

Simbiozna učinkovitost selekcioniranih autohtonih sojeva *Bradyrhizobium japonicum*

Branka Komesarović, Sulejman Redžepović, Mihaela Blažinkov,
Aleksandra Sudarić, Darko Uher, Sanja Sikora

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 631.115.1

Sažetak

*Simbiozna fiksacija dušika ima jedinstvenu ulogu u održivoj poljoprivredi, jer iskorištavanje ovoga prirodnog procesa omogućuje značajnu redukciju mineralne gnojidbe dušikom. Pri tome, selekcija visoko učinkovitih sojeva simbioznih fiksatora dušika je od presudne važnosti za uspjeh predsjetvene bakterizacije leguminoza, zbog toga što se sojevi kvržičnih bakterija značajno razlikuju po svojoj učinkovitosti, kompetitivnosti i kompatibilnosti. Cilj ovih istraživanja je provjera simbioznih karakteristika autohtonih i referentnih sojeva *Bradyrhizobium japonicum* i *Bradyrhizobium elkanii* te njihove kompatibilnosti sa različitim sortama soje u agroekološkim uvjetima istočne Slavonije. Tijekom dvogodišnjih istraživanja postavljeni su dvofaktorijski poljski pokusi po metodi slučajnog blokno rasporeda u pet repeticija. Dobiveni rezultati ukazuju da su svi korišteni sojevi *B. japonicum* pozitivno djelovali na sva promatrana svojstva, a posebno na prinos, kao najvažniji parametar u uzgoju soje. Najveća masa suhe tvari kvržica utvrđena je uz primjenu autohtonog soja *B. japonicum* S69 koji je izoliran iz sličnih agroekoloških uvjeta. U pokusu korišten soj *B. elkanii* S 76^T, iako po broju kvržica najbolji, uvjetovao je pojavu kloroze lista u vrijeme pune cvatnje. Utvrđene su značajne razlike u nodulaciji u odnosu na korištene sorte soje Ika i Nada. Značajan nedostatak oborina u 2002. godini odrazio se na sva istraživana svojstva, u odnosu na 2001. godinu. Najveći sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke, kao i najviši prinosi zrna soje, ostvareni su uz primjenu autohtonih sojeva *B. japonicum* S69 i S75. Dobiveni rezultati ukazuju da se navedeni autohtoni sojevi odlikuju najvećom simbioznom učinkovitošću i da bi mogli poslužiti za proizvodnju cjepiva za predsjetvenu bakterizaciju soje na ovom području.*

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

Uvod

Za većinu usjeva dušik je glavni ograničavajući hranjivi element. Proizvodnja visoko kvalitetne, bjelančevinama bogate hrane uglavnom ovisi o dostupnom dušiku. Popratne pojave velike primjene dušičnih gnojiva u razvijenim zemljama su isparavanje dušičnog oksida u atmosferu, ispiranje nitrata u podzemne vode, iscrpljenje neobnovljivih resursa i neuravnoteženost globalnog kruženja dušika (Vance, 1998.). Upravo je zaštita okoliša bila glavni razlog za pronalazak odgovarajućih alternativa za intenzivnu poljoprivrednu proizvodnju. Održiva poljoprivreda predstavlja sustav gospodarenja kojim se održava ili povećava postignuta razina proizvodnje, smanjuje rizik proizvodnje, a prirodne sirovine se čuvaju od iscrpljenja i uništenja. Primjena predsjetvene bakterizacije soje omogućuje značajni unos biološki vezanog dušika i na taj način moguće je znatno reducirati primjenu skupog mineralnog dušika (Redžepović i sur., 2006., 2007.). Pri tome je važno 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 potpuno nepoznata. Zbog toga identifikacija i karakterizacija autohtonih sojeva simbioznih fiksatora dušika ima veliki značaj u mnogim istraživanjima (Bradić i sur., 2003.; Germano i sur., 2006.; Hungria i sur., 2003.; Sikora i sur., 2002.) U prethodnim istraživanjima, iz različitih tipova tala Slavonije izolirani su autohtoni sojevi *Bradyrhizobium japonicum* te su genetski diferencirani primjenom različitih molekularnih metoda (Sikora i Redžepović, 2000., 2003.). U vegetacijskim pokusima u stakleniku provjerena je njihova simbiozna učinkovitost i kompatibilnost sa određenim sortama soje. Rezultati vegetacijskog pokusa omogućili su početnu selekciju autohtonih sojeva. U ovom radu prikazana su istraživanja koja se odnose na konačnu provjeru nekih autohtonih sojeva *B. japonicum* u poljskim pokusima u kojima se procjenjuje simbiozna učinkovitost sojeva, kompatibilnost sa sortama soje te njihova adaptacija na određene agroekološke uvjete. Na osnovi svih dobivenih rezultata poljskih pokusa, selekcioniraju se najkvalitetniji autohtoni sojevi *B. japonicum*, koji će poslužiti u proizvodnji cjepiva za specifične uvjete određenog područja. Osiguravanjem kvalitetnih autohtonih sojeva za predsjetvenu bakterizaciju soje nastoji se smanjiti potreba za introdukcijom stranih komercijalnih sojeva, koji često ne mogu dati očekivane rezultate u našim agroekološkim uvjetima (Redžepović i sur., 1999.).

