Utjecaj prihrane dušikom na agronomska i kemijska svojstva duhana tipa burley

Ljubičić, Krešimir

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:204:046834

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

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

UTJECAJ PRIHRANE DUŠIKOM NA AGRONOMSKA I KEMIJSKA SVOJSTVA DUHANA TIPA BURLEY

DIPLOMSKI RAD

Krešimir Ljubičić

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Diplomski studij:

Biljne znanosti

UTJECAJ PRIHRANE DUŠIKOM NA AGRONOMSKA I KEMIJSKA SVOJSTVA DUHANA TIPA BURLEY

DIPLOMSKI RAD

Krešimir Ljubičić

Mentor:

prof. dr. sc. Jasminka Butorac

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Krešimir Ljubičić**, JMBAG 00674244889, rođen dana 28.11.1988. u Imotskom, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ PRIHRANE DUŠIKOM NA AGRONOMSKA I KEMIJSKA SVOJSTVA DUHANA TIPA BURLEY

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Krešimir Ljubičić**, JMBAG 00674244889 , naslova

UTJECAJ PRIHRANE DUŠIKOM NA AGRONOMSKA I KEMIJSKA SVOJSTVA DUHANA TIPA BURLEY

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	prof. dr. sc. Jaminka Butorac	mentor	_____
2.	izv. prof. dr. sc. Marko Vinceković	član	_____
3.	doc. dr. sc. Luna Maslov Bandić	član	_____

Sadržaj

1. Uvod **1**
1.1. Cilj istraživanja 2
2. Pregled literature **3**
2.1. Gnojidba dušikom 3
2.2. Mikrokapsule 6
3. Stanišni čimbenici **8**
3.1. Tlo 8
3.2. Vremenske prilike tijekom istraživanja 9
4. Materijali i metode **12**
4.1. Plan pokusa 12
4.2. Agrotehnika 13
4.3. Istraživana svojstva 15
4.4.Priprema mikrokapsula 16
4.5. Princip metode mjerenja nikotina kod duhana 16
4.6. Statistička obrada podataka 18
5. Rezultati istraživanja i rasprava **19**
5.1. Prinos lista duhana 19
5.2. Kvaliteta duhana 20
5.3. Ukupan broj listova 21
5.4. Broj ubranih listova 22
5.5. Dužina 9. lista 22
5.6. Širina 9. lista 23
5.7. Visina biljke nakon zalamanja (cm) 24
5.8. Početak cvatnje 24
5.9. Sadržaj nikotina 25
6. Zaključak **26**
7. Popis literature **28**

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Krešimir Ljubičić**, naslova

Utjecaj prihrane dušikom na agronomska i kemijska svojstva duhana tipa burley

Na Pokušalištu Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta u Maksimiru tijekom 2018. godine postavljen je gnojidbeni pokus sa duhanom tipa burley. Pokus je postavljen prema metodi slučajnog bloknog rasporeda u četiri ponavljanja. Provedena je standardna agrotehnika za duhan tipa burley izuzev prihrane dušikom. U prihranjivanju je dodan dušik u pet različitih varijanti: 1. Kontrola 100 kg/ha KAN-a, 2. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula, 3. 80 kg/ha KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula, 4. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom, 5. 80 kg/ha KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Sadnja je izvršena ručno 11. svibnja 2018. sa. F1 hibridom BH 4. Na uzorku od 10 biljaka tijekom vegetacije određen je broj listova, dužina i širina 9. lista, visina biljke nakon zalamanja, a na cijeloj parceli početak cvatnje. Listovi su ručno ubrani u sedam berbi i osušeni na zraku u hladu. Nakon sušenja određen je prinos (kg/ha) i duhan je klasiran u šest klasa. Od kemijskih spojeva određen je sadržaj nikotina u suhim srednjim listovima duhana. Na osnovi provedene statističke analize varijance utvrđene su signifikantne razlike u udjelu prve klase, širini 9. lista, visini biljke nakon zalamanja i u početku cvatnje. Najduži 9. list zabilježen je kod varijante 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula (58,28 cm), a signifikantno najširi 9. list imala je varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (35,43 cm). Najveći prinos po hektaru imala je varijanta prihrane 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (3119,71 kg/ha), dok je udio najkvalitetnijeg lista, prve klase, značajno više od ostalih varijanti, imala kontrola (10,87 %).

Ključne riječi: duhan, burley, prihrana dušikom, mikrokapsule

Abstract

Of the master's thesis - student **Krešimir Ljubičić**, entitled

Effects of nitrogen fertilization on agronomic and chemical traits of burley tobacco

A fertilization experiment with burley tobacco has been set up at the University of Zagreb Probationary Faculty of Agronomy in Maksimir during 2018. The experiment was set up according to the random block method in four replicates. Standard agrotechnics for burley tobacco were implemented, except for the savings. Nitrogen is added to the feed in five different variants: 1. Control of 100 kg / ha of KAN, 2. 90 kg / ha of KAN + 10 kg / ha of microcapsules, 3. 80 kg / ha of KAN + 20 kg / ha of microcapsules, 4. 90 kg / ha of KAN + 10 kg / ha of microcapsules with chitosan, 5. 80 kg / ha of KAN + 20 kg / ha of microcapsules with chitosan. Planting was done manually on May 11, 2018 by. F1 hybrid BH 4. A sample of 10 plants during the growing season determined the number of leaves, the length and width of the 9th leaf, the height of the plant after topping, and the days to flowering on the entire plot. The leaves were harvested by hand in seven harvests and air-cured in the shade. After drying, the yield (kg / ha) was determined and the tobacco was classified into six classes. From chemical compounds, the content of nicotine in the dry middle leaves of tobacco was determined. On the basis of the statistical analysis of variance, significant differences were found in the shares of the first class, the width of the 9th leaf, the height of the plant after topping and in the days to flowering. The highest yield per hectare had a variant of feeding 90 kg / ha KAN + 10 kg / ha chitosan microcapsules (3119.71 kg / ha), while the highest stake of first class leaf, significantly higher than other variants, had control (10.87%).The longest 9th leaf was recorded at the variant of feeding 80 kg / ha KAN + 20 kg / ha microcapsules (58.28 cm), and significantlly the widest 9. leaf had a variant of feeding 80 kg / ha KAN + 20 kg / ha microcapsules with chitosan (35.43 cm).

Keywords: tobacco, burley, nitrogen fertilization, microcapsules

1. Uvod

Duhan (*Nicotiana tabacum* L.) je suptropska biljka koja potječe iz centralne Amerike, točnije iz sjeverne Argentine i jugozapadne Bolivije. Izuzetno je polimorfna kultura te se danas uzgaja u gotovo cijelom svijetu od 60° sjeverne geografske širine do 40° južne geografske širine (Butorac, 2009). Najveći proizvođači duhana u svijetu su Kina, Brazil, Indija, SAD i Indonezija (FAO, 2017). U Hrvatskoj su zastupljeni duhani tipa virginija i burley te se počinju uzgajati 1954 godine. Danas je u Hrvatskoj zastupljeno 4563 ha površina pod duhanom (FAO, 2017).

Duhan se uzgaja zbog lista koji se uživa zbog specifičnoga i kompleksnoga fiziološkog djelovanja njegovih sastojaka (nikotina, eteričnih ulja, smola…) na čovjekov centralni živčani sustav. Ovisno o tipu duhana može se upotrebljavati za pušenje (cigarete, cigare, duhan za lulu), ušmrkivanje (burmut) ili žvakanje. Kvalitetu duhana promatramo kroz obilježja suhog duhanskog lista. Kvaliteta duhana se ocjenjuje organoleptički, procjenjujući vidljive parametre kao što su veličina, boja, tekstura i elastičnost lista, zatim analitički, procjenom fizičkih i kemijskih svosjtava, i na kraju degustacijom kao najmjerodavnijom procjenom kvalitete duhana. Rebra i sitnjavina se također upotrebljavaju, ali plojka ipak ima važniju ulogu u duhanskoj industriji. Na kvalitetu mogu utjecati tlo, klimatski uvjeti, sorta, način uzgoja i sušenje. Jedan od najvažnijih činitelja kvalitete, koji je pod utjecajem oplemenjivanja, sorte i tipa duhana, položaja lista na stabljici, agrotehnike, klime, tla i zrelosti duhana, jest sadržaj nikotina u osušenom listu (Hawks i Collins, 2013; Butorac, 2009).

