjecaj na nodulaciju i komponente prinosa soje.

MATERIJAL I METODE

Poljski su pokusi postavljeni u okolici Osijeka (45,34° sjeverne geografske širine i 18,41° istočne

Prof.dr.sc. Zlata Milaković, doc.dr.sc. Gabriella Kanižai Šarić (gkanizai@pfos.hr), Ivan Veselovac i Ivan Jeronim Kalajžić - studenti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Kralja P. Svačića 1d, 31 000 Osijek, R. Hrvatska

geografske dužine) na ritskoj crnici na lesu (Škorić, 1977.) s dosta humusa (3,5%), blago alkalne reakcije tla (7,99 u KCl i 7,38 u H₂O) s 21,9 mg P₂O₅ i 16,7 mg K₂O na 100 g tla te s 2,14% karbonata. Obrada tla obuhvatila je oranje i ravnanje sjetvospremačem na veličini parcele od 480 m². Provedena je gnojidba s 40 kg N ha⁻¹ i 130 kg P₂O₅ ha⁻¹ i 130 kg K₂O ha⁻¹. Zaštita protiv širokolisnih i travnih korova provedena je u tri navrata: u V₁ fazi (okasulfuron), V₄ fazi (okasulfuron + tifensulfuron) i u fazi V₄ (fluazifop-p-butil). Sjetva je obavljena žitnom sijačicom u optimalnim rokovima sortom Zora. Pokus je postavljen u četiri ponavljanja po slučajnome rasporedu. U istraživanjima je korišten mikrobiološki preparat osječškoga Poljoprivrednoga fakulteta Nitrobakterin^S koji sadrži više autohtonih visokoučinkovitih sojeva *B. japonicum* na sterilnome tresetu. Preparat sadrži 3-5x10⁹ CFU/g treseta, a sojevi su izolirani na području Osječko-baranjske županije. Neposredno pred sjetvu provedeno je miješanje preparata s vodom (kontrola), koji je potom dobro promiješan sa sjemenom. Ispitane varijante obuhvatile su smjesu Nitrobakterina^S s 10% (w/v) otopinom saharoze (Varma i sur. 1973.), medom (10%, w/v) (Elegba i sur. 1984.) i karboksimetil celulozom (3%, w/v) (Scott, 1989.) otopljenima u vodi, koji su potom promiješani sa sjemenom soje, nakon čega je izvršena sjetva. U punoj fazi cvatnje uzeti su uzorci 5 biljaka te je utvrđen broj i masa suhe tvari kvržica po biljci, masa nadzemnoga i podzemnoga dijela po biljci soje. U žetvi je utvrđen broj mahuna po m², prinos (preračunat na 13% vlage), masa 1000 zrna i hektolitarska masa.

Normalnost distribucije podataka testirana je Kolmogorov-Smirnov testom. Podaci su obrađeni jednosmjernom analizom varijance, dok su značajne razlike između tretmana ispitane Duncanovim testom višestruke usporedbe. Za statističku analizu podataka korišteni su programski sustavi Excel 2003 (Microsoft) i Statistica 7 (StatSoft).