Materijal i metode rada

Sorte soje

Korištene su dvije sorte soje Poljoprivrednog Instituta Osijek: Nada - rana sorta, 0 grupa zriobe, priznata 1994. godine i Ika - sorta 0-I grupe zriobe, priznata 1998. godine.

Sojevi kvržičnih bakterija

Za procjenu simbiozne učinkovitosti korišteni su autohtoni sojevi *B. japonicum* izolirani iz tala istočne Slavonije sa područja Čepina, Piškorevaca i Budimaca te referentni soj *B. japonicum* S344 i tipski soj *B. elkanii* USDA 76^T. Primjenom molekularnih metoda 16S rDNA PCR-RELP, rep-PCR i RAPD identificirani su i karakterizirani autohtoni sojevi *B. japonicum*. Na osnovi rezultata korištenih molekularnih metoda svi izolati sa područja istočne Slavonije podijeljeni su u tri glavne skupine (Sikora i Redžepović, 2003.). U ova istraživanja uključen je iz svake skupine po jedan autohtoni soj i to soj: S68 izoliran sa područja Čepina (pH tla = 7,16), soj S69 izoliran sa područja Piškorevaca (pH tla = 5,46) te soj S75 izoliran sa područja Budimaca (pH tla = 4,16). Autohtoni soj *B. japonicum* S68 po svojim genetskim karakteristikama najbliži je referentnom soju S344 i pripadaju istoj genetskoj skupini. Na osnovi molekularne karakterizacije, soj S69, premda pripada drugoj genetskoj skupini, relativno je sličan soju S68 i referentnom S344. Autohtoni soj *B. japonicum* S75 pripada genetski vrlo različitoj skupini.

Karakteristike tla

U svrhu procjene simbiozne fiksacije dušika odabrane su reprezentativne lokacije za postavljanje poljskih pokusa. Obje parcele se koriste u intenzivnoj ratarskoj proizvodnji na kojima se soja nije sijala deset godina. U plodoredu se izmjenjuju sljedeće kulture: pšenica, kukuruz i šećerna repa. Pokus je postavljen 2001. i 2002. godine na parcelama obiteljskog gospodarstva u Drenovcima, na pseudoglejnom i lesiviranom tipu tla, lokacije Trizlovo i Široko.

Prije postavljanja pokusa uzeti su uzorci iz oraničnog horizonta 0 - 30 cm dubine za kemijsku analizu tla. Standardna laboratorijska istraživanja obuhvatila su određivanja reakcije tla u vodi i M-KCl-u te određivanje sadržaja humusa (%) metodom Tjurina, ukupnog dušika (%) mikro Kjeldahlovom metodom i fiziološki aktivnih hraniva: fosfora (mg P₂O₅/100 g

tla) i kalija (mg K₂O/100 g tla) AL-metodom. Kemijske analize tla provedene su u Zavodu za pedologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Rezultati kemijskih analiza za lokalitet Trizlovo pokazuju da tlo ima umjereno kiselu reakciju, da je slabo humozno te dobro opskrbljeno fiziološki aktivnim hranivima. Na lokalitetu Široko utvrđena je nešto kiselija reakcija tla i slabija humoznost, dok je opskrbljenost fiziološki aktivnim hranivima bila osrednja.