Kao i kod svake kulture način proizvodnje uvelike utječe na kvalitetu proizvoda. Glavni proizvod duhana je list i samim time količina makro i mikro hranjiva u ishrani je od izuzetne važnosti. Jedino specifičnom tehnologijom proizvodnje možemo dobiti visok prinos lista poželjne kvalitete. Gnojidba je agrotehnička mjera koja veoma utječe na kemijski i fizikalni sastav osušenog duhanskog lista. Dušik ima najizrazitiji utjecaj na duhan od bilo kojeg drugog hranjivog elementa. Količina i vrijeme primjene ovog hranjiva ima važnu ulogu u odnosu na prinos, kemijski sastav i kvalitetu lista. Optimalna količina dušika glavni je uvjet za postizanje visokog prinosa i kvalitete lista duhana. Preobilnom gnojidbom dobivamo povećani sadržaj alkaloida, nitrata i specifičnih duhanskih nitrozamina. Smanjeni prinos, neizbalansirana kvaliteta i odgođena zrioba samo su još neke od posljedica manjka i/ili suviška dušika. Prihvatljiva svojstva duhana se mogu očekivati od gnojidbe kod koje je ukupni pristupačni dušik prisutan tijekom ranijih stadija razvoja, a brzo nestane u kasnijim stupnjevima razvoja.

Burley je drugi po važnosti tip duhana koji se uzgaja u Hrvatskoj i najvažniji od onih koji se suše na zraku u zasjenjenom prostoru. Zbog svog laganog, spužvastog tkiva koje dobro apsorbira sredstva za aromatiziranje čini jednu trećinu sastava cigareta američkog tipa. Biološki gledano burley je defektan tip duhana nastao mutacijom. Zelena biljka ima manje klorofila što se u tehnološkom smislu pokazalo kao prednost (Butorac, 2009).

List je relativno nježan i tanak. Sadržaj nikotina, bjelančevina, nitrata i pepela relativno je visok, a zbog dugog sušenja šećera ima samo u tragovima. Fenola i hlapljivih kiselina ima malo, dok su nehlapljive kiseline visoke (uglavnom limunska i jabučna), a pH reakcija je alkalna. Boja suhog lista je svijetlosmeđa, crvenkasta do čokoladna. Ta ga svojstva čine nužnim sastojkom cigareta blend tipa koje se umjetno sosiraju i aromatiziraju.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog rada je procijeniti utjecaj prihrane dušikom na agronomska i kemijska svojstva duhana tipa burley.

2. Pregled literature

2.1. Gnojidba dušikom

Glavni preduvjet za postizanje visokih prinosa i kvalitete lista duhana je optimalna gnojidba. Uloga gnojidbe je opskrba usjeva dovoljnom količinom raznih vrsta hranjiva u najdjelotvornijem obliku, u najpoželjnije vrijeme i na najpogodnijem mjestu, uz što nižu cijenu, za postizanje najvišeg prinosa i kvalitete (Hawks i Collins, 1994).

Najveći utjecaj u ishrani duhana ima dušik. Povećanje opskrbljenosti sa dušikom, od nedostatka do suviška povećava veličinu lista, smanjuje debljinu i punoću tkiva. Rezultat daljnjeg povećanja dušika biti će formiranje tanjih i lakših listova, i obratno. Povećanje dušika također utječe na kasniju zriobu. Od nedovoljnih preko potrebnih pa do suviška dušika boja se kreće od blijedožute, žute i narančaste do smeđe. Povećana količina dušika uzrokuje obilnije stvaranje zaperaka, te jaču pojavu nekih insekata (duhanski rogati crv) i bolesti (peronospora i smeđa pjegavost). Opadanje i lomljenje lista jače je pri prekomjernoj gnojidbi dušikom. Dušik ulazi u sastav molekule nikotina s toga proizlazi da ukoliko povećamo opskrbljenost dušikom od nedostatka do suviška raste i sadržaj nikotina u listu. Povećanjem sadržaja nikotina, zbog suviška dušika, dolazi do kasnije zriobe. Nikotin i šećeri su antagonisti (Butorac, 2009).

Dva su opća izvora dušika koji se upotrebljavaju u gnojidbi duhana, organski i anorganski. U gnojidbenim smjesama postotak dušika u organskom obliku se kreće od 0 do 30 %. Mnogo je prednosti organskog dušika. Dio organskog dušika se razgradi u mineralne oblike zbog čega se smatra da će on biti pristupačan biljci duže vrijeme. Organske forme dušika su sigurnije od ispiranja u tlima pjeskovite strukture. Duhan gnojen smjesama koje sadrže izvore organskog dušika zrije ranije i bolje, nego onaj koji je gnojen gnojivima u kojima je dušik u mineralnom obliku. Teže dostupan dušik iz organskih izvora zaista može imati utjecaj na brzinu i stupanj zriobe duhana (Hawks, Collins, 1994).

U proizvodnji se upotrebljavaju dva oblika mineralnog dušika - amonijski i nitratni. Veće količine amonijskog dušika nepovoljno djeluju na rast te na prinos i kvalitetu duhana, a usto smanjuju uzimanje drugih hranjiva iz tla kao što su kalcij, klor, magnezij i kalij.

Fuqua i sur. (1976.) su proveli istraživanja kako bi se utvrdio utjecaj različitih količina dušika i klora na prinos i kemijski sastav lista i dima duhana tipa burley (*Nicotiana tabacum* L. sorte Ky-14). Koncentracije nitrata i ukupnog dušika u listovima bile su značajno povećane kada su se povećale količine dodanog dušičnog gnojiva, a povećanjem količine klora koncentracija nitrata se smanjivala. Povećanje količine klora od 0 do 224 kg Cl/ha dovelo je do smanjenja koncentracije nitrata za 25 %. Koncentracije klorida kod osušenih listova povećane su gotovo 15 puta povećanjem količine klora u gnojidbi. Povećanje količine dušika rezultiralo je smanjenjem koncentracija klora. Gnojidba dušikom povećala je koncentraciju nikotina neznatno, smanjila ukupne fenole i značajno povećala koncentraciju dušikovog oksida (NO) u dimu cigareta. Nasuprot tome, gnojidba klorom rezultirala je smanjenjem koncentracija

dušičnih sastojaka. Također je rezultirala povećanjem ukupnog fenola te je imalo mali učinak na povećanje razine dušikovog oksida u dimu cigareta.

Važnost količine gnojidbe dušikom utvrdio je Devčić (1975.) povećanjem količine dušika u gnojidbi KAN-om od 0 do 150 kg dušika/ha. Dobio je gotovo linearno povećanje prinosa i značajne razlike između svih količina dušika. Prinos je u odnosu na varijantu bez prihrane rastao 14,6 %, 21.8 % i 27,7 % prve i za 14 % , 21,1 % i 28.2 % druge pokusne godine.

Ako se duhan više opskrbljuje nitratima povećava se prinos i kvaliteta lista, postotak kalcija u suhom listu te ukupno iznošenje kalcija i kalija. Pretvorba dušika iz amonijaka u nitrate protječe brzo u povoljnim vremenskim prilikama i odgovarajućim uvjetima u tlu. Pretvorbu usporava nizak pH, previsoka vlažnost tla, slabo prozračivanje tla i niska temperatura tla. Prema Hawksu i Collinsu (1994.), povećani postotak nitratnog oblika dušika smanjuje postotak nikotina u listu. Stoga bi prije sadnje duhana u tlu trebalo biti najmanje 50% dušika u obliku nitrata (Butorac, 2009).

Sifola i Postiglione (2003.) proveli su istraživanje na duhanu tipa burley. Uzgajane su dvije varijante u pokusu, sa i bez navodnjavanja i prihranjene sa 0, 120, 240 ili 360 kg N/ha tijekom dvije vegetacijske sezone kako bi se procijenila optimalna prihrana dušikom u mediteranskim klimatskim uvjetima. Određeni su ukupni i nitratni dušik u listovima i stabljikama i nitratni i amonijski dušik u tlu na dvije dubine (0 - 0,3 i 0,3 - 0,6 m). Utjecaj gnojidbe dušikom na ukupni dušik akumuliran u biomasi znatno se razlikovao između navodnjavanih i nenavodnjavanih biljaka. Kod nenavodnjavanih varijanti dušik akumuliran u biljci nije ovisio o količini primijenjenog dušika. U obje godine, količina dušika u navodnjavanim biljkama povećala se povećanjem količine primijene dušika, počevši od 49 do 56 dana nakon presađivanja.

Prinos i kvaliteta duhana ovise o pristupačnom dušiku u tlu koji mora biti unutar prilično velikih granica, kao i mineralnom dušiku dodanom gnojidbom. Kod toga treba voditi računa da duhan u prvih 5 do 6 tjedana nakon presađivanja, u normalnim uzgojnim uvjetima, akumulira 50 % dušika, u 9 tjedana oko 90 % dušika, a do kraja vegetacije akumulira ukupni dušik.