REZULTATI I RASPRAVA

Formiranje kvržica i fiksacija dušika veoma su složeni procesi osjetljivi prema okolišnim i genetskim uvjetima koji utječu na biljke, bakterije i njihove interakcije (Hungria i Stacey, 1997.). Broj i masa kvržica predstavljaju indikatore učinkovitosti fiksacije dušika (Gwata i sur., 2004.). Između njih utvrđen je vrlo značajan pozitivan korelacijski koeficijent, koji je, također, pod utjecajem varijacija unutar genotipa i uvjeta okoline (Sinclair i sur., 1991.). Prosječan broj kvržica po biljci soje kreće se i do nekoliko stotina (Jug i sur. 2005.; Serraj i Sinclair, 1998.), a ovisan je o sadržaju vode u tlu, pH tla, temperaturi, mineralnoj gnojidbi dušikom, salinitetu, ali i o tipu kultivara i soju *B. japonicum* (Singleton i Bohlool, 1984.; Redžepović i sur., 1991.). U našem istraživanju najveći broj kvržica ostvaren je u tretmanu sa šećerom i medom, gdje su utvrđene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u komparaciji s kontrolom, s tim da je djelotvornost šećera bila za 20% bolja u odnosu na med, tj. za 60% u odnosu na kontrolu (Tablica 1.). Tretmanom sa šećerom i medom utvrđena je i najveća masa suhe tvari kvržica uz statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) u usporedbi s kontrolom, dok je u tome slučaju tretman s medom bio učinkovitiji u odnosu na šećer za 33%. Karboksimetil celuloza nema zadovoljavajuću djelotvornost kao adhezivni agens na broj i suhu masu kvržica, dapače njen je učinak skoro identičan kontrolnome. Najvjerojatniji uzrok oskudne nodulacije u tome tretmanu je nedovoljna primijenjena koncentracija od 3%, w/v, koja je bila nedostatna za uspješno lijepljenje preparata na sjeme soje. Drugačije rezultate utvrdili su Elegba i Rennie (1984.), u čijim se istraživanjima karboksimetil celuloza, uz arapsku gumu, pokazala kao najbolji adhezivni agens koji veže preko 10⁶ vijabilnih stanica rizobija po sjemenu i formira preko 100 kvržica po biljci. Med i šećer, u istom istraživanju, pokazali su se, također, kao dobre adhezivne tvari, čijom je primjenom zabilježeno 94, tj. 83 kvržice po biljci soje, što je 58, tj. 53% više u odnosu na kontrolu. Nadalje, primjena ispitanih adhezivnih sredstava nije utjecala na povećanje suhe nadzemne i podzemne mase soje.

Tablica 1. Broj kvržica po biljci, masa suhe tvari kvržica po biljci, suha masa nadzemnoga dijela i suha masa korijena po biljci u ovisnosti o različitim primijenjenim adhezivnim sredstvima

Table 1. Number of nodules per plant, nodule dry weigh per plant, dry weight of aboveground parts and root dry weight per plant in dependence on a variety of applied adhesive materials

| Adhezivna sredstva | Broj kvržica po biljci | Masa suhe tvari kvržica po biljci (g) | Suha masa nadzemnoga dijela po biljci (g) | Suha masa korijena po biljci (g) |
|------------------------|------------------------|---------------------------------------|---|----------------------------------|
| Kontrola | 10,0 a | 0,07 a | 29,88 a | 6,95 a |
| Šećer | 25,2 b | 0,14 b | 23,92 b | 6,94 a |
| Med | 20,2 c | 0,21 c | 22,88 b | 6,81 a |
| Karboksimetil celuloza | 10,4 a | 0,08 a | 21,85 b | 6,47 a |

Vrijednosti označene istim slovima unutar kolone nisu statistički značajno različite ($p < 0,05$)

Values designated the same letter within each column are not significantly different ($p < 0,05$)

Primjenom šećera i meda utvrđene su statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolu u broju mahuna na m^2 (Tablica 2.), s tim da je djelotvornost meda za 13% veća u komparaciji sa šećerom. Primjenom šećera i meda povećava se i masa 1000 zrna, uz utvrđene statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu ($p < 0,05$). U tome je slučaju djelotvornost šećera bila za oko 4% bolja u odnosu na med. Nadalje, tretmani sa šećerom i medom ostvaruju 20, tj. 30% veći prinos soje uz utvrđene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolu. Slične rezultate zabilježili su Brandao Junior i Hungria (2000.), koji su, primjenom 10% otopine

saharaze, ostvarili 10% veći prinos zrna soje u odnosu na kontrolu. Autori su zaključili kako se korištenjem šećera povećava adhezija treseta na sjeme soje do 90%, čime se utječe na bolju nodulaciju, osim toga nije došlo do razvoja bolesti sjemena, niti do drugih pomjena njegova vigora. Nadalje, nije utvrđen pozitivan utjecaj karboksimetil celuloze na ispitane parametre komponenti prinosa soja. Daljnja bi istraživanja trebala utvrditi koje su optimalne koncentracije karboksimetil celuloze za uspješnu adheziju na sjeme soje. Također, nije utvrđen utjecaj ispitanih adhezivnih tvari na hektolitarsku masu soje.

