

Izvorni znanstveni rad
Original scientific paper

UTJECAJ HERBICIDA IMAZAMOKSA NA RAST SOJA KVRŽIČNE BAKTERIJE *Bradyrhizobium japonicum*

Filipa BURUL^{*}, Ana PINTAR¹, Klara BARIĆ¹

¹Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod herbologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

^{*}Izvod iz završnog rada "Utjecaj herbicida na rast kvržičnih bakterija",
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

apintar@agr.hr

Prihvaćeno: 10-5-2019

SAŽETAK

Simbiotska fiksacija dušika najznačajniji je tip biotičke fiksacije. Nastaje kao rezultat simbiotskog odnosa između kvržičnih bakterija (rizobija) i korijena leguminoza. Budući da je primjena herbicida neizostavna mjera u tehnologiji uzgoja leguminoza i zbog činjenice da se nakon primjene najveći dio herbicida zadržava u sloju tla u kojem je i najveća aktivnost mikroorganizama, upravo se herbicidi navode kao jedni od glavnih činitelja koji utječu na uspostavu simbiotskog odnosa, a time i na učinkovitost kvržičnih bakterija. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih koncentracija herbicida imazamoksa na rast soja bakterije *Bradyrhizobium japonicum*. Istraživanje je provedeno u laboratorijskim (*in vitro*) uvjetima. Za istraživanje je korišten pripravak Pulsar 40 koji sadrži 40 g a. t. l⁻¹ pripravka. Utjecaj imazamoksa na rast soja bakterije *B. japonicum* utvrđivan je filter-disk metodom. Istraživane koncentracije imazamoksa iznosile su 0; 0,2; 0,4; 0,8 i 1,6 mg a. t. ml⁻¹ vode. Koncentracija od 0,2 mg imazamoksa ml⁻¹ vode odgovara koncentraciji imazamoksa koja se uobičajeno primjenjuje u praksi (1,0 l pripravka u 200 l vode ha⁻¹). Nijedna istraživana koncentracija nije iskazala inhibitorni učinak na rast bakterije *B. japonicum*. Stimulativan učinak imazamoksa na rast soja istraživane bakterije najizraženiji je bio pri koncentraciji od 0,4 mg a. t. ml⁻¹, dok je pri ostalim koncentracijama (0,2; 0,8 i 1,6 mg ml⁻¹) utvrđen sporiji rast bakterijskih kolonija u odnosu na kontrolnu varijantu.

Ključne riječi: simbiotska fiksacija dušika, herbicidi, kvržične bakterije, filter-disk metoda

THE INFLUENCE OF HERBICIDE IMAZAMOX ON GROWTH OF STRAIN OF BACTERIA *Bradyrhizobium japonicum*

SUMMARY

Symbiotic nitrogen fixation is the most important type of biotic fixation, and it emerges as a result from the symbiotic relationship between nodule bacteria (rhizobia) and leguminosae. Since herbicide application is an indispensable measure in leguminous breeding technology, due to the fact that after application most of the herbicide is retained in the soil layer where is the largest activity of microorganisms, herbicides are mentioned as one of the main factors affecting the establishment of symbiotic relationship, and hence on the effectiveness of root-nodule bacteria. The objective of this research was to determine the influence of different concentrations of imazamox on the growth of *B. japonicum* strain. The research was conducted in laboratory (*in vitro*) conditions, and the influence of imazamox on *B. japonicum* was determined by a filter-disk method. For research was used herbicide Pulsar 40 which contained 40 g of imazamox in 1 l. Investigated concentrations of herbicide imazamox were 0.0; 0.2; 0.4; 0.8 and 1.6 mg a. i. ml⁻¹, where concentration of 0.2 mg a. i. ml⁻¹ presents amount of herbicide which is usually applied in the field (1.0 l of Pulsar 40 in 200 l of water per ha). Neither concentration showed an inhibitory effect on *B. japonicum*. The stimulative effect of imazamox on growth of *B. japonicum* strain was most pronounced at concentration of 0.4 mg a. i. ml⁻¹, while at other concentrations (0.2; 0.8 and 1.6 mg a. i. ml⁻¹) the growth of bacterial colonies was slower.

