

57. srečanje mladih raziskovalcev Slovenije

**VPLIV BIOLOŠKE FIKSACIJE DUŠIKA NA RAST
IN RAZVOJ KORUZE (*Zea mays* L.)**

Raziskovalno področje: Ekologija z varstvom okolja

Raziskovalna naloga

Avtorja: Rok Žižek, Anamarija Sraka

Mentor: doc. dr. Primož Titan

**Šola: Biotehniška šola Rakičan,
Lendavska ulica 3,
Rakičan, Murska Sobota**

Rakičan, april 2023

KAZALO VSEBINE

	KAZALO SLIK	3
	KAZALO GRAFIKONOV	3
	POVZETEK	4
	ABSTRACT	5
	ZAHVALA	6
1	UVOD	6
1.1	Raziskovalno vprašanje in hipoteze	7
2	TEORETSKE OSNOVE	8
2.1	KORUZA (<i>Zea mays</i> L.)	8
2.2	POTREBE KORUZE PO DUŠIKU	10
2.3	KORUZA IN BIOLOŠKA FIKSACIJA DUŠIKA.....	12
3	MATERIAL IN METODE	15
3.1	ZASNOVA POLJSKEGA POSKUSA IN ZBIRANJE PODATKOV	15
3.2	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	18
4	REZULTATI	19
5	SKLEPI	22
6	DRUŽBENA ODGOVORNOST	24
7	LITERATURA	25

KAZALO SLIK

Slika 1: Morfološki opis rastline koruze.....	9
Slika 2: Simptomi pomanjkanja dušika v poznejši rasti koruze...	11
Slika 3: Uporaba biotehnologije pri razvoju biološke fiksacije koruze na modelni rastlini koruza.....	14
Slika 4: Umestitev poskusa z biološko fiksacijo dušika v letu 2022.....	16
Slika 5: Shema poljskega poskusa z opisom posameznih obravnavanj.....	16
Slika 6: Uporaba klorofilmetra za določanje intenzitete tvorbe klorofila v koruzi.....	18

KAZALO GRAFIKONOV

Graf 1: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na višino koruze.....	19
Graf 2: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na število vrst na koruznem storžu.....	20
Graf 3: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na dolžino koruznega storža.....	20
Graf 4: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na pridelek koruze.....	21
Graf 5: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na intenziteto tvorbe klorofila.....	22

POVZETEK

Koruza (*Zea mays* L.) je ena izmed vodilnih poljščin v Republiki Sloveniji. V setveni strukturi zavzema približno 40 % vseh površin, namenjenih setvi poljščin. Med vsemi makro hranili rabi koruza za svojo rast in razvoj največ dušika. V preteklih letih se je glede uporabe dušikovih mineralnih gnojil razpravljalo največ o njihovem negativnem vplivu na okolje. V sedanji geopolitični situaciji je pomemben vidik tudi, kako zmanjšati popolno odvisnost slovenskega kmetijstva od uvoza mineralnih gnojil. Pomembno alternativo uporabi sintetičnih dušikovih gnojil v pridelavi koruze in podobnih poljščin, ki botanično pripadajo družini trave, bi v bodoče lahko predstavljala biološka fiksacija dušika.

Raziskovalno delo, ki ga predstavljamo v nadaljevanju, je bilo opravljeno z namenom ugotoviti vpliv biološke fiksacije dušika na rast in razvoj koruze ter njen prispevek k zmanjšani uporabi dušikovih mineralnih gnojil v pridelavi koruze (*Zea mays* L.).

Rezultati so pokazali, da uporaba pripravka Utrisha N (vsebuje bakterijo *Methylobacterium symbioticum*) vpliva pozitivno na morfo-agronomske lastnosti koruze (višina rastline, karakteristike koruznega storža, pridelek) kakor tudi na potek fotosinteze. Izkazalo se je, da se je z vsakim kilogramom dodanega dušika pridelek zrnja v povprečju zvišal za 31,5 kg. V primeru, da upoštevamo obravnavanja z enako količino dodanega mineralnega dušika, je uporaba pripravka Utrisha N v povprečju povečala pridelek za več kot 8 %. Na osnovi obravnavanj iz našega poljskega poskusa lahko potrdimo navedbe tujih avtorjev, da lahko z uporabo diazotrofov zmanjšamo porabo mineralnih dušikovih gnojil vsaj za 10 %, ne da bi pri tem negativno vplivali na višino pridelka koruznega zrnja.

Ključne besede: biološka fiksacija dušika, diazotrof, dušik, koruza, pridelek

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is one of the leading crops in Slovenia. In the sowing process, it occupies approximately 40 % of all areas intended for crops. The macronutrient nitrogen is used in the largest quantities. Recently, the use of the nitrogen mineral fertilizers has been discussed mostly in terms of their negative impact on the environment. In the current geo-political situation, an important aspect is how to reduce the complete dependence of Slovenian agriculture from the import of mineral fertilizers. Furthermore, another alternative to the use of synthetic nitrogen fertilizers in the production of maize and similar crops, which botanically belong to the grass family, could be biological nitrogen fixation.

The main aim of this research is to determine the impact of biological nitrogen fixation on the maize growth and development and its contribution to the reduced use of nitrogen mineral fertilizers.

The results showed that the use of Utrisha N (containing the bacterium *Methylobacterium symbioticum*) has a positive effect on the maize's morpho-agronomic properties (plant height, cob characteristics, grain yield), including on the photosynthesis. The results have shown that with each kilogram of added nitrogen, grain yield increases by an average of 31,5 kg. Considering other observations with the same amount of added mineral nitrogen, the use of Utrisha N increased the yield by more than 8 %. Based on the final results, the statements of foreign authors are confirmed, following that the use of diazotrophs can reduce the consumption of mineral nitrogen fertilizers by at least 10 % without negative impact on the maize grain yield.

Keywords: Biological nitrogen fixation, diazotrophs, nitrogen, maize, yield

ZAHVALA

Zahvaljujeva se doc. dr. Primožu Titanu za strokovno pomoč pri zasnovi poskusa na posestvu Biotehniške šole Rakičan in pri oblikovanju zapisov raziskovalnega dela. Zahvaljujeva se tudi profesorici Marjanci Ferko Omahen za lektoriranje besedila in profesorici Ani Sobočan za prevod povzetka.

Poleg tega se zahvaljujeva tudi dr. Alojzu Srešu iz podjetja Corteva, ki nama je omogočil dobavo pripravka Utrisha N, brez katerega izvedba raziskovalne naloge ne bi bila mogoča.

1 UVOD

V Republiki Sloveniji je koruza posejana na skoraj 40 % vseh njivskih površin (Statistični urad RS, 2023). Tudi na regionalni in globalni ravni je koruza ena izmed najpomembnejših poljščin. Pomen koruze za svetovno gospodarstvo potrjujejo tudi velikanska finančna vlaganja največjih svetovnih multinacionalk v razvoj novih še produktivnejših hibridov.