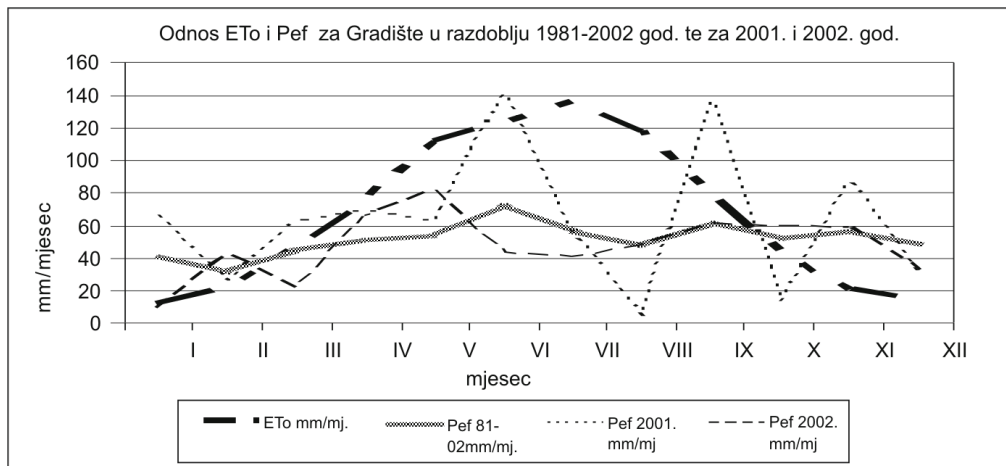
Tablica 1. Rezultati kemijskih analiza tla za lokaciju I (2001. god.) i II (2002. god.)

Table 1: Soil chemical analysis results for location I (Year 2001) and II (Year 2002)

Oznaka uzorka Sample	Dubina tla u cm Soil depth in cm	pH		Humus %	Ukupni N % Total N (%)	mg/100 g tla mg/100 g soil	
		H ₂ O	KCl			P ₂ O ₅	K ₂ O
I - 2001.	0 - 30	6,6	5,4	2,7	0,15	32,7	30,0
II - 2002.	0 - 30	6,4	5,1	1,2	0,07	12,3	19,2

Klimatski uvjeti

Za razradu klimatske situacije ispitivanog područja korišteni su podaci Državnog hidrometeorološkog Zavoda, hidrometeorološke stanice Gradište kod Županje za razdoblje od 1981. do 2002. godine. Srednja godišnja temperatura zraka kroz promatrano razdoblje iznosi 11,4 °C, a prosječna godišnja količina oborina iznosi 672,9 mm. Godišnje sume oborina su dosta neujednačene i variraju od 371,2 mm (2000. god.), do 961,8 mm (2001. god.) i 629,3 mm (2002. god.). Na osnovi sljedećih parametara: srednje mjesečne temperature zraka, relativne vlage zraka, brzine vjetra, insolacije i radijacije izračunata je referentna evapotranspiracija (E_{to}) po Penman-Monteithu za razdoblje 1981. - 2002. Ako se izračunate vrijednosti referentne evapotranspiracije (E_{to}) usporede sa efektivnim oborinama, što podrazumijeva količinu vode koja ostaje u tlu nakon otjecanja suvišnih oborina, dobivena razlika predstavlja nedostatak vode u određenom vegetacijskom razdoblju. Efektivne oborine (P_{ef}) su izračunate prema USBR metodi.



Grafikon 1: Odnos evapotranspiracije i efektivnih oborina

Figure 1: Relation between evapotranspiration and efficient rainfall

Na grafikonu 1 uočava se značajna razlika u odnosu ETo i Pef za 2001. i 2002. godinu, što ukazuje na neujednačene bilance vode u vegetacijskom razdoblju i specifične uvjete za obje godine.

Poljski pokus

Dvofaktorijalni pokus po metodi slučajnog bloknog rasporeda u pet repeticija postavljen je na lokacijama Trizlovo (2001. godine) i Široko (2002. godine). Faktori pokusa bili su sljedeći: sojevi *B. japonicum* (nebakterizirana kontrola; referentni soj *B. japonicum*- S344; tri autohtona soja *B. japonicum* - S68, S69, S75; tipski soj *B. elkanii* S76^T) i sorte soje (Nada, Ika). Ukupno je postavljeno 60 osnovnih parcelica (12 kombinacija u pet repeticija) na površini 39 m x 51 m (1989 m²). Predsjetvena gnojidba na obje lokacije obavljena je sa 300 kg/ha NPK 7:20:30. Prema shemi pokusa, na parcelicama 2,5 x 5 m (međuredni razmak 0,5 m), soja je posijana ručno na prvoj lokaciji 4.5.2001., a na drugoj lokaciji 2.5.2002. Odabrani autohtoni i referentni sojevi umnoženi u laboratorijskim uvjetima i naneseni na treset kao nosač, pripremljeni su u Zavodu za mikrobiologiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu i korišteni u predsjetvenoj bakterizaciji soje.