Ispravna gnojidba duhana dušikom uključuje skoro potpuno iscrpljenje rezervi dušika iz tla u fazi cvjetanja. U tlu se neprestano odvijaju dinamički procesi amonifikacije i nitrifikacije. Gnojivom dodani dušik u tlu se pod povoljnim uvjetima vrlo brzo transformira u nitrat. Williams i Minner (1982.) navode da se kompletna razgradnja uree i nitrifikacija NH_4 u NO_3 završi unutar 4 - 6 tjedana, ovisno o klimatskim uvjetima godine i lokaciji. Iz toga proizlazi da su u uvjetima pogodnim za brzu nitrifikaciju (povoljne temperature i vlažnost tla, dobra prozračnost, povoljan pH) amonijski i nitratni oblik jednako vrijedni u ishrani duhana, obzirom na prinos i kvalitativna svojstva. Uz vrlo kišovito vrijeme na pjeskovitim se tlima i amonijski i nitratni dušik vrlo brzo ispiru.

Pri dodavanju određene količine dušika u prihrani treba biti oprezan. Prema Hawksu i Collinsu (1994.) dušik se treba nadoknaditi ovisno o dubini oraničnog sloja, količini vode

procijeđene kroz gnojeni sloj i starosti duhana. Što je pjeskovitiji sloj dublji preporučuju se veće nadoknade (Butorac, 2009).

Sifola i Cuocolo (2003.) proveli su dvogodišnji pokus na duhanu tipa burley (*Nicotiana tabacum* L.) sorti C104 kako bi se odredio utjecaj navodnjavanja i gnojidbe dušikom na rast, brzinu nicanja lista, površinu lista i stopu izduživanja matičnih stanica. Parametri rasta mjereni su počevši od 36 dana nakon presađivanja tijekom berbe. Akumulacija suhe tvari biljke i razvoj površine listova bili su različiti između godina uzgoja, zbog različite raspodjele oborina tijekom ljetnih mjeseci. 1994. godine, počevši od 56 dana, akumulacija suhe tvari bila je značajno veća u varijantama gnojenim sa 120 kg N/ha nego u negnojenim varijantama u uvjetima navodnjavanja. Brzina nicanja lista je bila značajno veća kod navodnjavanih varijanti nego kod nenavodnjavanih do 64 dana nakon presađivanja. 1995. godine došlo je do malog učinka režima navodnjavanja i dušične gnojidbe na brzinu nicanja lista. Stopa izduživanja matičnih stanica nije bila pod utjecajem navodnjavanja niti gnojidbe dušikom u 1994. godini. U 1995. godine nije bilo utjecaja dušične gnojidbe na stopu izduživanja matičnih stanica, ali je navodnjavanje povećalo stopu izduživanja matičnih stanica za 21%.

Zou i sur. (2017.) istražili su kako način obrade tla i količina gnojidbe utječu na agronomski i kemijski sastav duhana tipa burley. 2012. i 2013. godine na tri podijeljene parcele primijenjene su tri varijante dušičnih gnojiva (0, 140 i 280 kg N/ha) u okviru istraživanja usporedbe dugotrajne no-tillage i konvencionalne obrade tla. U godini s količinom oborina < 450 mm tijekom vegetacije, bolji prinos je postignut kod duhana posađenog na tlo s konvencionalnom obradom nego kod duhana posađenog na tlo s no-tillage obradom tla.. Slični prinosi su bili i kod količine oborina > 500 mm tijekom vegetacije. 2012. godine, količina oborina je iznosila 432 mm; odnosno 84 % sezonske vrijednosti, očitanjem listova SPAD metodom (Single Pass Albumin Dialysis), koncentracija nitrata u listovima i ukupna koncentracija dušika bila je niža kod duhana s primjenjenom no-tillage obradom tla nego kod duhana s primjenjenom konvencionalnom obradom tla pri najnižoj količini gnojidbe dušikom. Budući da je unos dušika u biljku duhana u velikoj mjeri ovisi o količini vode u tlu, očekuje se da će utjecaj smanjene gustoće korijena duhana kod no-tillage obrade tla biti izraženiji u sezoni kada je količina vode ograničena. Primjena dušika blizu duhanskog korijenovog sustava može se preporučiti kao strategija za poboljšanje učinkovitosti upotrebe dušika u proizvodnji s no-tillage načinom obrade tla kod duhana tipa burley.

Učinci kalija i stajskog gnoja na duhan tipa burley bili su od posebnog interesa u istraživanjima Nichols i sur. (1956.). Procijenjen je prinos, različiti aspekti kvalitete, vrijednost duhana po hektaru, svojstva gorenja i kemijske analize (nikotin, kalij, kalcij i klor). Stajsko gnojivo koje se koristilo u količini od 10 t/ha bilo je vrlo učinkovito u povećanju prinosa duhana. Kada se koristilo s relativno niskom razinom kalija od 60 kg/ha, utjecalo je i na poboljšanje kvaliteta duhana. Pri gnojidbi s većom količinom kalija od 300 i 540 kg/ha, kvaliteta duhana bila je slična kada se duhan gnojio i bez stajskog gnoja. Kada je sadržaj kalija u duhanu povećan dodatkom bilo kalija ili stajskog gnoja, sadržaj kalcija bio je proporcionalno snižen. Veće količine kalija dodane duhanu utjecale su na niži postotak nikotina u suhom listu.

MacKown i sur. (2000.) navode kako neadekvatna gnojidba dušikom vodi ka smanjenom prinosu i cijeni. Mjerenje koncentracije nitrata u biljci koristan je dijagnostički način za određivanje optimalne količine dušika i koncentracije nitrata kod suhog lista u svrhu boljeg menadžmenta gnojidbe dušikom i većeg prinosa (MacKown i sur., 2000).

Koncentracija nitrata u biljnom soku rebra lista ukazuje potrebu za prihranom dušikom prije nego su simptomi njegova nedostatka vidljivi. Danas se na tome temelji kontrola osnovne gnojidbe dušikom i eventualne prihrane (Wu i sur., 2007).

Koncentracija nitrata u biljnom soku u donjih 10 cm glavnog rebra potpuno razvijenog lista, ne bi trebala biti veća od 5000 mg/L kod posljednje kultivacije, a veća od 3000 mg/L kod cvatnje (Lyons i sur., 1996).

Rathbone (2008.) preporuča količinu od 224 kg/ha dušika za najbolji prinos. Kako potencijal prinosa duhana prelazi 3000 kg/ha količina potrebnog dušika za razvoj tolike biomase lista se povećava. Također količine primjenjenog gnojiva i kultivar zajedno igraju važnu ulogu u vremenu potrebnom da biljka dozrije.

Mustapić i sur. (1992.) navode kako količina dodanog dušika kod nas ne bi smjela prelaziti 150 kg/ha. Dušik se može dodati 2 puta, a prihrana se obično provodi 2 do 3 tjedna nakon sadnje u redove.

U nekim dijelovima SAD-a burley se gnoji i stajskim gnojem. Međutim, to gnojivo sadržava klor, te se stoga ne smije dodavati više od 25 do 30 t/ha (Butorac, 2009).

2.2. Mikrokapsule

Inkapsulacija aktivnih komponenata razvija se zadnjih par godina i koristi kao novi potencijalni alat za ekološki i održiv način uzgoja biljke (Vinceković i sur., 2017). Metodom inkapsulacije se dobivaju mikročestice, a to je proces kojim se čvrsti, tekući ili plinoviti aktivni sastojci imobiliziraju u matrikse ili jezgre, koje kontrolirano otpuštaju aktivne sastojke (Gallo i Corbo, 2010).

Mikrokapsule na bazi prirodnih materijala su idealan nosač aktivnih tvari koje se otpuštaju kroz razdoblje rasta i razvoja biljke (Slika 2.2.1..). Opće poznato je da su biljkama potrebni kemijski elementi (primarni, sekundarni i mikronutrijenti) za razvoj i opstanak (Vinceković i sur., 2016). Prednost mikrokapsula je sporo otpuštanje bioaktivnih sastojaka, učinkovito iskorištenje korištenih kemikalija, veća sigurnost za korisnika i bolja zaštita okoliša (Vinceković i sur., 2017). Pomoću mikrokapsula, kroz duže vremensko razdoblje, laganim otpuštanjem biljka prima određene nutrijente i ujedno dodatnu zaštitu od bakterija, virusa i drugih štetnika.