Tablica 2. Komponente prinosa soje u ovisnosti o različitim primijenjenim adhezivnim sredstvima

Table 2. Components of soybean yields in dependence on a variety of applied adhesive materials

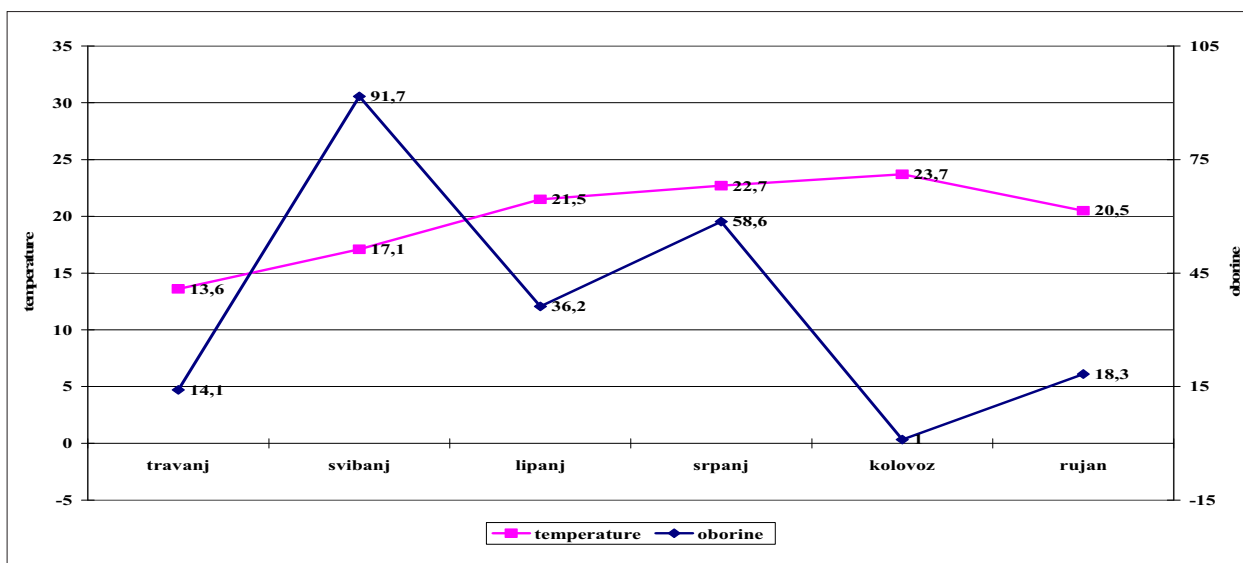
| Adhezivna sredstva | Komponente prinosa | | | |
|------------------------|----------------------|--------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| | Broj mahuna po m^2 | Masa 1000 zrna (g) | Prinos zrna ($t ha^{-1}$) | Hektolitarska masa ($kg hl^{-1}$) |
| Kontrola | 1056 a | 137,82 a | 2,52 a | 71,0 a |
| Šećer | 1127 b | 153,78 b | 3,10 b | 71,0 a |
| Med | 1296 c | 147,92 c | 3,55 c | 71,6 a |
| Karboksimetil celuloza | 1029 a | 137,34 a | 2,42 a | 70,0 a |

Vrijednosti označene istim slovima unutar kolone nisu statistički značajno različite ($p < 0,05$)

Values designated the same letter within each column are not significantly different ($p < 0.05$)