Zaštita od korova provedena je u dva navrata (2 x 50 g/ha) *oksasulfuronom* (Dynam 75 WG).

U fazi pune cvatnje soje (8.7.2001. i 26.6.2002.) uzeto je sa svake parcelice po 30 biljaka (zajedno s korijenom). Simbiozna učinkovitost je

procijenjena na osnovi sljedećih parametara: broj kvržica po biljci, masa suhe tvari kvržica po biljci (g), sadržaj ukupnog dušika (%) u nadzemnom dijelu biljke (po 10 biljaka sa svake parcelice) te prinos zrna soje. Određivanje sadržaja dušika u biljci izvršeno je u Zavodu za kemiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Žetva pokusa soje obavljena je 30.9.2001., odnosno 20.9.2002. Svi prikupljeni podaci obrađeni su primjenom statističkog programa MSTAT-C.

Rezultati i rasprava

Broj i masa suhe tvari kvržica

Iz prikazanih rezultata za broj i masu suhe tvari kvržica (tablica 2 i 3) uočljive su signifikantne razlike između kontrolnih, nebakteriziranih i bakteriziranih varijanti. Signifikantno najveći broj kvržica utvrđen je, uz primjenu bakterizacije, sojem S76^T (*B. elkanii*) te sojem S344 (*B. japonicum*) između kojih nema statistički opravdane razlike. Primjenom autohtonih sojeva *B. japonicum* S68, S69 i S75 utvrđen je signifikantno manji ($P = 1\%$) broj kvržica u odnosu na S76^T, dok između navedena tri soja nisu utvrđene signifikantne razlike. Obzirom da je na kontrolnim varijantama bez bakterizacije utvrđen određeni broj kvržica, može se zaključiti da u tlu već postoje autohtoni sojevi kvržičnih bakterija, ali da je njihova sposobnost nodulacije znatno manja od svih sojeva unesenih predstavljenom bakterizacijom, odnosno da nisu dovoljno zastupljeni i da ne mogu izazvati odgovarajuću nodulaciju. Usporedbom rezultata dobivenih 2001. i 2002. godine uočljive su velike razlike u broju kvržica po biljci (tablica 2). U obje godine istraživanja utvrđen je signifikantan utjecaj sojeva ($P = 1\%$) i sorti ($P = 5\%$) na broj kvržica, dok interakcija sorta x soj nije bila statistički opravdana (tablica 2). Razlike klimatskih prilika u navedenim godinama (grafikon 1) su značajne i zasigurno su utjecale na formiranje kvržica. U 2001. godini, količina oborina je bila približno jednaka evapotranspiraciji (isparavanje vode iz tla i biljke), vlažnost tla je bila idealna, 60 - 70 % kapaciteta tla za vodu u vrijeme formiranja kvržica pa se time djelomično može objasniti značajno veći broj kvržica tijekom 2001. u odnosu na 2002. godinu. U 2002. godini, uočljiv je veliki nedostatak oborina u odnosu na evapotranspiraciju.

Tablica 2: Broj kvržica po biljci

Table 2: Nodule number per plant

Soj/Sorta Strain/Variety	2001. godina/year			2002. godina/year		
	Nada	Ika	X sojeva/strains	Nada	Ika	X sojeva/strains
So	11,680	11,900	11,790	9,260	9,980	9,620
S344	86,140	90,020	88,080	32,240	38,840	35,540
S76 ^T	90,580	109,740	100,160	33,560	44,940	39,250
S68	78,980	84,760	81,870	29,620	36,060	32,840
S69	69,760	80,300	75,030	29,700	32,380	31,040
S75	70,900	80,040	75,470	26,200	27,660	26,930
X sorti	68,007	76,127		26,763	31,643	

LSDsojevi/strains LSDsorte/varieties LSDsojevi/strains LSDsorte/varieties
 P_{5%} = 13,48 P_{5%} = 7,79 P_{5%} = 6,43 P_{5%} = 3,72
 P_{1%} = 18,02 P_{1%} = 10,42 P_{1%} = 8,59 P_{1%} = 4,97