Koruza je borzna surovina in igra pomembno vlogo v sedanji geopolitični situaciji. Vojna v Ukrajini je pokazala, da lahko tako pomembno blago, kot je koruza, služi tudi kot sredstvo za izsiljevanje. Posledice sedanjega političnega dogajanja v svetu so med drugim tudi zvišanja cen mineralnih gnojil in cen kmetijskih pridelkov. Napisano ima seveda negativen vpliv tudi na slovensko gospodarstvo.

Vojna v Ukrajini je pokazala tudi popolno odvisnost slovenskega kmetijstva od uvoza mineralnih gnojil. Združenje evropskih proizvajalcev mineralnih gnojil danes opozarja na odvisnost Evropske unije od uvoza mineralnih gnojil iz Rusije in Kitajske. Pred izrazitim dvigom cen mineralnih gnojil se je omenjalo predvsem negativen vpliv proizvodnje in uporabe mineralnih gnojil na kakovost voda, zraka in biodiverzitete.

Pri uporabi mineralnih gnojil bo v prihodnosti potrebno najti trajnostne načine tako na področju proizvodnje kakor tudi na področju uporabe sintetičnih rastlinskih hranil. Kar

se tiče dušika, ki ga koruza med vsemi makrohranili rabi v največjih količinah, je biološka fiksacija dušika s pomočjo diazotrofov vsekakor zelo zanimiva alternativa.

Je pa na tem mestu potrebno poudariti, da uporaba bioloških fiksatorjev dušika ne more v celoti zamenjati uporabe sintetičnih dušikovih gnojil, kot sta KAN in UREA, ampak lahko predstavlja pomemben delež k znižanju obremenitev okolja, ki so posledica intenzivne kmetijske dejavnosti

1.1 Raziskovalno vprašanje in hipoteze

Namen raziskovalne naloge je bil ugotoviti vpliv biološke fiksacije dušika na rast in razvoj koruze ter njen prispevek k zmanjšani uporabi dušikovih mineralnih gnojil v pridelavi koruze (*Zea mays* L.).

Z opravljenim raziskovalnim delom smo potrdili ali ovrgli naslednje delovne hipoteze:

Hipoteza 1: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na rast in razvoj koruze (*Zea mays* L.).

Hipoteza 2: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na pridelek zrnja koruze (*Zea mays* L.).

Hipoteza 3: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na fotosintezo koruze (*Zea mays* L.).

Hipoteza 4: Z uporabo biološke fiksacije dušika lahko znižamo uporabo mineralnih dušikovih gnojil pri pridelavi koruze (*Zea mays* L.).

2 TEORETSKE OSNOVE

2.1. Koruza (*Zea mays* L.)

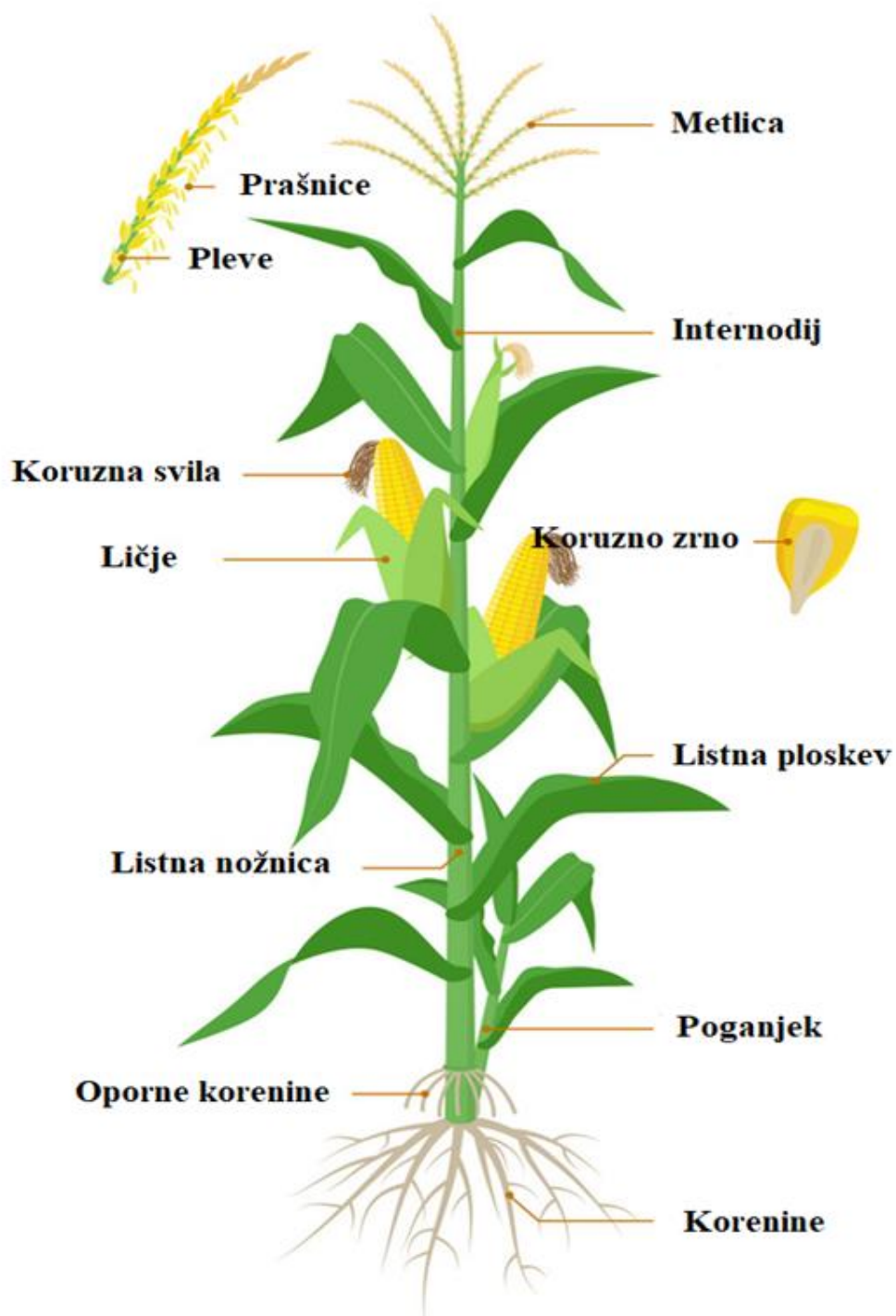
Koruza je k nam v Evropo prišla iz Srednje Amerike, natančneje iz Mehike. V Slovenijo naj bi prišla v začetku 17. stoletja. V svetovnem merilu je koruza med tremi najpomembnejšimi poljščinami, takoj za pšenico in rižem.

V celotni svetovni pridelavi je za živalsko krmo namenjenih kar 67 % pridelka, medtem ko se 23 % porabi za prehrano ljudi in v industrijske namene. Največ koruze v Sloveniji je prisotne v prehrani domačih živali. Pri koruzi se kot hrana za živali uporablja samo zrnje ali pa se naredi silaža iz cele rastline. Koruza je visokoenergetska krma, ki se uporablja pri prehrani goveda kot tudi prašičev in perutnine (FAOSTAT, 2023).