Očigledno je kako primjena adheziva utječe na stvaranje većeg broja kvržica, samim time i na bolji učinak fiksacije dušika, što je umanjilo stres biljke uvjetovan vremenskim prilikama, a u konačnici je rezultiralo većim ostvarenim prinosom. Naime, zbog vrlo dugoga sušnoga razdoblja (Grafikon 1.), koje je trajalo gotovo četiri dekade (druge dvije dekade lipnja i prve dvije dekade srpnja), soja je ranim fazama rasta i razvoja tijekom

vegetacije često imala temperaturni stres, istovremeno jače naglašen nedostatkom vode u tlu u fazi njene povećane osjetljivosti u cvatnji, oplodnji i pri nalijevanju zrna (Josipović i sur., 2011.). Zbog takvih vremensku prilika Osječko-baranjska županija je i proglasila elementarnu nepogodu od suše, prouzročenu nedostatkom oborina tijekom ljetnoga razdoblja.



Grafikon 1. Walter klima dijagrama za vegetacijski period travanj-rujan 2011. godine

Graph 1. Walter diagram (April-September of 2011 year)

Iako je na poljoprivrednim gospodarstvima raširena praksa primjene lako pristupačnih adhezivnih tvari poput šećera, sokova i sl. u sklopu predsjetvene bakterizacije soje, u cilju vezanja što većega broja stanica *B. japonicum* na sjeme soje, što rezultira stvaranjem optimalnog inicijalnog inokuluma u tlu, neophodnoga za uspješnu nodulaciju soje, nedostaju egzaktne istraživanja o njihovom utjecaju na stvaranje kvržica i komponente prinosa. Većina istraživanja adhezivnih tvari bazirana je na ispitivanju vijabilnosti stanica rizobija na sjemenu leguminoza (Scott, 1989.). Međutim, potrebna su daljnja istraživanja, kako bi se razjasnili točni mehanizmi po kojima te tvari poboljšavaju preživljavanje stanica (Deaker i sur., 2004.).

ZAKLJUČAK

Primjenom šećera i meda kao adheziva u sklopu predsjetvene bakterizacije sjemena soje, povećava se broj i masa suhe tvari kvržica po biljci. Nadalje, njihovom primjenom povećava se broj mahuna, masa 1000 zrna, samim time i prinos soje. Daljnja bi istraživanja trebala detaljnije ispitati učinkovitost i drugih lako pristupačnih adheziva te utvrditi optimalni izbor, s obzirom na njihovu pristupačnost i cijenu koštanja.