U prvoj godini istraživanja, najveća masa suhe tvari kvržica utvrđena je uz primjenu autohtonih sojeva *B. japonicum* S69, S75 te soja *B. elkanii* S76^T, između kojih nije utvrđena signifikantna razlika. Utvrđena masa suhe tvari kvržica uz primjenu soja S-69 signifikantno je veća (P = 1 %) u odnosu na

Tablica 3: Masa suhe tvari kvržica po biljci (g)

Table 3: Nodule dry weight per plant (g)

Soj/Sorta Strain/Variety	2001. godina/year			2002. godina/year		
	Nada	Ika	X sojeva/strains	Nada	Ika	X sojeva/strains
So	0,104	0,082	0,093	0,065	0,099	0,082
S344	0,487	0,501	0,494	0,129	0,149	0,139
S76 ^T	0,474	0,590	0,532	0,150	0,167	0,159
S68	0,446	0,416	0,431	0,133	0,153	0,143
S69	0,532	0,622	0,577	0,155	0,147	0,151
S75	0,556	0,528	0,542	0,131	0,136	0,133
X sorti	0,433	0,457		0,127	0,142	

LSDsojevi/strains LSDsojevi/strains
 P_{5%} = 0,099 P_{5%} = 0,0285
 P_{1%} = 0,13 P_{1%} = 0,0389

masu utvrđenu uz primjenu soja S-68. Osim toga, masa suhe tvari kvržica uz primjenu soja S68 je signifikantno niža ($P = 5\%$) u odnosu na masu dobivenu primjenom sojeva S75 i S76^T. U drugoj godini istraživanja, utvrđene su signifikantne razlike ($P = 1\%$) u masi suhe tvari kvržica jedino između nebakteriziranih i bakteriziranih varijanti, dok između pojedinih sojeva nisu utvrđene statistički opravdane razlike. Promatrajući oba svojstva, broj i masu suhe tvari kvržica, između referentnog soja S344 i autohtonog S68 razlike nisu statistički opravdane u obje godine istraživanja.

Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke

Primjena autohtonih sojeva S69 i S75 rezultirala je signifikantno ($P = 1\%$) najvećim sadržajem dušika u nadzemnom dijelu biljke u odnosu na sve ostale sojeve na pokusu 2001. godine. Uočljiva je prošarano žuta boja, kloroza, izazvana na varijantama bakteriziranim sojem *B. elkanii* S76^T. Devine i sur. (1988.) navode da samo sojevi u DNA homolognoj skupini II induciraju klorozu. Dakle, ovim istraživanjima je potvrđeno izazivanje kloroze lišća, odnosno pripadnost soja *B. elkanii* II. homolognoj skupini. Broj i masa suhe tvari kvržica nisu srazmjerne vrijednosti, odnosno, može se uočiti da među sojevima postoje bitne razlike obzirom na veličinu kvržica. Tako primjena soja *B. elkanii* S76^T, koja rezultira signifikantno većim brojem

Tablica 4: Sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke (%)

Table 4: Total nitrogen content in aerial parts of plant (%)

Soj/Sorta Strain/Variety	2001. godina/year			2002. godina/year		
	Nada	Ika	X sojeva/strains	Nada	Ika	X sojeva/strains
So	1,944	1,814	1,879	1964	1,890	1,927
S344	2,462	2,666	2,564	2,572	1,992	2,282
S76 ^T	2,762	2,632	2,697	2,102	2,016	2,059
S68	2,598	2,812	2,705	2,028	1,990	2,009
S69	3,284	3,254	3,269	2,050	2,136	2,093
S75	3,252	3,254	3,253	2,012	2,068	2,040
X sorti	2,712	2,739		2,121	2,015	

LSDsojevi/ strains

$P_{5\%} = 0,3161$

$P_{1\%} = 0,4225$

kvržica, ima značajno manju masu suhe tvari kvržica u odnosu na autohtone sojeve *B. japonicum* S69 i S75. Drugim riječima, soj S76^T stvara puno sitnih kvržica, a sitnije kvržice imaju daleko manju sposobnost fiksacije dušika, što je vidljivo iz rezultata o sadržaju ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke.