Koruza spada med C-4 rastline, zato boljše kot C-3 rastline izkorišča sončno svetlobo pri višjih temperaturah, zaradi česar lahko v relativno kratkem času proizvede velike količine suhe snovi. Steblo je okroglo, ravno in votlo, sestavljeno pa je iz 8–21 členkov. Posamezen list je dolg med 30 in 100 cm in je vzporedno ožiljen. Po sredini lista poteka glavna žila (Bavec, 2003). Rastlina ima ženska in moška socvetja, ki so med seboj ločeni. Moška socvetja so na vrhu rastline (rečemo jim tudi metlica), ženska socvetja pa poženejo iz najnižjih listov rastline (rečemo jim tudi svila).

V Sloveniji je koruza najbolj razširjena poljščina. Pridelujemo jo na povprečno 40 % vseh naših njiv, kar nas glede setvene norme med vsemi evropskimi državami uvršča na sam vrh. Vendar nam kljub temu tolikšna količina zrnja ne zadostuje, da bi pokrili domače potrebe. Še vedno je uvozimo približno toliko, kot je pridelamo doma, kar je v primerjavi z drugimi poljščinami še vedno veliko. Koruza bo kljub temu še vedno ostala ena najpomembnejših gospodarskih poljščin.

Slika 1: Morfološki opis rastline koruze (Po BBCH skali fenofaz gojenih rastlin)



2.2 Potrebe koruze po dušiku

Okvirne potrebe koruze po rastlinskih hranilih med vegetacijo znašajo 200 kg / ha dušika, 110–140 kg / ha fosforja in 160–240 kg / ha kalija. Pri pričakovanem pridelku koruze 10 ton zrnja na hektar oziroma 45 ton silaže na hektar je potrebno pred setvijo v tla zadelati 30 ton gnojevke na hektar in 300 kg NPK 7:20:30. Z dognojevanjem pa je potrebno vnesti še 120 kg dušika na hektar (z uporabo mineralnega dušikovega gnojila KAN ali UREA). V primeru, da ne uporabljamo živinskih gnojil, pa je potrebno pred setvijo na hektar površine v tla zadelati vsaj 500 kg NPK 7:20:30 in dognojiti s 180 kg dušika na hektar (dodan v dveh obrokih) (KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Kmetijska svetovalna služba).

Iz odvzema rastlinskih hranil je torej razvidno, da ima koruza med vegetacijo največje potrebe po dušiku. Dušik je namreč gradnik nukleinskih kislin, aminokislin, klorofila, encimov itd. Rastlinam dostopna je mineralna oblika dušika (ioni NO_3^- in NH_4^+). Pri dognojevanju koruze lahko upoštevamo samo skupni N-min ali pa samo nitratno obliko dušika. Simptomi pomanjkanja dušika so počasnejša rast, mlade rastline imajo daljše korenine, starejše rastline porumenijo in so daljše. V primeru, da se pomanjkanje dušika ne prekine, postane list temno rumen. Spodnji listi se pričnejo sušiti, akutno pomanjkanje dušika pa lahko povzroči, da se predčasno posuši celotna rastlina (Bavec in Bavec, 2014).

Slika 2: Simptomi pomanjkanja dušika v poznejši rasti koruze (Vir: Titan, 2022)



Potrebe koruze po dušiku se med vegetacijo spreminjajo. Koruza sprejme od začetka rasti pa do faze osmih listov vsega 2 % dušika, do faze metličanja – svilanja (BBCH 60) do 36 % dušika, do začetka polnjenja zrnja pa 77–87 % dušika, preostalih 13–23 % dušika pa v fazah polnjenja in dozorevanja zrnja (BBCH 83 do 89). V času dozorevanja koruze se dušik iz zelenih delov rastline premešča v zrnje tako, da predstavlja okoli 50 % N v zrnju dušik, ki je bil translociran iz posameznih rastlinskih delov (Bavec in Bavec, 2002).

Seveda pa so glede potreb po dušiku med vegetacijo razlike med posameznimi koruznimi hibridi. Nekateri hibridi izražajo višjo agronomsko učinkovitost izrabe dušika, kar pomeni, da so za en kilogram dodanega mineralnega dušika sposobni proizvesti večjo količino suhe snovi. Danes se podatka o agronomski učinkovitosti izrabe dušika kljub napredku v tehnologiji pridelave koruze še vedno ne upošteva. V splošni kmetijski praksi tako pogosto prihaja do prekomernega vnosa dušika z gnojili

organskega in / ali mineralnega izvora. Zato ima uvedba novih tehnologij, kot je biološka fiksacija dušika pri koruzi, med drugim tudi velik vpliv na varovanje okolja.

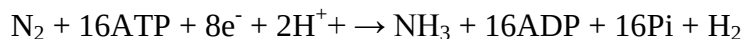
2.3 Koruza in biološka fiksacija dušika

Od leta 1960 se je svetovna poraba sintetičnih dušikovih gnojil povečala za 9-krat, s pričakovanim povečanjem za približno 40–60 % v naslednjih 40 letih (Sutton in sod., 2013). Danes proizvodnja mineralnih dušikovih gnojil porabi približno 2 % svetovne proizvodnje energije. Pri tem je potrebno omeniti, da proizvodnja mineralnih dušikovih gnojil negativno vpliva na kakovost voda, kakovost zraka, bilanco toplogrednih plinov, biotsko pestrost in talno mikrofloro (Glendinning in sod., 2009; Rockstrom in sod., 2009; Kanter, 2018).

Mikroorganizmi, ki živijo v povezavi s kultiviranimi rastlinami, predstavljajo zanimivo alternativo sintetičnim dušikovim gnojilom. Mikroorganizmi, ki živijo v območju rastlinskih korenin (rizosfera), opravljajo številne funkcije, kot je izločanje metabolitov, ki pomagajo pri sproščanju rastlinskih hranil, pospeševanje rastlinske presnove in nenazadnje tudi pri vezavi atmosferskega dušika (Compant in sod., 2019).

Danes je v kmetijstvu dobro znana uporaba asociacije – simbioze med stročnicami in dušik fiksirajočimi bakterijami. Do danes je poznanih 18.000 vrst stročnic, ki so skupaj z alfa in beta proteobakterijami sposobne vezave zračnega dušika (Masson-Boivin in sod., 2009). Poleg tega je znano, da so organizmi, ki so sposobni vezave zračnega dušika, večinoma prokarionti. Tako imenovane simbiotske bakterije so sposobne fiksacije dušika zaradi encimskega sistema nitrogenaze (Raymond in sod., 2004). Nitrogenaze so družina kompleksnih metaloencimov, ki katalizirajo redukcijo dušika (N_2) v amonijak (NH_3) v okoljskih pogojih.