Mnogi se polimeri koriste za dobivanje mikrokapsula, ali najviše biopolimeri. To su npr. polisaharidi poput alginata i kitozana, a dobiveni su iz poljoprivrednih sirovina ili ljuski rakova (Racovită i sur., 2009). Koriste se jer imaju sposobnost stvaranja mikrokapsula metodom ionskog geliranja (Fan i sur., 2011). Alginat je natrijeva sol alginske kiseline (Vinceković i sur., 2016), a izolira se iz smeđih algi. Alginat sadrži uronske kiseline, α-L-guluronske i β-L-manuronske kiseline povezane α-glikozidnom vezom. Čvršće i poroznije gelove koji su postojaniji dulje razdoblje razvija alginat s visokim sadržajem guluronske kiseline. Poliguluronatne jedinice molekula alginata stvaraju model „kutija za jaja“ tj., geliranu strukturu s metalnim ionima. Takav spoj između lanaca kinetički je stabilan prema disocijaciji. Polimanuronatne jedinice imaju polielektrolitske karakteristike vezanja kationa. Rezultat vezanja tih međudjelovanja je stvaranje okruglih mikrokapsula (Racovită i sur., 2009).

Slika 2.2.1. Mikrokapsule

Izvor: Krešimir Ljubičić

3. Stanišni čimbenici

3.1. Tlo

Lokacija Zagreb - Maksimir 2018.

Prema tipskoj pripadnosti tlo na ovoj lokaciji je eutrično smeđe, antropogenizirano, na slabo zamočvarenoj ilovači (Pospišil, 1990.). Praškasto ilovaste je teksture (Tablica 3.1.1.). Zbog visokog sadržaja praha, sklono je stvaranju pokorice.

Tablica 3.1.1. Mehanički sastav tla

Dubina tla (cm)	Mehanički sastav tla % čestica - O mm					Teksturna oznaka
	2-0.2	0.2-0.05	0.05-0.02	0.02-0.002	<0.002	
0-20	18.7	9.7	38.4	29.8	3.4	Praškasta ilovača
20-60	18.5	10.5	34.4	28.0	8.6	Praškasta ilovača

U Tablici 3.1.2. prikazan je porozitet, kapacitet tla za vodu i zrak i gustoća pakiranja. Kapacitet tla za vodu iznosi 36.8 vol.% u oraničnom, a 33.6 vol.% u podoraničnom sloju. Za orični sloj moglo bi se, dakle, reći da je osrednjeg, a podorični malog kapaciteta tla za vodu. Kapacitet tla za zrak u oraničnom sloju iznosi 4.6 vol. %, a u podoraničnom sloju 7.9 vol. %, što je, dakako, ispod optimalnih vrijednosti. Tlo je osrednje zbijeno.

Tablica 3.1.2. Porozitet, kapacitet tla za vodu i zrak, gustoća pakiranja

Dubina tla (cm)	Porozitet vol.%	Kapacitet za vol.%		Gustoća pakiranja stv (g/em3)
		Zrak	Vodu	
oranični	41.4	36.8	4.6	1.57
podoranični	41.5	33.6	7.9	1.59

Kemijska svojstva tla prikazana su u Tablici 3.1.3. Tlo pokusne površine je neutralno. Vrlo bogato je opskrbljeno biljci pristupačnim fosforom i kalijem, a dobro ukupnim dušikom. Slabo je humozno.

Tablica 3.1.3. Kemijska svojstva tla

Tlo 0-30 cm	pH 1M KCI (1:2,5)	P_2O_5 mg/100 g	K_2O mg/100 g tla	Humus (%)	TN (%)	mg N-NO_3/kg	mg N-NH_4/kg
Maksimir	7,08	49,5	25,7	2,1	0,120	41,0	13,5

--HRN ISO 11464:2004-priprema uzorka; HRN ISO 10390:2004 - određivanje pH: AL metoda (ekstrakcija s amonij-laktat-octenom kiselinom)- određivanje P_2O_5 i K_2O: modificirana HRN ISO 14235:2004 (metoda po Tjurin-u ili bikromatna metoda)- određivanje humusa; HRN ISO 13878:2004-određivanje ukupnog dušika; ekstrakcijom s 1 M KCI (1:10 w/v) spektrofotometrijski kadmijska redukcija i Nessler - modificirana ISO/TS 14256-1:2003- određivanje NO_3, - N i NH_4-N

3.2. Vremenske prilike tijekom istraživanja

Prema podacima Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ) u Tablici 3.2.1. prikazane su srednje temperature zraka, srednje minimalne i maksimalne temperature zraka za 2018. godinu te višegodišnji prosjek (1981 – 2010.) za meteorološku postaju Zagreb - Maksimir. Temperature izmjerene tijekom vegetacijske sezone duhana u 2018. godini pokazuju da je godina bila toplija od višegodišnjeg prosjeka za to razdoblje. U vrijeme presađivanja te početnog porasta duhana u svibnju temperature su bile veće za 3,0°C. U nastavku vegetacije u vrijeme formiranja nadzemne mase duhana temperature su bile više u lipnju za 1,8°C, a u srpnju za 1°C. U kolovozu su temperature bile veće za 2,9 °C, a u rujnu za 1, 4 °C od višegodišnjeg prosjeka.

Tablica 3.2.1. Srednja, minimalna i maksimalna temperatura zraka za 2018. godinu, te višegodišnji prosjek (^{0}C) za postaju Zagreb Maksimir

Mjesec	Srednja temperatura zraka (°C)	Srednja minimalna temperatura zraka (°C)	Srednja maksimalna temperatura zraka (°C)	Višegodišnji prosjek(°C) 1981.-2010.
Svibanj	19,5	13,6	24,9	16,5
Lipanj	21,4	16,1	26,5	19,6
Srpanj	22,5	17,1	27,9	21,5
Kolovoz	23,7	17,2	30,0	20,8
Rujan	17,7	17,7	24,4	16,3

DHMZ (2018)

U tablici 3.2.2. prikazane su apsolutna minimalna i maksimalna temperatura zraka za 2018. godinu za meteorološku postaju Zagreb – Maksimir. Duhan je biljka supstropskih krajeva i podnosi visoke temperature, ali je nešto osjetljivija na niske temperature, posebno u fazi ukorjenjivanja u svibnju i fazi formiranja nadzemne mase u lipnju i srpnju kada niske temperature nepovoljno utječu na kvalitetu duhana. Iz podataka DHMZ-a zabilježene su i velike amplitude između apsolutnih minimalnih i apsolutnih maksimalnih temperatura tijekom vegetacije što također utječe na smanjnje prinosa i kvalitete lista duhana.

Tablica 3.2.2. Apsolutna minimalna i maksimalna temperatura zraka (°C) za 2018. godinu za postaju Zagreb Maksimir

Mjesec	Apsolutna minimalna temperatura zraka (°C)	Apsolutna maksimalna temperatura zraka (°C)
Svibanj	7,3	29,4
Lipanj	8,0	32,2
Srpanj	13,6	32,4
Kolovoz	9,9	34,3
Rujan	2,5	30,9

DHMZ (2018)

U Tablici 3.2.3. prikazane su količine oborina za meteorološku postaju Zagreb – Maksimir za 2108. godinu te višegodišnji prosjek. Količine oborina u svibnju bile su na razini višegodišnjeg prosjeka, da bi u lipnju bile veće od višegodišnjeg prosjeka za 30,4 mm. To razdoblje je bilo popraćeno i tučom u dva navrata i to je nepovoljno utjecalo na rast i razvoj duhana. Najveće potrebe za vodom duhan ima u srpnju u fazi intenzivnog rasta kada mu je za svakih 7 – 10 dana potrebno 25 - 38 mm oborina. Količina oborina od 85,2 mm (13,8 mm više od višegodišnjeg prosjeka) zadovoljila je potrebe za vodom. Međutim, u kolovozu visoke srednje temperature od 30 °C popraćene nedostatkom oborina, za čak 55,5 mm manje, nepovoljno su djelovale na kvalitativni razvoj duhana. U rujnu se nastavio trend visokih srednjih temperatura za to razdoblje (24 °C) kao i mnogo manja količina oborina (59,0 mm) od višegodišnjeg prosjeka.