Prinos zrna soje

Na svim bakteriziranim varijantama utvrđen je signifikantno veći prinos ($P = 1\%$) u odnosu na nebakterizirane, kontrolne varijante. Tijekom 2001., primjenom autohtonih sojeva *B. japonicum* S69, S75 i S68 za bakterizacije soje, utvrđeni su signifikantno viši prinosi ($P = 1\%$) u odnosu na prinose uz bakterizaciju sojem *B. elkanii* S76^T. Prinos soje uz primjenu referentnog soja S344 signifikantno je veći ($P = 5\%$) od prinosa utvrđenog na varijantama bakteriziranim sojem *B. elkanii* S76^T. Na pokusu 2002. godine najviši prinos soje je utvrđen uz primjenu bakterizacije autohtonim sojem S75, koji je izoliran iz kiselih tala, zatim autohtonim sojem S69 te referentnim sojem S344, koji se dobro adaptirao u nepovoljnim uvjetima, dok je signifikantno najmanji prinos soje uz primjenu bakterizacije ostvaren na obje lokacije primjenom soja *B. elkanii* S76^T.

Tablica 5: Prinos zrna soje (kg ha^{-1})

Table 5: Soybean seed yield (kg ha^{-1})

Soj/Sorta Strain/Variety	2001. godina/year			2002. godina/year		
	Nada	Ika	X sojeva/strains	Nada	Ika	X sojeva/strains
So	1 925,0	1 949,2	1 937,1	2 011,5	1 925,3	1 968,4
S344	2 690,6	3 372,6	3 031,6	2 747,5	2 814,8	2 781,2
S76 ^T	2 592,7	2 792,9	2 692,8	2 635,2	2 564,3	2 599,8
S68	2 602,6	3 826,9	3 214,8	2 610,9	2 764,6	2 687,8
S69	3 304,4	3 535,4	3 419,9	2 807,1	2 768,6	2 787,9
S75	3 084,4	3 557,4	3 320,9	2 846,2	2 940,8	2 893,5
X sorti/varieties	2 699,9	3 172,4		2 609,7	2 629,7	

LSDsojevi/strains

$P_{5\%} = 468,3$

$P_{1\%} = 627,3$

LSDsorte/varieties

$P_{5\%} = 270,92$

$P_{1\%} = 362,20$

LSDsojevi/strains

$P_{5\%} = 230,00$

$P_{1\%} = 308,07$

Uspoređujući dobivene rezultate prinosa soje uz primjenu bakterizacije za 2001. i 2002. godinu uočljiva je prednost primjene autohtonih sojeva *B. japonicum* u odnosu na referentne sojeve (tablica 5).

Predsjetvena bakterizacija značajna je za poljoprivrednu proizvodnju, a osobito za primjenu u održivoj poljoprivredi, jer se na taj način gnojidba mineralnim dušikom svodi na minimum, a u nekim slučajevima može se i potpuno izostaviti (Vance i Graham, 1995.).

Rezultati ovih istraživanja potvrđuju opravdanost primjene predsetvene bakterizacije kroz značajno povećanje prinosa soje što odgovara rezultatima istraživanja drugih autora (Ismade, 1989.; Redžepović i sur., 1999., 2006.; Čolo i sur., 2003.). Procjenom simbiozne učinkovitosti istraživanih sojeva *B. japonicum* i *B. elkanii* kroz sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke i prinos zrna soje, utvrđeno je signifikantno povećanje prinosa primjenom autohtonih sojeva *B. japonicum* S69 (od 43 %) i S75 (od 32 %) u odnosu na kontrolne varijante.

Smatra se kako je kisela reakcija tla često ograničavajući faktor simbiozne fiksacije atmosferskog dušika (Sadowski i Graham, 1998.) za većinu sojeva iz roda *Bradyrhizobium sp.* Rezultati ovih istraživanja pokazuju da selekcionirani autohtoni sojevi izolirani iz tala sličnih agroekoloških uvjeta imaju veću sposobnost nodulacije od referentnih u navedenim uvjetima. Referentni sojevi imaju ograničen genetski potencijal u odnosu na autohtone, koji su dobro adaptirani na uvjete određene ekološke sredine i lakše se prilagođavaju promjenama (Vlassak i Vanderleyden, 1997.).