Key words: symbiotic nitrogen fixation, herbicides, root-nodule bacteria, filter-disc method

UVOD

Dušik je neizostavni element u ishrani bilja i jedan od najznačajnijih činitelja postizanja visokih prinosa. Iako su listovi leguminoznih biljaka u izravnom kontaktu s atmosferom koja je bogata dušikom (79 %), dušik se nalazi u molekularnom obliku (N₂) čiju trostruku vezu biljke ne mogu *slomiti* i time ga iskoristiti u ishrani. Dušik je biljkama dostupan jedino u amonijačnom (NH₄) ili nitratnom (NO₃) obliku koji se dobiva abiotičkom ili biotičkom fiksacijom molekularnoga (atmosferskog) dušika. Abiotički put podrazumijeva prirodnu (munje, izgaranje) i umjetnu fiksaciju Haber-Boschovim postupkom kojim se molekularni dušik pretvara u amonijak koji se koristi u proizvodnji mineralnih dušičnih gnojiva, dok biotička fiksacija obuhvaća asimbioznu, simbioznu i asocijativnu fiksaciju (Newton, 1999).

Suvremena poljoprivredna proizvodnja uglavnom se oslanja na prihranu mineralnih dušičnih gnojiva. To ima niz nedostataka. Zbog njihove prekomjerne primjene dolazi do ispiranja nitrata, što uzrokuje onečišćenje podzemnih voda,

emisije stakleničkih plinova i gubitka plodnosti tla (Biswas i Gresshoff, 2014; Rajnović, 2017). Osim toga za svaki postupak u proizvodnji dušičnih gnojiva potrebna su fosilna goriva zbog čega taj proces zahtijeva čak i šest puta više energije nego što je potrebno za proizvodnju kalijevih (K) ili fosfornih (P) gnojiva (Biswas i Gresshoff, 2014; Santi i sur., 2013). Zbog toga biotička fiksacija atmosferskog dušika ima ekonomske, ekološke i energetske prednosti pred sintetičkim izvorima dušika. Stoga je kvantitativno najučinkovitiji tip biotičke fiksacije dušika simbiotska fiksacija koja podrazumijeva simbiotski odnos između leguminoza i kvržičnih bakterija (Zahran, 1999). Simbiotskim odnosom fiksira se oko $40 - 80 \times 10^6$ t atmosferskog dušika godišnje, dok se sintetičnim Haber-Boschovim postupkom fiksira $30 - 60 \times 10^6$ t dušika godišnje (de Vos, 1986). Stoga učinkovita simbiotska fiksacija dušika može značajno smanjiti potrebu primjene mineralnih dušičnih gnojiva u usjevu leguminoza (Topol i Kanižai Šarić, 2013). Čak je i povećanje prinosa usjeva uzgajanih nakon žetve leguminoza često jednako prinosu koji se očekuje nakon primjene $30 - 80$ kg/ha mineralnog dušičnog gnojiva (Zahran, 1999). Zahvaljujući tome u većini slučajeva primjena mineralnih dušičnih gnojiva može se značajno smanjiti, dok u nekim slučajevima može i u potpunosti izostati (Friščić i sur., 2011). Simbiotski odnos zasniva se na izmjeni hraniva između bakterije i biljke domaćina. Leguminoze produktima fotosinteze opskrbljuju bakterije fiksatore dušika ugljikom koji je bakterijama potreban za rad enzima nitrogenaze koji katalizira reakciju fiksacije atmosferskog dušika. Zauzvrat bakterije opskrbljuju leguminoze dušikom uglavnom u obliku amonijaka (Howard i Rees, 1996).