Reakcija redukcije zračnega dušika, ki jo katalizira encim nitrogenaza, je običajno prikazana s formulo (Masson-Boivin in sod., 2009):



Poleg stročnic je znano, da so tudi nekatere druge rastlinske vrste sposobne vezave atmosferskega dušika preko tako imenovane biološke fiksacije dušika. V procesu biološke fiksacije dušika sodelujejo tako imenovani diazotrofi. Diazotrofi so prostoživeče bakterije ali modro-zelene alge, ki so sposobne pretvorbe dušika iz atmosfere v amonijak, ki pa se v nadaljevanju lahko pretvori v rastlinam dostopne oblike dušika (Ambrosio in sod., 2017). Ob upoštevanju negativnega vpliva proizvodnje mineralnih dušikovih gnojil na okolje in strošku, ki ga predstavlja uporaba mineralnih dušikovih gnojil, za kmeta predstavlja uporaba diazotrofov kot vir dušika za kmetijske rastline čedalje bolj zanimivo področje tako na raziskovalni kakor tudi na komercialni ravni.

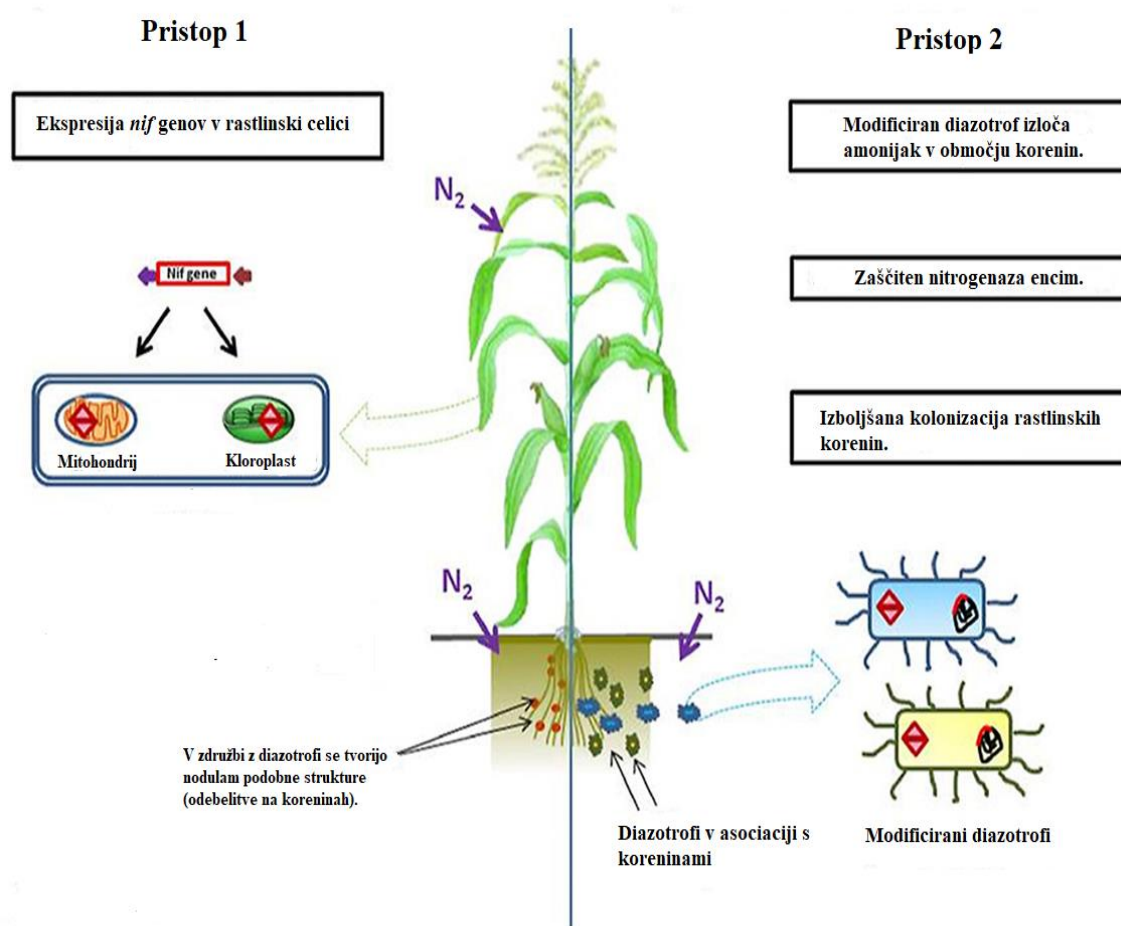
Modelna rastlina, ki jo obravnava raziskovalna naloga, je koruza (*Zea mays* L.). Pretekle študije so potrdile možnost uporabe nekaterih diazotrofov kot vir dušika za rast in razvoj koruze. Kot potencialne v naravi živeče diazotrofe, ki bi se jih lahko uporabilo za vezavo dušika pri koruzi, se omenjajo naslednje skupine bakterij: *Acidovorax*, *Commamonas*, *Herbaspirillum*, *Methylobacterium*, *Rhizobium*, *Gluconacetobacter*, *Kosakonia*. Za navedene skupine bakterij je značilno, da s koruzo tvorijo asociacijo na ravni rizosfere (v območju korenin) ali pa na endofitni ravni (Dong in sod., 2001; Gutie'rriz-Zamora in Marti'nez-Romero, 2001; Caballero-Mellado in sod., 2004; Perin in sod., 2006).

V naravi je poznan primer biološke fiksacije dušika pri mehiški avtohtoni populaciji koruze, imenovane Sierra Mixe. Navedena sorta koruze je v okolici aerobnih korenin sposobna proizvajati sluz, ki vsebuje veliko bakterijskih sevov z aktivnimi *nif* geni (v angl. *nif* genes – **n**itrogen **f**ixing genes). Naloga te sluzi je vzdrževanje nivoja kisika pod 5 % na globini tal 8 mm, kar predstavlja idealne pogoje za delovanje bakterij z aktivnimi *nif* geni. Po navedbah avtorjev je s pomočjo sluzi avtohtona populacija koruze

Sierra Mixe sposobna kriti od 29 do 82 % lastnih potreb po dušiku (Van Deynze in sod., 2018; Bennett in sod., 2020).

Pri sodobnih hibridih koruze podobne asociacije z naravnimi diazotrofi niso poznane. S pomočjo biotehnologije se danes poskuša pri koruzi doseči biološko fiksacijo dušika bodisi skozi modifikacijo rastline bodisi skozi modifikacijo znanega diazotrofnega organizma. Pri biotehnološki modifikaciji rastline gre za vnos *nif* genov v rastlinski genom, pri modifikaciji diazotrofov pa gre za vnos sekvenc, ki bakterijam pomagajo tvoriti asociacijo s koruznimi koreninami (prirejeno po Seema in sod., 2021).