Negativan utjecaj klime, prije svega neujednačen raspored oborina, utjecao je na rast i razvoj soje, a time i simbioznu fiksaciju dušika. Vratarić (1983.) navodi da stres izazvan viškom ili nedostatkom oborina u kombinaciji s vjetrom tijekom vegetacije izaziva promjene na biljci i negativno se odražava na prinos. Značajan nedostatak vode u 2002. godini odrazio se na sva istraživana svojstva pa su rezultati u odnosu na 2001. godinu dosta niži.

Rezultati ovih istraživanja potvrđuju razlike u simbioznoj učinkovitosti između korištenih sojeva kvržičnih bakterija. Istraživani sojevi različito reagiraju na nepovoljne ekološke uvjete što naglašava značaj izbora sojeva za predsetvenu bakterizaciju u proizvodnji soje na nekom području. U cilju što većeg iskorištavanja ovoga prirodnog procesa i uspješnijeg uzgoja leguminoza, potrebno je nastaviti sa istraživanjima i na drugim lokacijama.

Zaključci

1. Na osnovi rezultata istraživanja potvrđena je opravdanost primjene predsjetvene bakterizacije. Svi primijenjeni sojevi *B. japonicum* i *B. elkanii*, u usporedbi s kontrolnim varijantama, pozitivno su utjecali na istraživana svojstva, posebice prinos, koji je važan parametar u proizvodnji soje.
2. Na istraživanom području, najveću masu suhe tvari kvržica i sadržaj ukupnog dušika u nadzemnom dijelu biljke, tijekom 2001. godine te najviši prinosi zrna, tijekom obje godine istraživanja, utvrđeni su uz primjenu autohtonih sojeva *B. japonicum* S69 i S75.
3. Na osnovi rezultata istraživanja tipski soj *B. elkanii* S76^T ne preporučuje se za bakterizaciju na istraživanom području, obzirom na ispitivana svojstva.
4. Nepovoljni ekološki uvjeti tijekom druge godine istraživanja negativno su utjecali na učinkovitost simbiozne fiksacije dušika. Sva ispitivana svojstva imala su značajno niže vrijednosti u odnosu na 2001. godinu.
5. Potvrđena je kompatibilnost između sorte soje Nada i Ika s ispitivanim sojevima *B. japonicum* i *B. elkanii*. Utvrđen je signifikantno veći broj kvržica ($P = 5 \%$) na korijenu sorte Ika tijekom obje godine istraživanja. Signifikantno veći prinosi ($P = 1 \%$) utvrđeni su, tijekom prve godine istraživanja, na varijantama gdje je posijana sorta Ika.
6. Na istraživanom području Drenovci, procjenom simbiozne učinkovitosti sojeva *B. japonicum* i *B. elkanii*, kao najkvalitetniji pokazali su se autohtoni sojevi *B. japonicum* S69 i S75. Navedeni autohtoni sojevi mogli bi poslužiti u proizvodnji cjepiva za primjenu predsjetvene bakterizacije soje na ovom području.

SYMBIOTIC EFFICIENCY OF SELECTED INDIGENOUS BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM STRAINS

Summary

Symbiotic nitrogen fixation has a unique role in a sustainable agriculture because the utilization of this natural process enables significant reduction of mineral nitrogen fertilization. Thereby, selection of highly efficient symbiotic nitrogen fixators is of great importance for successful legume inoculation due

to the fact that the strains of nodule bacteria strongly differ in their symbiotic efficiency, competitiveness and compatibility. The main aim of the present study was to evaluate the symbiotic characteristics of indigenous and reference *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii* strains and their compatibility with different soybean cultivars in agroecological conditions of eastern Slavonia. During two years of investigations, two-factorial field trials were set up in a randomized complete block design with five replicates. The results obtained in this study show that all *B. japonicum* strains had positive effect on all analyzed properties and particularly on seed yield as the most important parameter in soybean production. The highest values for nodule dry weight were obtained by application of indigenous *B. japonicum* strain S69 that was isolated from the similar agroecological conditions. Although the application of *B. elkanii* strain S76^T resulted in the most abundant nodulation, at the same time it induced chlorosis on leaves in full blossom stage. Regarding the tested soybean cultivars, Ika and Nada, significant differences in nodulation were determined. Considerable rainfall deficiency in 2002 had strong influence on all tested properties. The highest nitrogen content in soybean aerial parts as well as the seed yield were determined in application of indigenous *B. japonicum* strains S69 and S75. The obtained results suggest that these two indigenous strains can be characterized as the most efficient ones and could be used for soybean inoculant production for that region.