Zbog naglašene zastupljenosti u proizvodnji veliku važnost među leguminozama ima soja (*Glycine max* (L.) Merr.). Ističe se širokom namjenom i kakvoćom zrna koje, ovisno o sorti i uvjetima uzgoja, ima visok sadržaj bjelančevina (30 - 50 %) i ulja (18 - 24 %), što ju čini jednom od najznačajnijih uljnih i bjelančevinastih kultura u svijetu (Vratarić i Sudarić, 2000). Njezina važnost proizlazi i zbog simbiotskog odnosa s kvržičnom bakterijom *Bradyrhizobium japonicum* koja je fiksator atmosferskog dušika. Spomenuti odnos joj omogućuje da bez upotrebe mineralnih dušičnih gnojiva zadovolji vlastite potrebe za dušikom (Blažinkov i sur., 2010). Također je važna i kao kultura u plodoredu jer obogaćuje tlo dušikom ($40 - 60$ kg N/ha) i na taj način znatno poboljšava plodnost tla (Vratarić i Sudarić, 2000).

Razvoj i aktivnost kvržičnih bakterija pod utjecajem je različitih okolišnih čimbenika. Kad je nepovoljno djelovanje jednog ili više čimbenika, može doći do smanjenja njihove aktivnosti, a u ekstremnim slučajevima i do potpunog izostanka aktivnosti, odnosno nestanka iz tla. Tada se leguminoze više ne mogu koristiti dušikom iz atmosfere, već su kao i ostale kultivirane biljke upućene na dušik iz tla dobiven prihranom (Redžepović i sur., 1986). Stoga je važno kvržičnim bakterijama osigurati povoljne uvjete u tlu kako bi leguminoze imale na raspolaganju neiscrpane količine *besplatnog* atmosferskog dušika. Abiotski ili biotski stres koji smanjuje aktivnost biljke također će smanjiti i fiksaciju dušika,

odnosno aktivnost kvržičnih bakterija (Zahran, 1999; Lindemann i Glover, 2013). To se može dogoditi zbog saliniteta, nepovoljne vrijednosti pH tla, nedostatka hraniva u tlu, temperaturnih oscilacija, previsoke ili preniske vlažnosti tla te zbog uzročnika bolesti usjeva. Gnojidba mineralnim dušičnim gnojivima i primjena pesticida također mogu negativno djelovati na aktivnost kvržičnih bakterija (Eaglesham, 1989). Zahran (1999) navodi da primjena pesticida ima najveći utjecaj na aktivnost kvržičnih bakterija.

Zbog relativno širokog međurednog razmaka (45 - 50 cm) u uzgoju soje korovi predstavljaju veliki problem zbog čega je primjena herbicida redovito obvezna mjera borbe protiv korova (Barić i Ostojić, 2000). Budući da se nakon aplikacije najveći dio herbicida zadržava u površinskom sloju tla (od 0 do 15 cm), interakcija mikroorganizama i herbicida neizbježna je (Cycon i sur., 2007). Interakcija, odnosno herbicidi mogu imati inhibitorni, stimulativni ili indiferentni utjecaj na kvržične bakterije. Do kakve interakcije će doći ovisi o fizikalno-kemijskim svojstvima herbicida, dozaciji, vrstama prisutnih mikroorganizama, sadržaju mineralne i organske tvari u tlu, mehaničkom sastavu, vlažnosti, temperaturi i pH-reakciji tla (Trimurtulu i sur., 2015; Radivojević i sur., 2007). Djelovanje herbicida odražava se na bioraznolikost mikroorganizama, njihovu brojnost, aktivnost i ritam razmnožavanja (Johnsen i sur., 2001). Ako se radi o osjetljivim skupinama, herbicidi mogu izazvati propadanje mikroorganizama tla, uključujući i fiksatore dušika (Blažinkov i sur., 2014). Mogu izravno utjecati na rast i razvoj fiksatora dušika, na sposobnost preživljavanja (održavanja), izmjenu signala između bakterije i biljke domaćina, formiranje kvržica na korijenu i na aktivnost nitrogenaze. Osim izravnog utjecaja na kvržične bakterije, herbicidi mogu fitotoksično djelovati na biljku domaćina (Welley i sur., 2006), odnosno mogu remetiti metabolizam biljke i time neizravno ometati simbiozu.