Slika 3: Uporaba biotehnologije pri razvoju biološke fiksacije koruze na modelni rastlini koruza (prirejeno po Seema in sod., 2021)

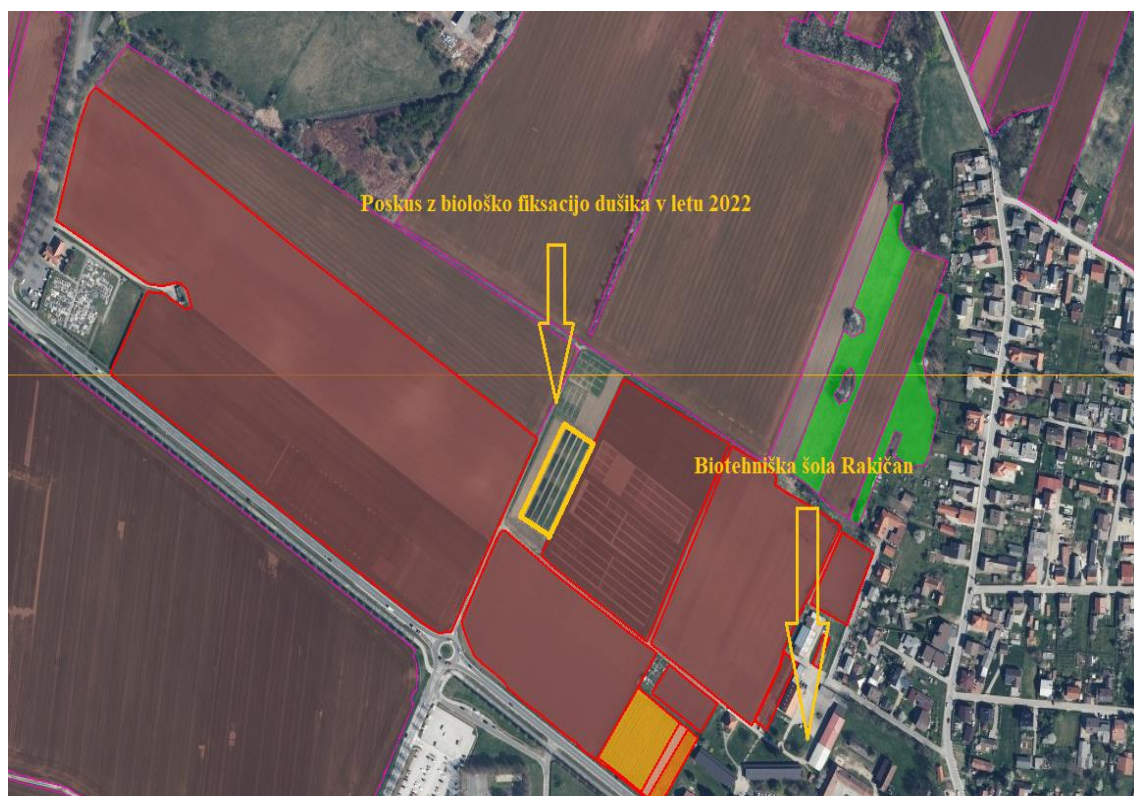


3 MATERIAL IN METODE

3.1 Zasnova poljskega poskusa in zbiranja podatkov

Raziskovalna naloga, ki temelji na preučevanju vpliva biološke fiksacije dušika na preskrbo koruze z dušikom, je bila izvedena v sklopu poljskega poskusa na Biotehniški šoli Rakičan (umestitev poskusa je prikazana na Sliki 4). Tako smo v letu 2022 zasnovali poljski poskus po sistemu naključnega bloka s štirimi ponovitvami (Slika 5). Posamezna parcelica je bila določena kot štiri vrste koruze posejane na medvrstno razdaljo 70 cm, pri čemer je njihova dolžina znašala 10 metrov. Površina osnovne parcelice je tako znašala 28 m². Obravnavana faktorja v poskusu sta bila odmerek dodanega mineralnega dušika in uporaba pripravka Utrisha N. V primeru pripravka Utrisha N gre za mikrobiološki proizvod podjetja Corteva, ki vsebuje endofitsko bakterijo s tipskim sevom *Methylobacterium symbioticum* SB23 (3×10^7 CFU/g) (Corteva, 2023). Bakterija *Methylobacterium symbioticum* omogoča biološko fiksacijo dušika na način, da pride do kolonizacije nadzemnega in podzemnega dela koruze. Pripravek Utrisha N smo aplicirali 16. 6. 2022 v dopoldanskem času, ko je temperatura zraka znašala 20 °C, relativna zračna vlaga 75 %, v odmerku 333 g / ha. Preskrba koruze z mineralnim dušikom je bila opravljena, kot sledi iz sheme poskusa (Slika 4). Mineralni dušik je bil dodan predsetveno s kompleksnim gnojilom NPK 6:12:24 v odmerku 400 kg / ha in po vzniku koruze z uporabo enostavnega dušikovega gnojila KAN (vsebuje 27 % N). KAN je bil dodan na osnovi predhodno opravljene Nmin analize. To pomeni, da so bile za vsako posamezno obravnavanje odtehtane količine, ki so sledile zastavljeni skupni količini dušika. Dognojevanje z gnojilom KAN – 27 % N smo opravili v fenofazi, ko je imela korusa razvitih devet listov. Obravnavani hibrid koruze je bil P9214 proizvajalca Corteva / Pioneer. Ciljni sklop je znašal 80.000 rastlin na hektar.

Slika 4: Umestitev poskusa z biološko fiksacijo dušika v letu 2022



Slika 5: Shema poljskega poskusa z opisom posameznih obravnavanj

1	8	7	14	Obr. 1 – Kontrola
2	9	6	13	Obr. 2 – 30 kg N / ha
3	10	4	12	Obr. 3 – 60 kg N / ha
4	12	5	11	Obr. 4 – 90 kg N / ha
5	11	3	10	Obr. 5 – 120 kg N / ha
6	13	2	9	Obr. 6 – 150 kg N / ha
7	14	1	8	Obr. 7 – 180 kg N / ha
8	1	14	7	Obr. 8 – Kontrola
9	2	13	6	Obr. 9 – 30 kg N / ha + Utrisha N
10	3	12	5	Obr. 11 – 60 kg N / ha + Utrisha N
11	5	10	4	Obr. 11 – 90 kg N / ha + Utrisha N
12	4	11	3	Obr. 12 – 120 kg N / ha + Utrisha N
13	6	9	2	Obr. 13 – 150 kg N / ha + Utrisha N
14	7	8	1	Obr. 14 – 180 kg N / ha + Utrisha N

Med vegetacijo (v času svilanja in metličenja ter v mlečni zrelosti) smo z uporabo klorofilmetra (Hydro N tester) določili intenziteto tvorbe klorofila. Za vsako posamezno meritev (vrednost) je bilo pri tem potrebno na srednjih listih koruzne rastline narediti 30 odčitkov oziroma odtisov velikosti $1,8\text{ cm}^2$. Po končanem svilanju in metličenju koruze je bila določena končna višina rastline. Za določanje višine koruze smo uporabili leseno palico na kateri so bili določeni odseki po pet centimetrov. V času tehnološke zrelosti, ko je prišlo do pojava temne plasti na spodnjem delu koruznega zrna, smo v posameznem obravnavanju zbrali po deset reprezentativnih storžev. Za vsak koruzni storž smo določili njegovo dolžino, število vrst in težo.