LITERATURA

- Brandão Junior, O., Hungria, M. (2000.): Effects of concentrations of sugar cane solution on the adhesion of peat-based inoculant to the seeds on the nodulation and soybean yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 24: 515-526.
- Deaker, R., Roughley, R.J., Kennedy, I.R. (2004.): Legume seed inoculation technology—a review. *Soil Biology & Biochemistry* 36:1275–1288.
- Elegba, M.S., Rennie, R.J. (1984.): Effect of different inoculant adhesive agents on rhizobial survival, nodulation, and nitrogenase (acetylene-reducing) activity of soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill). *Canadian Journal of Soil Science* 64: 631-636.
- Gwata, E.T., Wofford Pfhler, P.L., Boote, K.J. (2004.): Genetics of Promiscuous Nodulation in Soybean: Nodule Dry Weight and Leaf Color Score. *Journal of Heredity* 95(2):154–157.
- Hungria, M., Stacey, G. (1997.): Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biology and Biochemistry* 29: 819–830.
- Hungria, M., Loureiro, M.F., Mendes, I.C., Campo, R.J., Graham, P.H. (2005.): Inoculant preparation, production and application. In: Werner D, Newton WE (eds) *Nitrogen fixation in agriculture forestry, ecology and the environment*. Series: nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment. Springer, Berlin Heidelberg New York: 223–253.
- Hungria, M., Franchini, J.C., Campo, R.J., Crispino, C.C., Moraes, J.Z., Sibalidelli, R.N.R., Mendes, I.C., Arihara, J. (2006.): Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Sciences* 86: 927–939.
- Josipović, M., Kaučić, D., Kovačević, V., Brkić, I. 2011. Utjecaj temperaturnog i oborinskog režima na vegetaciju proljetnih usjeva 2011. godine. Dan polja kukuruza, soje, suncokreta i krmnog bilja, znanstveni izvještaj. Poljoprivredni institut Osijek
- Jug, D., Blažinkov, M., Redžepović, S., Jug, I., Stipešević, B. (2005.): Utjecaj različitih varijanata obrade tla na nodulaciju i prinos soje. *Poljoprivreda* 11 (2): 38-43.
- Keyser, H.H., Li, F. (1992.): Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. *Plant and Soil* 141: 119-135.
- LaRue, T.A., Patterson, T.G. (1981.): How much nitrogen do legumes fix? *Advances in Agronomy* 34: 15-38.
- Redžepović, S., Sikora, S., Sertić, Đ., Manitašević, J., Šoškić, M., Klaić, Ž. (1991.): Utjecaj fungicida i gnojidbe mineralnim dušikom na bakterizaciju i prinos soje. *Znanost i praksa u poljoprivrednoj tehnologiji* 21: 43-49.
- Scott, J.M., (1989.): Seed coatings and treatments and their effects on plant establishment. *Advances in Agronomy* 42, 43–83.
- Serraj, R., Sinclair, T.R. (1998.): Soybean cultivar variability for nodule formation and growth under drought. *Plant and Soil* 202: 159–166.
- Sessitsch, A., Howieson, J.G., Perret, X., Antoun, H., Martínez-Romero, E. (2002.): *Advances in Rhizobium Research*. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21: 323–378.
- Sikora, S., Redžepović, S. (2000.): Identifikacija autohtonih sojeva *Bradyrhizobium japonicum* izoliranih iz različitih tipova tala zapadne Slavonije. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 65: 229-236.
- Singleton, P.W., Bohlool, B.B. (1984.): Effect of Salinity on Nodule Formation by Soybean. *Plant Physiology* 74: 72-76
- Sinclair, T.R., Soffes, A. R., Hinson, K., Albrecht, S.L., Pfahler, P.L. (1991.): Genotypic variation in soybean nodule number and weight. *Crop Science* 31: 301–304.
- Stephens, J.H.G., Rask, H.M. (2000.): Inoculant production and formulation. *Field Crops Research* 65: 249-258
- Sudarić, A., Vratarić, M., Duvnjak, T. (2008.): Povezanost učinka bakterizacije i rodosti genotipova soje. *Proceedings of the 43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture*: 295-298.
- Škorić, A. (1977.): Tla Slavonije i Baranje. U "Tla Slavonije i Baranje" (Škorić A. urednik), Projektni savjet pedološke karte SR Hrvatske, Posebna izdanja, Knjiga 1. Zagreb. str. 7.-58.
- Varma, A.K., Subba Rao, N.S. (1973.): Sucrose and application of Rhizobium on seed. *Plant and Soil* 38: 227-230.
- Vratarić, M., Sudarić, A. (2008.): Soja. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku i Poljoprivredni institut, Osijek.

EFFECTIVENESS OF ADHESIVES IN SOYBEAN SEED INOCULATION

SUMMARY

Effectiveness of soybean seed inoculation can be improved by application of substances increasing adhesion of inoculant to the seed. Higher initial inoculum in the soil is ensured in this way, which increases formation of higher number and mass of nodules and consequently produces higher yield. In this research effects of different adhesives on nodulation capacity and components of soybean yield has been investigated. The best result of the investigated parameters was obtained by sugar and honey application, while carboximethyl cellulose did not show similar influence.

Key-words: *soybean, inoculation, adhesives, nodulation, yield*

(Primljeno 08. veljače 2012.; prihvaćeno 16. travnja 2012. - Received on 8 February 2012; accepted on 16 April 2012)