Važno je istaknuti da postoje vrste mikroorganizama koje su sposobne razgrađivati herbicide, odnosno kao organske molekule koriste ih kao izvor energije za metaboličke aktivnosti i fiziološke procese (Ostojić 1989; Trimurtulu i sur., 2015).

Po načinu ishrane kvržične su bakterije kemoorganotrofi (kemoheterotrofi), što znači da ugljik i energiju dobivaju oksidacijom organskih spojeva. Time se objašnjava njihova potencijalna uloga u razgradnji herbicida, a posljedično i stimulirajući utjecaj određenih herbicida na njihov rast (Lorite i sur., 2014).

Budući da je primjena herbicida u leguminozama sastavni dio tehnologije uzgoja, cilj je ovog istraživanja bio utvrditi utjecaj različitih koncentracija herbicida imazamoksa, kao često korištenog herbicida u soji, na rast i razvoj soja bakterije *Bradyrhizobium japonicum*.

MATERIJALI I METODE RADA

Za utvrđivanje učinka različitih koncentracija herbicida imazamoksa korištena je filter-disk metoda ili disk-difuzijski postupak. Na prethodno steriliziranu hranjivu podlogu Tryptic Soy Agar (TSA) u Petrijevim zdjelicama (promjera 90 cm) naciepljen je 1 ml referentnog soja bakterije *B. japonicum* koji je odabran iz kolekcije sojeva Zavoda za mikrobiologiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Nakon naciepljivanja na hranjivu podlogu stavljena su četiri diska promjera 7 mm koji su prethodno natopljeni (do pune saturacije) različitim koncentracijama imazamoksa. Za istraživanje je korišten herbicidni pripravak Pulsar 40 koji sadrži 40 g imazamoksa u L⁻¹ pripravka. Istraživane koncentracije imazamoksa iznosile su 0; 0,2; 0,4; 0,8 i 1,6 mg a. t. ml⁻¹ destilirane vode. Koncentracija od 0,2 mg a. t. ml⁻¹ vode odgovara koncentraciji koja se uobičajeno primjenjuje u praksi (1,0 L/ha pripravka u 200 l vode). Svaka istraživana koncentracija herbicida postavljena je u četiri ponavljanja. Inkubacija se odvijala u klima-komori pri konstantnim uvjetima temperature (30 °C) i relativne vlage zraka (61 %).

Utvrđivanje učinka imazamoksa na rast soja *B. japonicum* obavljan je vizualnom ocjenom 5, 7 i 14 dana nakon naciepljivanja (DNN). Vizualna ocjena podrazumijevala je subjektivnu ocjenu rasta bakterijskih kolonija oko diskova.

REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati učinka različitih koncentracija herbicida imazamoksa na soj bakterije *B. japonicum* 5, 7 i 14 DNN prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Prosječna vizualna ocjena utjecaja različitih koncentracija imazamoksa na rast soja bakterije *B. japonicum* 5, 7 i 14 dana nakon naciepljivanja (DNN)