Slika 6: Uporaba klorofilmetra za določanje intenzitete tvorbe klorofila v koruzi (Vir: Titan, 2022)



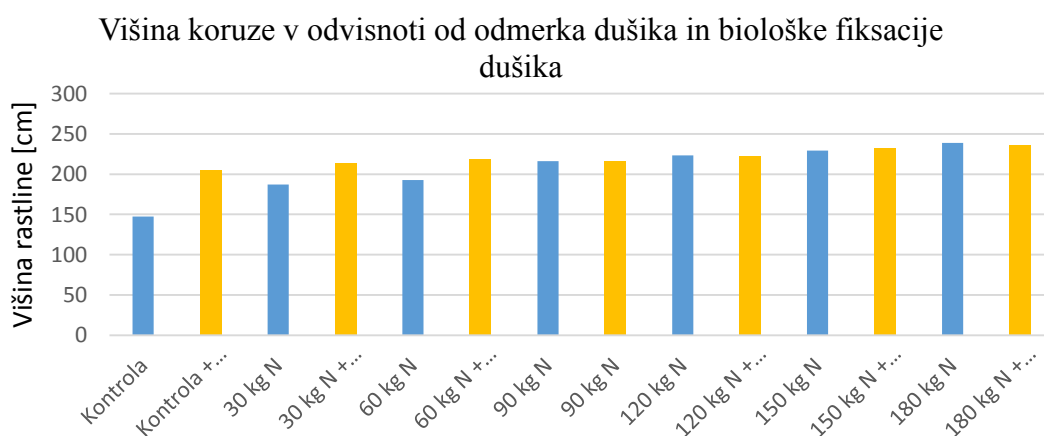
3.2 Statistična obdelava podatkov

Opravljen je bil statistična obdelava podatkov s statističnimi analizami, tabelarnimi in grafičnimi prikazi rezultatov, ki so nastali z uporabo programa Excel. Rezultate povprečne vrednosti tvorbe klorofila, višine rastlin, dolžine storža, števila vrst na storžu in pripadajoče teže smo prikazali kot srednjo vrednost.

4 REZULTATI

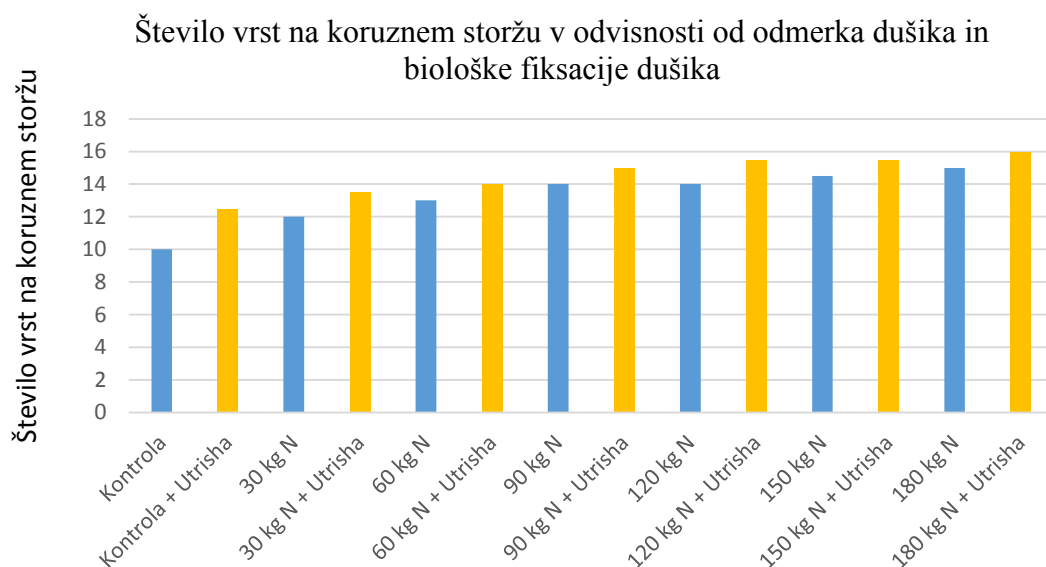
Rezultati raziskovalnega dela so pokazali, da imata različni odmerki dodanega dušika in biološka fiksacija dušika vpliv na morfo-agronomske lastnosti koruze.

Iz Grafa 1 je razvidno, da se višina koruze s povečanjem odmerka dodanega dušika povečuje. Razlika med kontrolnim obravnavanjem (0 kg dodanega dušika) in obravnavanjem, kjer je bilo dodanih 180 kg čistega dušika, znaša 11,25 cm. V primeru, da je bil dodan pripravek Utrisha N, je mogoče zaznati pozitiven vpliv biološke fiksacije dušika na višino rastline. V povprečju se je višina rastlin v obravnavanjih, kjer je šlo za uporabo pripravka Utrisha N, povečala za 28 cm. Pri tem je potrebno poudariti, da se ta razlika z odmerkom skupnega dodanega dušika zmanjšuje.

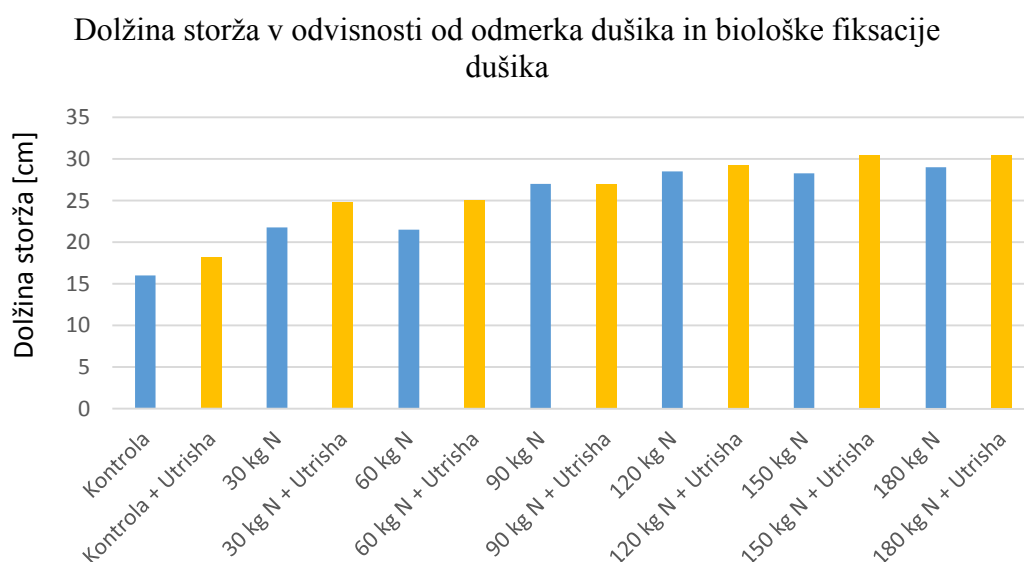


Graf 1: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na višino koruze

Število vrst na koruznem storžu in njegova dolžina sta pomemben pokazatelj potenciala za pridelek zrnja na enoto površine. Iz rezultatov je razviden pozitiven vpliv povečanega odmerka dodanega mineralnega dušika na število vrst in dolžino koruznega storža.