Tablica 3.2.3. Mjesečna količina oborina za 2018. godinu, te višegodišnji prosjek (mm) za postaju Zagreb Maksimir

Mjesec	Mjesečna količina oborina (mm)	Višegodišnji prosjek (mm) 1981.-2010.
Svibanj	68,7	68,6
Lipanj	127,8	97,4
Srpanj	85,2	71,4
Kolovoz	40,7	96,2
Rujan	59,0	94,1

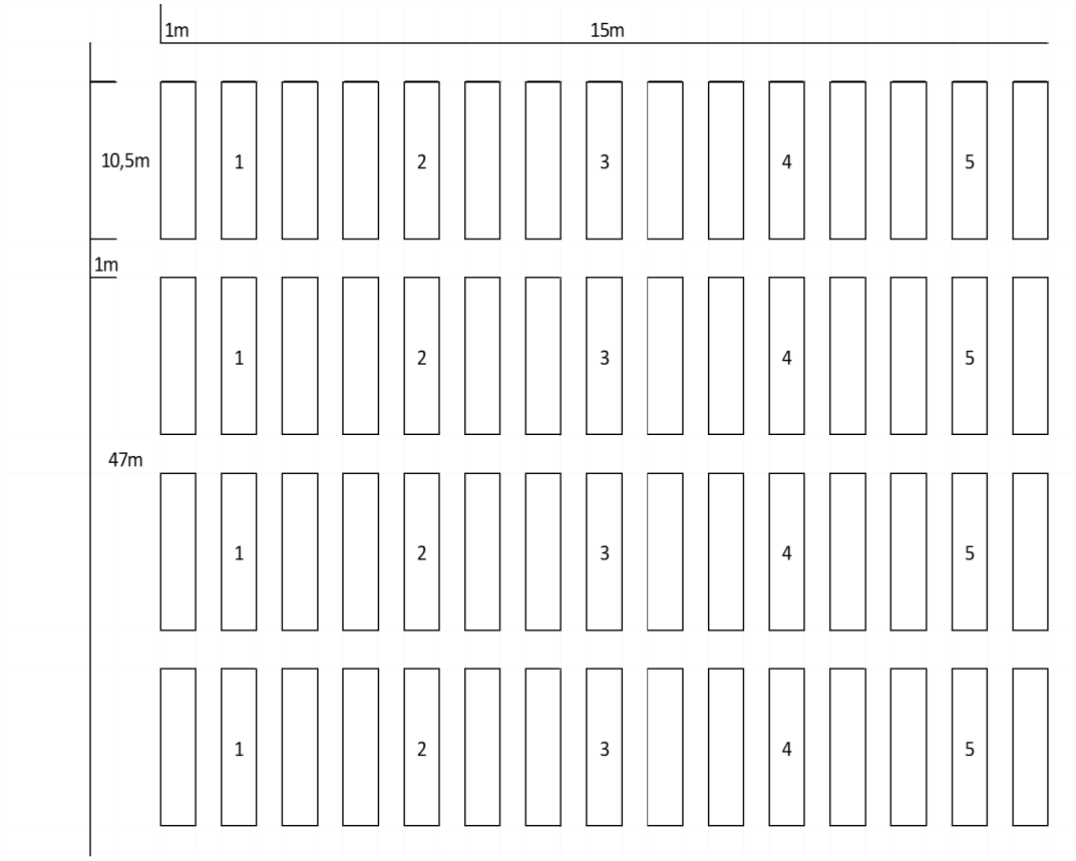
DHMZ (2018)

4. Materijali i metode

4.1. Plan pokusa

Na Pokušalištu Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta u Maksimiru tijekom 2018. godine postavljen je gnojidbeni pokus sa duhanom tipa burley. Pokus je postavljen prema metodi slučajnog bloknog rasporeda u četiri ponavljanja (Slika 4.1.1.).

Veličina pokusne parcele je iznosila 10,5 m^2 (10,5 m x 1 m). Razmak između parcela iznosio je 1,0 m. S obje strane pokusne parcele nalazio se zaštitni pojas u širini od 1.0 m. Ukupna površina pokusa iznosila je 705 m^2 (15,0 m x 47,0 m).



Slika 4.1.1. Plan pokusa

1. Kontrola 100 kg/ha KAN-a
2. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula
3. 80 kg/hu KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula
4. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom
5. 80 kgha KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom

4.2. Agrotehnika

U pripremi tla za sadnju duhana krajem studenog izvršeno je oranje na dubinu od 30 cm. Otvorena brazda ostavljena je preko zime. U tlo je prije sadnje (8. svibnja, 2018.) na svim parcelama uneseno 500 kg/ha NPK gnojiva formulacije 0 - 5 - 30 (25 kg/ha fosfora i 150 kg/ha kalija). Pred samu sadnju 9. svibnja, 2018., obavljena je finalna obrada tla sjetvospremačem u jednom prohodu. 10. svibnja, 2018. napravljene su gredice za sadnju duhana visine 30 cm (Slika 4.2.1.)

Sika 4.2.1. Gredice za sadnju duhana

Izvor: prof.dr.sc Jasminka Butorac

Sadnja duhana izvršena je ručno 11. svibnja 2018. godine rasadom dobivením od Hrvatskih duhana d.d. F1 hibridom BH4 (Slika 4.2.2.). Kultivar BH 4 ima cilindričan oblik biljke. Nakon zalamanja visina stabljike je 140 cm. Na biljci se formira oko 25 širokih listova (tip 4) za berbu. Cvijet je ružičaste boje. Cvatnja započinje 65 dana nakon sadnje. Posjeduje visoki potencijal prinosa (oko 3 500 kg/ha) i zadovoljavajuću otpornost na PVY i polijeganje. Osušeni listovi imaju mahagonij do kestenjastosmeđu boju (Butorac, 2009).

Slika 4 Rasad duhana F1 hibrid BH4

Izvor: prof.dr.sc Jasminka Butorac

Svaki pokusni red bio je zastupljen sa 22 biljke duhana (Slika 4.2.3.). Duhan je širokoredna kultura. Razmak između biljaka u redu iznosio je 50 cm.

U prihranjivanju je dodan dušik u pet različitih varijanata:

1. Kontrola 100 kg/ha KAN-a,
2. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula,
3. 80 kg/ha KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula,
4. 90 kg/ha KAN-a+10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom,
5. 80 kg/ha KAN-a+20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom.

Slika 4.2.3. Posađeni pokus duhana

Izvor: prof.dr.sc Jasminka Butorac

Duhan je nekoliko puta tijekom vegetacije okopavan zbog pojave korova i ručno zalomljen na visini 20. do 22. lista 19. srpnja 2018. godine. Zaperci su odstranjeni ručno.

4.3. Istraživana svojstva

Na uzorku od 10 biljaka tijekom vegetacije (20. srpnja 2018.) određen je broj listova, dužina i širina 9. lista, visina biljke nakon zalamanja, a na cijeloj parceli početak cvatnje. Listovi su ručno ubrani u sedam berbi (24. srpnja, 30. srpnja, 6. kolovoza, 13. kolovoza, 20. kolovoza, 27. kolovoza i 10. rujna 2018. (Slika 4.2.4.)) i osušeni na zraku u hladu u sušari Agronomskog fakulteta (Slika 4.2.5.).

Nakon sušenja određen je prinos (kg/ha) i duhan je klasiran u šest klasa (27. kolovoza, 30. kolovoza, 3. rujna, 13. rujna, 16. listopada, 12. studenoga i 22 studenoga 2018.).

Slika 4.2.4. Biljke duhana u berbi

Autor: prof.dr.sc Jasminka Butorac

Slika 4.2.5. Sušenje listova duhana na zraku u hladu

Autor: prof.dr.sc Jasminka Butorac

4.4.Priprema mikrokapsula

U istraživanju su testirana djelovanja dvije vrste kapsula na duhanu. Kapsule koje su se koristile bile su: kapsule natrijevog alginata s kalcijevim nitrat 4-hidratom i kapsule natrijevog alginata s kalcijevim nitrat 4-hidratom sa slojem omotača od kitozana.

Mikrokapsule su pripremljene tehnikom ionskog geliranja. Izrada mikrokapsula se provodi dokapavanjem otopine nosača aktivne tvari, natrijevog alginata inkapsulatorom Büchi - Encapsulator B-390 (BÜCHI Labortechnik AG, Švicarska)(Slika 2.2.2.) u otopine kalcijevog nitrat 4–hidrata (Ca $(NO_3)x4H_2O$). Koncentracija natrijevog alginata je 1,5% (w/v). Otopina natrijevog alginata propušta se kroz mlaznicu veličine 1 mm pri frekvenciji vibracija od 40 Hz i tlaku od 35 mbar (Encapsulator Büchi-B390, BÜCHI Labortechnik AG, Švicarska). Za drugi tip mikrokapsula, 1250g mikrokapsula miješaju se 1h u 2,5 litre otopine s 0,5 % kitozana.

Slika 2.2.1. Izrada mikrokapsula u Encapsulatoru B – 390

Izvor: Krešimir Ljubičić

4.5. Princip metode mjerenja nikotina kod duhana

Od kemijskih spojeva određen je sadržaj nikotina u suhim srednjim listovima duhana CORESTA metodom.