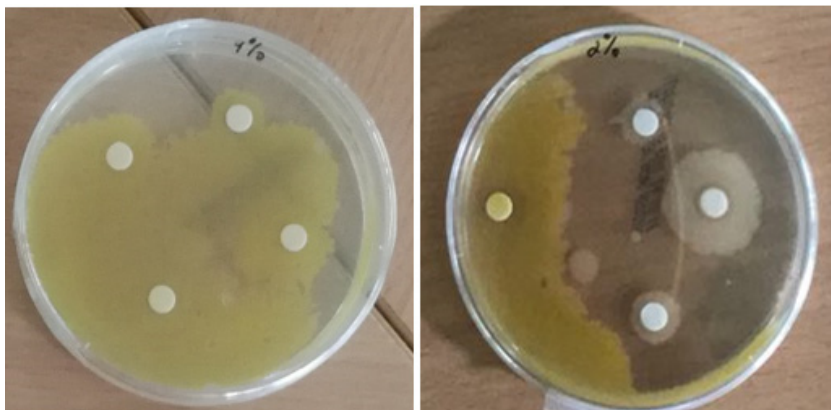
Table 1 Visual assessment for influence of different concentrations of imazamox on growth of *B. japonicum* strain 5, 7 and 14 days after inoculation (DAI)

DNN	Koncentracija imazamoksa, mg/ml vode			
	0,2	0,4	0,8	1,6
5	+	++	+	+/-
7	+	++	+	+/-
14	+	++	++	+

++ = pojačan rast soja oko diskova; + = umjeren rast soja oko diskova; +/- = sporiji rast soja oko diskova

Prema prikazanim rezultatima vidi se da kod ocjenjivanja 5 i 7 DNN nisu utvrđene razlike u učinku istraživanih koncentracija imazamoksa na bakteriju *B. japonicum*. Kod oba termina ocjenjivanja pojačan rast soja istraživane bakterije

oko diskova utvrđen je pri koncentraciji imazamoksa od $0,4 \text{ mg ml}^{-1}$. Nešto sporiji rast, u odnosu na ovu koncentraciju, utvrđen je pri koncentraciji od $0,2$ i $0,8 \text{ mg ml}^{-1}$ (slika 1.). Kod najviše korištene koncentracije ($1,6 \text{ mg ml}^{-1}$) imazamoksa također je utvrđen rast bakterije, ali je bio znatno sporiji u odnosu na niže istraživane koncentracije.



Slika 1. Rast soja bakterije *B. japonicum* pri koncentraciji imazamoksa od $0,4 \text{ mg ml}^{-1}$ (lijevo) i $0,8 \text{ mg ml}^{-1}$ (desno) (foto: F. Burul)

Figure 1 Growth of *B. japonicum* strain at $0,4 \text{ mg ml}^{-1}$ (left) and $0,8 \text{ mg ml}^{-1}$ (right) concentration of imazamox (photo: F. Burul)

Kod ocjenjivanja 14 DNN stimulativan učinak imazamoksa utvrđen je pri svim koncentracijama. Izrazito dobar rast bakterijskih kolonija utvrđen je pri koncentraciji od $0,4 \text{ mg ml}^{-1}$. U odnosu na prethodna dva ocjenjivanja (5 i 7 DNN) progresija u rastu bakterijskih kolonija utvrđena je pri koncentraciji imazamoksa od $0,8$ i $1,6 \text{ mg ml}^{-1}$ (slika 2). Pri najnižoj istraživanoj koncentraciji ($0,2 \text{ mg ml}^{-1}$) nisu utvrđene promjene u rastu kolonija bakterije *B. japonicum* u odnosu na ocjenjivanja 5 i 7 DNN.



Slika 2. Utjecaj koncentracije od $1,6 \text{ mg ml}^{-1}$ imazamoksa na rast soja bakterije *B. japonicum* 7 (lijevo) i 14 (desno) dana nakon naciepljivanja (DNN) (foto: F. Burul)

Figure 2 The influence of $1,6 \text{ mg ml}^{-1}$ concentration of imazamox on growth of *B. japonicum* 7 (left) and 14 (right) days after inoculation (DAI) (photo: F. Burul)