Key words: sustainable agriculture, symbiotic nitrogen fixation, soybean, Bradyrhizobium japonicum, indigenous strains

Literatura

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.

ČOLO, J. (2003.): Djelovanje različitih sojeva *Bradyrhizobium japonicum* i biostimulatora rasta na simbioznu fiksaciju azota i prinos soje; Doktorska disertacija, Sarajevo.

DEVINE, T.E., L.D. KUYKENDALL, NEILL., J.J.O. (1988): DNA Homology Group and the Identity of *Bradyrhizobium* Strains Producing Rizobitoxine-Induced Foliar Chlorosis on Soybean. *Crop Science.* 28, 938-941.

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.

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.

ISMADE, J. (1989): Rapid dinitrogen fixation during soybean pot fill enhances net photosynthetic output and seed yield: A new perspective. *Agronomy Journal* 81, 549-556.

VANCE, C.P.K (1998): Legume Symbiotic Nitrogen Fixation: Agronomic aspects, in: In: Spaink, H. P., Kondorosi, A., Hooykaas, P. J. J. (eds.), *The Rhizobiaceae*, Kluwer Academic Publishers, 510-530.

REDŽEPOVIĆ, S., VRATARIĆ, M., SUDARIĆ, A., SIKORA, S. (1999): Symbiotic efficiency of indigenous *Bradyrhizobium japonicum* strains used in soybean production in agroecological conditions of Croatia. World Soybean Research Conference VI, Chicago, Illinois, USA, Proceedings, 547.

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.

REDŽEPOVIĆ, S., SIKORA, S., ČOLO, J., BLAŽINKOV, M., PECINA M. (2007): Influence of plant growth regulator and rhizobial inoculation on nodulation and soybean nitrogen content. *Cereal Research Communications* 35, 993-996.

SADOWSKY, M.J., GRAHAM, P.H. (1998): Soil Biology of the *Rhizobiaceae*, In: Spaink, H.P., Kondorosi, A., Hooykaas, P.J.J. (eds.), *The Rhizobiaceae*, Kluwer Academic Publishers, 155-175.

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

SIKORA, S., REDŽEPOVIĆ, S., BRADIĆ, M. (2002): Genomic fingerprinting of *Bradyrhizobium japonicum* isolates by RAPD and rep-PCR. *Microbiological Research* 157, 3, 213-219.

SIKORA, S., REDŽEPOVIĆ, S. (2003): Genotypic Characterisation of Indigenous Soybean Rhizobia by PCR-RFLP of 16S rDNA, rep-PCR and RAPD Analysis; *Food Tehnol. Biotechnol.* 41, 61-67.

VANCE, C.P.K (1998.): Legume Symbiotic Nitrogen Fixation: Agronomic aspects, in: In: Spaink, H.P., Kondorosi, A., Hooykaas P.J.J. (eds.), *The Rhizobiaceae*, Kluwer Academic Publishers, 510-530.

VANCE, C.P., GRAHM, P.H. (1995): Nitrogen fixation in agriculture: application and perspective, in: Tikhonovich, I.A., Provorov, N.A., Romanov, V.I., Newton, W.E. (eds.), *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 77-86.

VLASSAK, K., VANDERLEYDEN, J. (1997): Factors influencing nodule occupancy by inoculant rhizobia. *Crit. Rev. Plant Sci.* 16, 163-229.

VRATARIĆ, M. (1983.): Utjecaj ekoloških faktora na oplodnju i zametanje mahune kod nekih sorata soje u odnosu na komponente prinosa na području Osijeka. Disertacija. *Znanost i praksa u poljoprivredi i prehrambenoj tehnologiji*, Poseban broj, Osijek.

Adrese autora - Author's addresses:

Mr. sc. Branka Komesarović¹

Prof. dr. sc. Sulejman Redžepović²

Dr. sc. Mihaela Blažinkov²

Dr. sc. Aleksandra Sudarić³

Mr. sc. Darko Uher⁴

Prof. dr. sc. Sanja Sikora²

¹ Zavod za tlo, Vinkovačka cesta 63c, Osijek

² Zavod za mikrobiologiju

⁴ Zavod za specijalnu proizvodnju bilja

Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Svetošimunska cesta 25, Zagreb

³ Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek

Prispjelo - Received: 27.11.2007.

Prihvaćeno - Accepted: 12.12.2007.