Metoda se temelji na reakciji vodenog ekstrakta duhana ili duhanskih proizvoda sa sulfanilnom kiselinom i cijanogen kloridom. Posljednji se generira *in situ* reakcijom kalijeva cijanida i kloramina T. Apsorbancija otopine mjeri se pri 460 nm. Koncentracije mjerljive ovom metodom iznose 0-1600 mg/L.

Priprema uzoraka:

Uzorci osušenog duhana usitne se u tarioniku ili kugličnom mlinu te se odredi količina vlage i zatim odvagne 250 mg uzorka, prebaci u Erlenmeyerovu tikvicu i zapiše masa s preciznošću 0.0001 g. Doda se 25 mL deionizirane vode ili octene kiseline (5%) te se uzorci miješaju na tresilici 30 min. Nakon toga uzorci se filtriraju kroz Whatman N° 40 ili sličan filter papir, odbaci se prvih 5 mL filtrate te se filtrati preliju u čašice za autosampler ili odmjerne tikvice.

Potrebni reagensi:

Pufer A: pripravlja se otapanjem 2.35 g natrijeva klorida i 7.6 g natrijeva tetraborata dekahidrata u oko 400 mL deionizirane vode. Doda se 1 mL deterdženta Brij 35 i dopuni vodom do oznake (1 L).

Pufer B: pripravlja se otapanjem 26 g dinatrijeva hidrogenfosfata, 10.4 g limunske kiseline i 7.0 g sulfanilne kiseline u deioniziranoj vodi, zatim se doda 1 ml otopine Brij 35, promiješa i dopuni vodom do oznake (1 L). Po potrebi se filtrira.

Otopi se 8.65 g kloramina T u 200 mL deionizirane vode, dopuni do oznake (500 mL) i filtrira po potrebi. Otopina se čuva u hladnjaku i stabilna je do tjedan dana.

Otopina za neutralizaciju A: Otopi se 1 g limunske kiseline i 10 g željezova (II) sulfata heptahidrata u deioniziranoj vodi te se dopuni do oznake (1 L).

Otopina za neutralizaciju B: Otopi se 10 g natrijeva karbonata u deioniziranoj vodi te se dopuni do oznake (1 L).

Cijankalij: U dobro ventiliranom digestoru otopi se 2 g kalijeva cijanida u deioniziranoj vodi te se dopuni do oznake (500 mL). Čuvati dalje od svjetla.

Otopina za ekstrakciju je 5% octena kiselina.

Ishodna otopina nikotina: Odvagne se 1.3 g (0.0001 g) nikotin hidrogentartarata i otopi u 5% octenoj kiselini te se tikvica nadopuni do oznake kiselinom (250 mL). Ovako pripravljena otopina sadrži 1.6 mg/mL nikotina. Otopinu čuvati u hladnjaku, rok upotrebe do mjesec dana.

Radni standardi pripravljaju se po potrebi razrjeđivanjem u ekstrakcijskom mediju.

Postupak rada:

Prilikom rada na Seal AACE autoanalyzeru, alikvot ekstrahiranog uzorka prelije se u čašicu, reagensi u tikvicama povežu se sa cijevima za provođenje prema priloženoj shemi te se pokrene program analize prema uobičajenom programu (otopine za kalibraciju – 6 uzoraka – jedna kalibracijska otopina „quality cup“ – 6 uzoraka itd.). Ako mjerena koncentracija premašuje koncentraciju najvišeg standarda, ekstrakte je potrebno razrijediti. Ako je prilikom ekstrakcije korištena octena kiselina, istom otopinom ispiru se cijevi protočnog sustava.

Izračun:

Udio nikotina u masi vaganog biljnog materijala poznate vlažnosti računa se po formuli:

%nikotin(uzorak)= $\frac{100\gamma Vu}{1000mu}\ x\ \frac{100}{100-M}$

Gdje je: c – koncentracija nitrata dobivena iz kalibracijske krivulje, μg/mL
V – volumen ekstrakta
m – masa uzorka, mg
M – udio vlage u uzorku

4.6. Statistička obrada podataka

Dobiveni podaci obrađeni su analizom varijance.

5. Rezultati istraživanja i rasprava

5.1. Prinos lista duhana

Prema rezultatima analize varijance utvrđeno je da različite varijante prihrane dušikom nemaju značajan utjecaj na ukupan prinos lista duhana u odnosu na kontrolu (Tablica 5.1.1.) . Najveći prinos lista duhana imala je varijanta s 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom i on je iznosio je 3119,71 kg/ha. U odnosu na kontrolu prinos je veći za 206,41 kg ili 7 %. Kod varijante s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula prinos je iznosio 3029,27 kg/ha i bio je 115, 97 kg veći od kontrole. Varijanta od 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula imala je prinos lista 3020,97 kg/ha, što je za 106,67 kg više od kontrole. Najmanji prinos lista duhana imala je varijanta s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Prinos je iznosio 2627,16 kg/ha što je 286, 14 kg manje od kontrole.

Iako posađeni hibrid u pokusu BH 4 ima potencijal prinosa od čak 3500 kg/ha, u našim uvjetima ima prosječni prinos od 2500 do 3000 kg/ha. Prema tome niži prosjek imala je samo varijanta prihranjena s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom, ostale varijante su bile u prosjeku vrijednosti prinosa, dok je iznad prosjeka s vrlo dobrim prinosom lista duhana bila varijanta 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom.

Rathbone (2008.) u svome istraživanju navodi kako je za prinos od 3000 kg/ha potrebno gnojiti sa 224 kg N/ha. Mustapić i sur. (1992.) navode kako je za isti prinos potrebno nešto manja količina dušičnih gnojiva, oko 150 kg/ha.

Iz rezultata našeg istraživanja možemo zaključiti da je za spomenuti prinos od 3000 kg/ha dovoljna količina od 100 kg/ha dušičnih gnojiva.

Tablica 5.1.1. Prinos lista duhana (kg/ha).

Varijanta prihrane dušikom	**Prinos lista duhana (kg/ha)**
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	2913,30
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	3020,97
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	3029,27
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	3119,71
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	2627,16
LSD 5%	N.S.

5.2. Kvaliteta duhana

U Tablici 5.2.1. prikazan je udio klasa listova duhana svih varijanti prihrane. Analizom varijance utvrđeno je da postoji signifikantna razlika samo u udjelu najkvalitetnijeg lista, odnosno prve klase, s obzirom na kontrolu. U pokusu je najveći udio prve klase listova imala kontrola od 10,87 %. Najmanji postotak prve klase od svih varijanti imala je varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (4,07 %).

U udjelima druge, treće, četvrte, pete i šeste klase nije bilo signifikantnih razlika između varijanata.

Varijanta 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula najveći udio imala je u četvrtoj (22,55 %), trećoj (21,71 %) te drugoj klasi (20,28%).

Varijanta prihrane s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula najveći udio imala je u drugoj (23,11 %), trećoj (22,68 %) i četvrtoj klasi (21,47).

Varijanta s 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom najveći udio imala je u drugoj klasi i to 25,80 %. U trećoj klasi je imala 25,45 %, a u četvrtoj klasi 20,54 %, dok je udio najnekvalitetnijeg lista, šeste klase (10,19 %), bio najniži od svih varijanti u istraživanju.

Varijanta s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom imala je najveći udio najnekvalitetnije, šeste klase, od svih varijanti u istraživanju (14,95 %). Najveći udio je bio kvalitete za treću klasu (27,01 %), zatim listova četvrte klase (22,29 %).

Najveći zbroj udjela najkvalitetniji klasa, prve, druge i treće imala je kontrola (57,06 %). Nakon kontrole najveći zbroj udjela prve, druge i treće klase imala je varijanta prihrane 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (56,62 %). Varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula imala je zbroj udjela prvih tri klasa 53,04 %. Varijanta 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula imala je zbroj udjela prvih tri klasa 49,92 %. Varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom imala je najmanji zbroj udjela prvih tri klasa 47,19 %.

Tablica 5.2.1. Udio klasa duhana (%)

Varijanta prihrane dušikom	I klasa (%)	II klasa (%)	III klasa (%)	IV klasa (%)	V klasa (%)	VI klasa (%)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	10,87	23,48	22,71	19,15	12,01	11,78
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	7,93	20,28	21,71	22,55	17,17	10,35
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	7,25	23,11	22,68	21,47	14,04	11,36
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	5,37	25,80	25,45	20,54	12,65	10,19
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	4,07	16,11	27,01	22,29	15,57	14,95
LSD 5%	2,19	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

5.3. Ukupan broj listova

Prema rezultatima analize varijance za ukupan broj listova kod različitih varijanti prihrane utvrđeno je da nema signifikantnih razlika (Tablica 5.3.1.). Kontrola je u prosjeku po biljci imala 24,60 listova. Najveći ukupan broj listova po biljci određen je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula, u prosjeku 25,93. Najmanji broj ukupnog broja listova po biljci zabilježen je kod varijante prihrane 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom, 24,38 listova.