Sličan učinak imazamoksa na bakterije fiksatore atmosferskog dušika utvrđen je i u ranijim istraživanjima (Sudarević, 2009; Blažinkov i sur., 2014; Naimarević, 2014). Naimarević (2014) je istraživao utjecaj deset (10 ppm), sto (100 ppm) i tisuću (1000 ppm) puta veće koncentracije imazamoksa od propisane na šest sojeva bakterije *B. japonicum*. Prema rezultatima istraživanja sve korištene koncentracije imale su stimulativan učinak na sve istraživane sojeve bakterije. Stimulativan učinak imazamoksa čak i pri deset tisuća puta većoj koncentraciji (10 000 ppm) od propisane utvrđen je i kod deset sojeva bakterije *Sinorhizobium meliloti* (Sudarević, 2009). Blažinkov i sur. (2014) istraživali su utjecaj različitih koncentracija imazamoksa na deset sojeva bakterije *Rhizobium leguminosarum* sv. *viciae*. Nijedna istraživana koncentracija nije imala inhibitorno djelovanje na bakteriju. Čak štoviše, pri najviše istraživanoj koncentraciji (10 000 ppm) kod nekih je sojeva došlo do pojačanog rasta kolonija bakterije oko diskova. Autori navode da stimulativan učinak imazamoksa na bakterije fiksatore atmosferskog dušika proizlazi iz njegovih fizikalno-kemijskih svojstava. Naime imazamoks je herbicid relativno kratke perzistentnosti ($DT_{50} = 16,7$ dana) i niske hlapivosti (Lewis i sur., 2016), te se u usjevu mahunarki primjenjuje nakon nicanja kulture i korova (Barić i Ostojić, 2019) kad je simbiotski odnos između korijena kulture i bakterije već uspostavljen. Osim toga dobiveni rezultati istraživanja upućuju na to da su sve spomenute bakterije sposobne razgraditi imazamoks te ga kao kemoorganotrofi koristiti kao izvor energije za metaboličke aktivnosti i fiziološke procese (Trimurtulu i sur., 2015).

ZAKLJUČCI

Na osnovi provedenog istraživanja može se zaključiti:

- Herbicid imazamoks u laboratorijskim uvjetima stimulativno je djelovao na rast istraživanog soja bakterije *B. japonicum*.
- Stimulativni učinak imazamoksa najviše je došao do izražaja pri koncentraciji od $0,4 \text{ mg ml}^{-1}$ pri kojoj je kod sva tri roka ocjenjivanja utvrđen pojačan rast sojeva oko diskova.
- Pri koncentracijama imazamoksa od $0,8$ i $1,6 \text{ mg ml}^{-1}$ vode utvrđena je progresija u rastu bakterijskih kolonija ovisno o roku ocjenjivanja. Najizraženiji rast utvrđen je kod posljednjeg ocjenjivanja (14 DNN).
- Utvrđene stimulacije imazamoksa na rast bakterije *B. japonicum* u laboratorijskim uvjetima treba istražiti prikladnim metodama u poljskim uvjetima.

LITERATURA

BARIĆ, K., OSTOJIĆ, Z. (2019). Herbicidi. U: Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2019. godinu (ur. R. Bažok). Glasilo biljne zaštite, 19 (1-2): 249-317.

BISWAS, B., GRESSHOFF, P. (2014). The role of symbiotic nitrogen fixation in sustainable production of biofuels. *International journal of molecular sciences*, 15(5): 7380-7397.

BLAŽINKOV, M., SUDAREVIĆ, I., BARIĆ, K., SIKORA, S., ČOLO, J., REDŽEPOVIĆ, S. (2010). Utjecaj različitih herbicida na rast autohtonih i referentnih sojeva *Sinorhizobium meliloti*. XXI Naučno-stručna konferencija poljoprivrede i prehrambene industrije. Zbornik radova, 1: 123-129.