Graf 2: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na število vrst na koruznem storžu

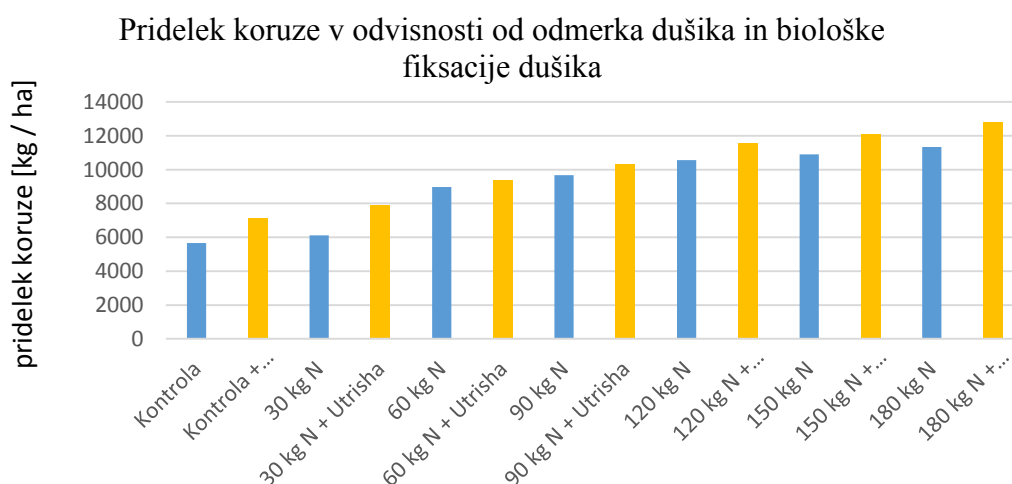


Graf 3: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na dolžino koruznega storža

V primeru parametra število vrst na koruznem storžu znaša razlika med kontrolnim obravnavanjem in največjim odmerkom dodanega mineralnega dušika 50 %. V praksi to pomeni, da je imela večina storžev pri kontroli 10 vrst, pri najvišjem odmerku dušika (180 kg na hektar) pa 16 vrst. Obravnavanja, kjer je bil dodan pripravek Utrisha N, so imela v povprečju dve vrsti na storž več kot primerljiva obravnavanja, kjer naveden pripravek ni bil uporabljen. S povečevanjem skupnega odmerka dodanega dušika se podobno kot pri višini rastine ta razlika zmanjšuje.

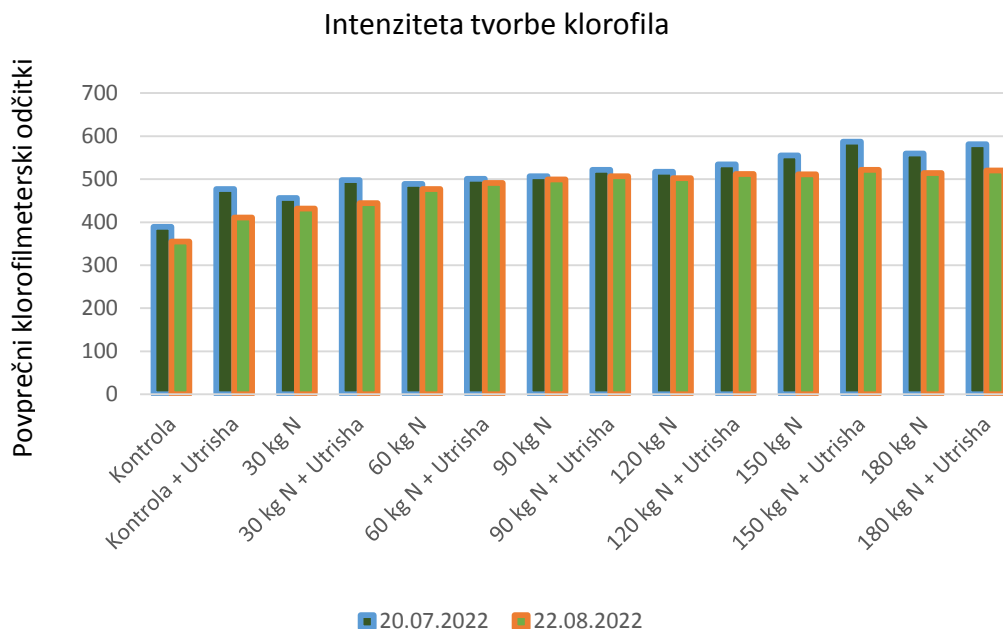
Iz Grafa 3 je razvidno, da se s povečevanjem odmerka dodanega mineralnega dušika tudi dolžina storža povečuje. Razlika med kontrolnim obravnavanjem in največjim odmerkom dodanega mineralnega dušika je znašala 81 %. V primeru uporabe pripravka Utrisha N se je dolžina storža ob upoštevanju obravnavanja z enakim odmerkom dodanega mineralnega dušika v povprečju povečala za 15,1 %. Seveda se ta razlika s povečevanjem odmerka dušika zmanjšuje.

Med količino pridelka in dodanim odmerkom dušika obstaja močna povezava. Z vsakim kilogramom dodanega dušika se je pridelek v povprečju povečal za 31,5 kg. Uporaba pripravka N je izboljšala učinkovitost izrabe dodanega mineralnega dušika. V primeru, da upoštevamo obravnavanja z enako količino dodanega mineralnega dušika, je uporaba pripravka Utrisha N v povprečju povečala pridelek za več kot 8 %.



Graf 4: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na pridelek koruze

Pozitiven vpliv biološke fiksacije dušika je razviden tudi skozi intenziteto tvorbe klorofila, ki smo jo določili z uporabo klorofilmetra. Povprečni klorofilmetrski odčitki so se ob upoštevanju obravnavanj z enako količino dodanega mineralnega dušika povečali za najmanj 2,8 %.



Graf 5: Vpliv odmerka dodanega mineralnega dušika in biološke fiksacije dušika na intenziteto tvorbe klorofila

5 SKLEPI

Z opravljenim raziskovalnim delom smo preverili vpliv biološke fiksacije dušika na morfo-agronomske lastnosti koruze in intenziteto tvorbe klorofila.

Z opravljenim raziskovalnim delom smo potrdili ali ovrgli naslednje delovne hipoteze:

Hipoteza 1: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na rast in razvoj koruze (*Zea mays* L.). – HIPOTEZA JE POTRJENA.

Hipoteza 2: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na pridelek zrnja koruze (*Zea mays* L.). – HIPOTEZA JE POTRJENA.

Hipoteza 3: Uporaba biološke fiksacije dušika vpliva na fotosintezo koruze (*Zea mays* L.). – HIPOTEZA JE POTRJENA.

Hipoteza 4: Z uporabo biološke fiksacije dušika lahko znižamo uporabo mineralnih dušikovih gnojil pri pridelavi koruze (*Zea mays* L.). – HIPOTEZA JE POTRJENA.

Z raziskovalnim delom smo se osredotočili na problematiko, povezano z uporabo mineralnih dušikovih gnojil. Pred nekaj leti je bila ta problematika osredotočena predvsem na okoljski vidik, kot je onesnaževanje površinskih voda, podtalnice, zraka in negativnega vpliva na biotsko raznovrstnost. Zadnja dogajanja v regiji in na globalni ravni pa so izpostavila tudi popolno odvisnost slovenskega kmetijstva od uvoza mineralnih dušikovih gnojil ter dejstvo, da se lahko cenovna politika mineralnih gnojil spremeni dejansko čez noč.