Budući da hibrid BH 4 na biljci u prosjeku formira 25 listova, ukupan broj listova i u našem istraživanju to potvrđuje.

Tablica 5.3.1. Ukupan broj listova po biljci

Varijanta prihrane dušikom	Broj listova
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	24,60
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	25,93
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	24,98
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	25,20
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	24,38
LSD 5%	N.S.

5.4. Broj ubranih listova

Analizom varijance nije utvrđena signifikantna razlika za broj ubranih listova u različitim varijantama prihrane. Tablica 5.4.1. prikazuje prosječan broj ubranih listova po biljci za svaku varijantu prihrane. Način prihrane dušikom utjecao je na ukupan broj ubranih listova po biljci povećanjem broja ubranih listova u odnosu na kontrolu. Kod kontrole je prosječan broj ubranih listova po biljci iznosio 20,99. Najviše ubranih listova bilo je kod varijante 80 kg/ha KAN-a i 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Prosječni broj ubranih listova iznosio je 22,76. Kod varijante 90 kg/ha KAN-a s 10 kg/ha mikrokapsula prosječni broj ubranih listova po biljci iznosio je 22,66, kod varijante 80 kg/ha KAN-a s 20 kg/ha mikrokapsula, 22,10, dok je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom broj ubranih listova u prosjeku iznosio 22,48.

S obzirom da se zalamanje ovog tipa duhana obavlja od 20. do 22. lista rezultati su bili u očekivanim vrijednostima.

Tablica 5.4.1. Broj ubranih listova

Varijanta prihrane dušikom	**Broj listova**
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	20,99
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	22,66
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	22,10
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	22,48
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	22,76
LSD 5%	N.S.

5.5. Dužina 9. lista

Analizom varijance utvrđeno je da varijanta prihrane nije imala signifikantan utjecaj na dužinu 9. lista duhana (Tablica 5.5.1.). U odnosu na kontrolu sve su varijante imale veće prosječne vrijednosti dužine 9. lista. Biljke kontrole s varijantom prihrane 100 kg/ha KAN-a imale su najmanju prosječnu dužinu 9. lista 55,23 cm. Najveći utjecaj prihrane na dužinu 9. lista pokazao se kod varijante KAN-a 80 kg/ha + 20 kg/ha mikrokapsula. Prosječna dužina 9. lista je iznosila 58,28 cm. Kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom dužina 9. lista u prosjeku je iznosila 56,71 cm. Varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom imala je 57,38 cm prosječnu dužinu 9. lista. Prosjek dužine 9. lista od 55,75 cm zabilježen je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula.

U prosjeku dužina 9. lista kod duhana tipa burley kreće se od 50 do 70 cm. Iz dobivenih vrijednosti može se zaključiti da su sve varijante bile u donjim vrijednosnim granicama..

Tablica 5.5.1. Dužina 9-og lista

Varijanta prihrane dušikom	Dužina 9. Lista (cm)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	55,23
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	55,75
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	58,28
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	56,71
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	57,38
LSD 5%	N.S.

5.6. Širina 9. lista

Prema analizi varijance utvrđeno je da je način prihrane dušikom imao signifikantan utjecaj na širinu 9. lista (Tablica 5.6.1.). U odnosu na kontrolu sve su varijante prihrane imale veće vrijednosti. Kod kontrole je izmjerena prosječna širina 9. lista od 31,74 cm. Najveći utjecaj na širinu 9. lista zamijećen je kod varijante 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom u vidu većih vrijednosti u odnosu na kontrolu. Širina 9. lista bila je značajno veća, za 3,69 cm. Širina 9. lista varijante 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula u prosjeku je bila značajno veća za 2,00 cm, dok je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom prosječna širina 9. lista bila je značajno veća, za 1,66 cm.

Prosječna širina 9. lista za hibrid BH 4 iznosi 30 – 35 cm. Sve varijante gnojidbe imale su prosječne vrijednosti svojstvene hibridu s naglaskom da je varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom s prosječnom širinom 35,43 cm bila malo iznad prosjeka.

Tablica 5.6.1. Širina 9. lista

Varijanta prihrane dušikom	Širina 9. Lista (cm)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	31,74
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	32,14
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	33,74
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	33,40
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	35,43
LSD 5%	0,87

5.7. Visina biljke nakon zalamanja (cm)

U prosjeku je visina biljke nakon zalamanja kod hibrida BH 4 140 cm. Rezultatima analize varijance utvrđeno je da je način prihrane imao signifikantan utjecaj na visine biljke nakon zalamanja. U tablici 5.7.1. prikazane su prosječne visine biljaka po različitim varijantama prihrane.

Visina biljke nakon zalamanja u kontrole bila je 148,63 cm. Najniže biljke nakon zalamanja izmjerene su u varijanti prihrane 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Prosječna visina biljaka nakon zalamanja bila je signifikantno niža i iznosila je 138,84 cm.

Tablica 5.7.1. Visina biljke nakon zalamanja

Varijanta prihrane dušikom	Visina biljke nakon zalamanja (cm)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	148,63
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	148,09
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	148,08
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	149,83
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	138,84
LSD 5%	6,62

5.8. Početak cvatnje

Kultivaru BH 4, koji je posađen u pokusu, u prosjeku je potrebno 65 dana od sadnje za ulazak u fazu cvatnje. Tablica 5.8.1. prikazuje broj dana proteklih od sadnje do početka cvatnje biljaka duhana s različitim varijantama prihrane zastupljenih u istraživanju. Prema rezultatima analize varijance ustanovljena je signifikantna razlika u početku cvatnje biljaka u odnosu na kontrolu.

Početak cvatnje kod kontrole zabilježen je 75 dana od sadnje. Signifikantno najkasniji početak cvatnje zabilježen je kod biljaka s varijantom prihrane 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Kod njih je cvatnja započela 82 dana nakon sadnje.

Na kasniji početka cvatnje od uobičajenog za tip duhana burley posljedica je prvenstveno vremenskih prilika. U lipnju, u fazi intenzivnog rasta i razvoja biljke duhana i formiranja nadzemne mase, pale su velike količine oborina (30,4 mm više od višegodišnjeg prosjeka) koje su u dva navrate bile i popraćene tučom. U takvim uvjetima biljke su bile oštećene i ometen je njihov normalan rast i razvoj. Biljke duhana imaju dobru sposobnost regeneracije, ali nakon takvih oštećenja tjeraju zaperke i to je uvelike utjecalo na sporiji rast i razvoj i naposljetku kasniji ulazak u fazu cvatnje.

Tablica 5.8.1. Početak cvatnje

Varijanta prihrane dušikom	Početak cvatnje (dana)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	75
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	76
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	75
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	73
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	82
LSD 5%	5,66

5.9. Sadržaj nikotina

U tablici 5.9.1. prikazan je sadržaj nikotina u listovima biljaka duhana s različitim varijantama prihrane dušikom. Kod rezultata analize varijance za sadržaj nikotina u listovima duhana kod različitih varijanti gnojidbe nije utvrđena signifikantna razlika. Kod kontrole je izmjeren 2,82 % udio nikotina u listovima. Manji sadržaj nikotina su imale varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula (2,75 %), varijante s 80 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula (2,7 %) i varijante s 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (2,6 %). Jedino je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom izmjeren veći sadržaj nikotina (3,01 %) od kontrole.

Budući da prosječni udio nikotina kod duhana tipa burley iznosi 2,91 % (Akehurst, 1981.), varijanta prihrane 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom pokazuje nešto veće vrijednosti.

Tablica 5:9.1. Sadržaj nikotina

Varijanta prihrane dušikom	Sadržaj nikotina (%)
Kontrola -(100 kg/ha) KAN-a	2,82
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula	2,75
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula	2,70
90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	3,01
80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom	2,60
LSD 5%	N.S.