BLAŽINKOV, M., ŠNAJDAR, A., BARIĆ, K., SIKORA, S., RAJNOVIĆ, I., REDŽEPOVIĆ, S. (2014). Utjecaj herbicida na rast sojeva kvržičnih bakterija koje noduliraju grašak (*Pisum sativum* L.). *Agronomski glasnik*, 76(4-5): 183-192.

CYCONÍ, M., WÓJCIK, M., PIOTROWSKA-SEGET, Z. (2009). Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere*, 76(4): 494-501.

EAGLESHAM, A. R. J. (1989). Nitrate inhibition of root nodule symbiosis in doubly rooted soybean plants. *Crop Sci.*, 29: 115-119.

FRIŠČIĆ, O., UHER, D., ABRAMOVIĆ-FRIŠČIĆ K. (2011). Utjecaj bakterizacije na gospodarska svojstva novih kultivara ozimog graška. *Sjemenarstvo* 28(1-2): 25-42.

HOWARD, J. B., REES, D. C. (1996). Structural basis of biological nitrogen fixation. *Chem. Rev.*, 96(7): 2965-2982.

JOHNSON, K., JACOBSEN, C. S., TORSVIK, V., SØRENSEN, J. (2001). Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils—a review. *Biol. Fert. Soils*, 33(6): 443-453.

LEWIS, K. A., TZILIVAKIS, J., WARNER, D., GREEN, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 22(4): 1050-1064.

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

LORITE, M. J., TACHIL, J., SANJUÁN, J., MEYER, O., BEDMAR, E. J. (2000). Carbon Monoxide Dehydrogenase Activity in *Bradyrhizobium japonicum*. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 66(5): 1871-1876.

NAIMAREVIĆ, I. (2014). Utjecaj zemljišnih herbicida na rast sojeva *Bradyrhizobium japonicum*. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

NEWTON, W. E. (1999). Nitrogen Fixation and the Biosphere. U: Highlights of Nitrogen Fixation Research (ur. Martínez E., Hernández G). Springer, Boston, MA, pp 1-8.

OSTOJIĆ, Z. (1989). Herbicidi i tlo. U: Studija o jedinstvenim kriterijima zagađivača voda, vazduha i tla na području SAP Vojvodine i potrebne hitne mere zaštite na mestima sa najvažnijim zagađivačima, pp 319-332.

RADIVOJEVIĆ, L., ŠANTRIĆ, L., STANKOVIĆ-KALEZIĆ, R. (2007). Pesticidi u zemljištu: delovanje na mikroorganizme. *Pestic. Fitomed.*, 22: 11-24.

RAJNOVIĆ, I. (2017). Bioraznolikost i simbiozna učinkovitost prirodnih populacija rizobija koje noduliraju grah (*Phaseolus vulgaris* L.). Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

REDŽEPOVIĆ, S., STRUNJAK, R., VARGA, B., HENEBERG, R., SLAMIĆ, F., BAŠIĆ, F., ŠEPUT, M., PUHALO, D., DUŠANIĆ, B. (1986). Prvi rezultati bakterizacije soje s Hup' sojem *Bradyrhizobium japonicum*-a u SR Hrvatskoj'. *Agronomski glasnik*, 48(1-2): 3-12.

SANTI, C., BOGUSZ, D., FRANCKE, C. (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann. Bot.*, 111(5): 743-767.

SUDAREVIĆ, I. (2009). Utjecaj određenih herbicida na rast sojeva kvržičnih bakterija *Sinorhizobium meliloti*. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

TOPOL, J., KANIŽAI ŠARIĆ, G. (2013). Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. Agronomski glasnik, 5(2-3): 117-134.

TRIMURTHULU, N., ASHOK, S., LATHA, M., RAO, A. S. (2015). Influence of pre-emergence herbicides on the soil microflora during the crop growth of black gram *Vigna mungo* L. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci, 4: 539-546.

VRATARIĆ, M., SUDARIĆ, A. (2000). Soja. Poljoprivredni institut. Osijek.