Velika večina slovenskih polj je vsako leto zasejana s koruzo. V preteklosti (pred približno tridesetimi leti) je bil ta delež še večji, vendar je zaradi uvedbe obveznega kolobarja ta delež danes nekoliko nižji. Tudi pojav novih škodljivcev, kot je koruzni hrošč, danes otežuje pridelavo koruze. Ob upoštevanju vsega navedenega uvedba novih inovativnih tehnologij, kot je na primer biološka fiksacija dušika, predstavlja pomemben korak h konkurenčni in trajnostni pridelavi koruze.

Z našim raziskovalnim delom lahko potrdimo smiselnost uvajanja biološke fiksacije dušika v splošno kmetijsko prakso pridelave koruze. Na osnovi obravnavanj iz našega poljskega poskusa lahko potrdimo navedbe tujih avtorjev, da lahko z uporabo diazotrofov zmanjšamo porabo mineralnih dušikovih gnojil vsaj za 10 %, ne da bi pri tem negativno vplivali na višino pridelka koruznega zrnja. V bodoče pa bo potrebno opraviti še več raziskovalnega dela, ker je endofitska simbiotska bakterija s tipskim sevom *Methylobacterium symbioticum* le eden izmed številnih preučevanih diazotrofov

za uporabo v koruzi. Torej je na tem področju možno doseči še zelo veliko in dejansko lahko pričakujemo, da bo uporaba biološke fiksacije dušika sčasoma postala standardni agrotehnični ukrep v pridelavi koruze.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Proizvodnja in uporaba dušikovih mineralnih gnojil predstavlja obremenitev okolja. Izpiranje nitratov in nitritov v površinske vode in podtalnico ima neposreden negativen vpliv na človekovo zdravje. Kljub napredku v kmetijski mehanizaciji, razvoju novih visoko produktivnih hibridov koruze poteka uporaba dušikovih mineralnih gnojil še vedno brez ustrezne strokovne osnove, torej »na pamet«.

Proizvodnja sintetičnih dušikovih gnojil je tudi velik potrošnik energentov, predvsem zemeljskega plina, ki se uporablja za Haber-Boschev proces visokotlačne sinteze amonijaka. Visoka odvisnost proizvodnje dušikovih mineralnih gnojil od energentov potegne za sabo visoko volatilnost na trgu z dušikovimi mineralnimi gnojili. Gibanja cen mineralnih dušikovih gnojil v današnjih razmerah praktično ni več možno spremljati kaj šele napovedati. Introdukcijska biološke fiksacije dušika v pridelavo koruze predstavlja zelo zanimivo področje tako na raziskovalni kakor tudi na komercialni in naravovarstveni ravni.

7 LITERATURA

- Ambrosio, R., Ortiz-Marquez, J.C., Curratti, L. (2017). Metabolic engineering of a diazotrophic bacterium improves ammonium release and biofertilization of plants and microalgae. *Metab. Eng.* 40, 59–68.
- Bavec, F., Bavec, M. (2002). Effects of plant population on leaf area index, cob characteristics and grain yield of early maturing maize cultivars (FAO 100–400). *European Journal of Agronomy*. Faculty of Agriculture, University of Maribor, Slovenia. 151–159.
- Bavec, F. (2003). Maribor. Od njive do meje in kruha, Univerzitetni učbenik, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede.
- Bavec, F., Bavec, M. (2014). Review of analysis for nitrogen supply in maize and winter wheat – case of developing countries i.e. Slovenian experiences. Nova Science Publishers. 141–153.
- BBCH skala razvojnih faz gojenih rastlin, <http://spletni2.furs.gov.si/agromeT/feno/> (2. 2. 2023).
- Bennett, A.B., Pankievicz, V.C.S., and Ane', J.M. (2020). A model for nitrogen fixation in cereal crops. *Trends Plant Sci.* 25:226–235.
- Caballero-Mellado, J., Mart'nez-Aguilar, L., Paredes-Valdez, G., and Santos, P.E.d.L. (2004). *Burkholderia unamae* sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:1165–1172.
- Utrisha N – Corteva, 2023, <https://www.corteva.si/proizvodi-in-resitve/varstvo-rastlin/Utrishan.html> (2. 2. 2023).

- Dong, Y., Glasner, J.D., Blattner, F.R., and Triplett, E.W. (2001). Genomic interspecies microarray hybridization: rapid discovery of three thousand genes in the maize endophyte, *Klebsiella pneumoniae* 342, by microarray hybridization with *Escherichia coli* K-12 open reading frames. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1911–1921.
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research* 19, 29–37.
- FAOSTAT, 2023, <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (2. 2. 2023).
- Glendining, M.J., Dailey, A.G., Williams, A.G., van Evert, F.K., Goulding, K.W.T., Whitmore, A.P. (2009). Is it possible to increase the sustainability of arable and ruminant agriculture by reducing inputs? *Agricultural Systems* 99, 117–125.
- Gutie´rrez-Zamora, M.L., and Martı´nez-Romero, E. (2001). Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). *J. Biotechnol.* 91:117–126.
- Kanter, D.R. (2018). Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. *Climatic Change* 147, 11–21.
- KGZS, Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica, Kmetijska svetovalna sluba, <file:///F:/Raziskovalna%20naloga/Literatura/tehnologija%20pridelave%20koruze-2017.pdf> (2. 2. 2023).
- Masson-Boivin, C., Giraud, E., Perret, X., Batut, J. (2009). Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes?. *Trends in Microbiology* 17, 10: 458–466
- Perin, L., Martı´nez-Aguilar, L., Castro-Gonza´lez, R., Estrada-de Los Santos, P., Cabellos-Avelar, T., Guedes, H.V., Reis, V.M., and Caballero-Mellado, J. (2006).

Diazotrophic burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:3103–3110.

- Raymond, J., Siefert, J.L., Staples, C. R., Blankenship, R.E. (2004). The Natural History of Nitrogen Fixation. *Molecular Biology and Evolution* 21, 3: 541-554
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K. (2009). A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475.
- Seema, S., Sandeep, K., Pradeep, K., Ram-Swaroop, M., Sujay, R. (2021). Nitrogen fixation in maize: breeding opportunities. *Theoretical and Applied Genetics* (2021) 134:1263–1280
- Statistični urad Republike Slovenije, 2023, <https://www.stat.si/StatWeb/Field/Index/11> (2. 2. 2023).
- Sutton, M.A., Bleeker, A., Howard, C.M. (2013). Our nutrient world: the challenge to produce more food and energy with less pollution. Edinburgh, UK: Centre for Ecology and Hydrology (CEH), on behalf of the Global Partnership on Nutrient Management (GPNM) and the International Nitrogen Initiative (INI).
- Van Deynze, A., Zamora, P., Delaux, P.M., Heitmann, C., Jayaraman, D., Rajasekar, S., Graham, D., Maeda, J., Gibson, D., Schwartz, K.D., et al. (2018). Nitrogen fixation in a landrace of maize is supported by a mucilage-associated diazotrophic microbiota. *PLoS Biol.* 16:e2006352