6. Zaključak

Na osnovu jednogodišnjih istraživanja prihrane sa dušikom na duhanu tipa burley provedenih na pokušalištu Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta u Maksimiru mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- tlo na ovoj lokaciji je eutrično smeđe, antropogenizirano, na slabo zamočvarenoj ilovači i praškasto ilovaste je teksture. Tlo je slabo humozno, pH iznosi 7,08 i tlo je vrlo bogato biljci pristupačnim fosforom, kalijem i ukupnim dušikom
- temperature zraka tijekom vegetacije bile su veće od prosječnih višegodišnjih temperatura za to područje. Količina oborina bila je optimalna za duhan u početku vegetacije (svibanj, lipanj i srpanj), ali je u tom razdoblju u dva navrata pala tuča koja je oštetila biljke duhana. U nastavku vegetacije (kolovoz i rujan) količina oborina bila je mnogo manja od višegodišnjeg prosjeka
- na osnovi provedene statističke analize varijance utvrđene su signifikantne razlike u udjelu prve klase, širini 9. lista, visini biljke nakon zalamanja i u početku cvatnje
- signifikantne razlike nisu dobivene za prinos, ukupan broj listova na biljci, broj ubranih listova, dužinu 9. lista i sadržaj nikotina
- najveći prinos po hektaru imala je varijanta prihrane 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (3119,71 kg/ha), dok je udio najkvalitetnijeg lista, prve klase, značajno više od ostalih varijanti, imala kontrola (10,87 %)
- najveći prosjek ukupnog broja listova zabilježen je u varijanti 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula (25,93), a najviše ubranih listova imala je varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom, u prosjeku 22,76 listova
- najduži 9. list zabilježen je kod varijante 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula (58,28 cm), a najširi 9. list imala je varijanta 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (35,43 cm)
- visina biljke duhana nakon zalamanja prelazila je prosječnu vrijednost za taj hibrid kod svih varijanti osim za varijantu 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom. Kod te varijante prosječna visina je bila 138,84 cm, dok je najveća visina utvrđena kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (149,83 cm).
- sve varijante su kasnije ušle u cvatnju. Značajno kasnija cvatnja zabilježena je kod varijante 80 kg/ha KAN-a + 20 kg/ha mikrokapsula s kitozanom (82 dana nakon sadnje)
- sadržaj nikotina nije se značajno razlikovao u različitim varijantama prihrane. Malo iznad prosjeka (3,01 %) uočen je kod varijante 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha mikrokapsula s kitozanom.

Temeljem dobivenih rezultata o istraživanim parametrima možemo zaključiti da je najbolja agronomska i kemijska svojstva imala varijanta prihrane 90 kg/ha KAN-a + 10 kg/ha

mikrokapsula s kitozanom. Ova varijanta je imala najveći prinos od svih varijanti, najveći ukupan broj listova po biljci te najviše stabljike nakon zalamanja. Udio listova prve klase je bio malih vrijednosti, ali je udio druge i treće bio relativno visok (preko 25 %). U ostalim parametrima istraživanja također je pokazala dobre rezultate.

Kontrola s varijantom prihrane 100 kg/ha KAN-a imala je najveći udio prve klase od svih varijanti prihrane, imala je visok prinos lista i zadovoljavajuć sadržaj nikotina u listu.

Količina oborina u lipnju uvelike je premašila višegodišnji prosjek oborina za područje Zagreb – Maksimir. Količina oborina je iznosila 127,8 mm, što je za 30,4 mm više od višegodišnjeg prosjeka. U toj fazi intenzivnog rasta i razvoja biljaka duhana u dva navrata je i pala tuča te oštetila i uvelike usporila razvoje biljaka. U kolovozu, u fazi kvalitativnom razvoja biljaka duhana, temperature su bile veće od višegodišnjeg prosjeka za 2,9°C, a izostajala je količina oborina. U omjeru s višegodišnjim prosjekom, količina oborina je bila manja za 55,5 mm. Može se zaključiti da su vremenski uvjeti, koji nisu bili idealni za razvoj duhana u kvantitativnom i kvalitativnom pogledu, imali velik utjecaj na rezultate istraživanja.

7. Popis literature

1. Akehurst B.C. (1981). Tobacco. John Wiley & Sons Inc, Hawthorne, CA, U.S.A.
2. AL metoda (ekstrakcija s amonij-laktat-octenom kiselinom)- određivanje P_2O_5 i K_2O:
3. Butorac J. (2009). Duhan. Kugler d.o.o.., Zagreb.
4. CORESTA metoda
5. Devčić K. (1975). Reakcija duhana burley na količinu i vrijeme upotrebe kalcijskoamonijske salitre (KAN-a) i uree, Disertacija, Zagreb, I-152.
6. DHMZ – Državni hidrometeorološki zavod. https://meteo.hr – pristup 20. svibnja 2019.
7. Encapsulator Büchi-B390, BÜCHI Labortechnik AG, Švicarska
8. Fan W., Yanb W., Xub Z., Ni H. (2011). Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. Colloids Surf B: Biointerfaces. 90: 21-27.
9. FAO - Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. -- http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC – pristup 20. svibnja 2019.
10. Fuqua B. D., Sims J. L., Leggett J. E., Benner J. F., Atkinson W. O. (1976). Nitrate and chloride fertilization effects on yield and chemical composition of burley tobacco leaves and smoke. Canadian Journal of Plant Science 56(4): 893-899.
11. Gallo M., Corbo M.R. (2010). Mikroencapsulation as a new approach to protect aktive compounds in food. U: Application of Alternative Food. Preservation technologies to enhance food safety and stability. Bentham Science Publisher: 188-195.
12. Hawks S.N., Collins W.K. (1994). Načela proizvodnje virginijskog duhana, Ceres, Zagreb.
13. HRN ISO 10390:2004 - određivanje pH
14. HRN ISO 11464:2004-priprema uzorka;
15. HRN ISO 13878:2004-određivanje ukupnog dušika; ekstrakcijom s 1 M KCI (1:10 w/v) spektrofotometrijski kadmijska redukcija i Nessler - modificirana ISO/TS 14256-1:2003- određivanje NO_3, - N i NH_4-N
16. Lyons D. L., Compton B. L., Victor P. (1996). A petiole nitrate test for management of nitrogen status and harvest initiation of flue-cured tobacco. Tobacco Science 40: 130 – 136.
17. MacKown, C. T., Crafts-Brandner, S.J., Sutton, T.G. (2000). Relationships among soil nitrate, leaf nitrate and leaf yield of burley tobacco: Effects of nitrogen management. Agronomy Journal 91:613-621.
18. modificirana HRN ISO 14235:2004 (metoda po Tjurin-u ili bikromatna metoda)- određivanje humusa
19. Mustapić Z., Bajtek M., Pospišil M. (1992). Utjecaj gnojidbe dušikom na prinos i kvalitetu duhana tipa burley. Tutun 42 (7 – 12): 119 – 137

20. Nichols B. C., Bowman D. R., McMurtrey J. E. Jr. (1956). Fertilizer Tests with Burley Tobacco. University of Tennessee, Knoxville Trace: Tennessee Research and Creative Exchange. 44 pg.
21. Pospišil, M. (1990). Reakcija šećerne repe na način dorade sjemena i gnojidbu nekim organskim gnojivima. Magistarski rad, Fakultet poljoprivrednih znanosti Sveučilišta u Zagrebu.
22. Racovită S., Vasiliu S., Popa M., Luca C. (2009). Polysaccharides based on micro-and nano particles obtained by ionic gelation and their applications and drug delivery systems. Revue Roumaine de Chimie. 54(9): 709-718.
23. Rathbone D. K. (2008). Effects of nitrogen Rate and Cultivar on Burley Tobacco Yield and Leaf Quality. Master of Science thesis. The University of Tennessee
24. Sifola M. I., Cuocolo B.(2003). Dry matter accumulation, leaf development and stem elongation in tobacco plants grown under different regimes of nitrogen fertilization and irrigation. Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare. Agrochimica – Pisa 47(1):40-53.
25. Sifola M. I., Postiglione L. (2003). The effect of nitrogen fertilization on nitrogen use efficiency of irrigated and non-irrigated tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Plant and Soil 252(2):313-323.
26. Vinceković M., Jalšenjak N., Topolovec-Pintarić S., Đermić E., Bujan M., Jurić S. (2016). Encapsulation of bological and chemical agents for plant nutrition and protection: citosan/alginate microcapsules loaded with copper cations and Trichoderma viride. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64(43): 8073-8083.
27. Vinceković M., Jurić S., Đermić E., Topolovec-Pintarić S. (2017). Kinetics and mechanismsof chemical and biological agents release from biopolymeric microcapsules. Journal of Agricultural and Food Chemistry 65(44): 9608-9617.
28. Williams, L.M., Miner, G.S. (1982). Effect of urea on yield and quality of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Agronomy Journey 74: 457-62.
29. Wu J., Wang D., Rosen C. J., Bauer M. E. (2007). Comparison of petiole nitrate concentrations, SPAD chlorophyl readings and QuickBird satellite imagery in detecting nitrogen status. Field crops research 101: 96 – 103.
30. Zou C., Pearce R. C., Grove J. H., Coyne M. S. (2017). No-tillage culture and nitrogen fertilizer management for burley tobacco production. Cambridge University Press. 599-612.