

REDUKCJA AZOTANÓW W LIŚCIACH MARCHWI W ZALEŻNOŚCI  
OD DOKARMIANIA DOLISTNEGO  
I RÓŻNYCH FORM AZOTU NAWOZOWEGO

*Renata Wojciechowska<sup>1</sup>, Sylwester Smoleń<sup>2</sup>, Włodzimierz Sady<sup>2</sup>, Anna Kołton<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza

<sup>2</sup>Katedra Uprawy i Nawożenia Roślin Ogrodniczych, Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza

Al. 29 Listopada 54, 31-245 Kraków

e-mail: rwojciechowska@brattek.ogr.ar.krakow.pl

**Streszczenie.** Celem pracy było zbadanie wpływu dokarmiania dolistnego mocznikiem i nawozem wieloskładnikowym Supervit-R oraz różnych rodzajów nawozów azotowych ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) wprowadzonych doglebowo na metabolizm azotanów w liściach marchwi oraz porównanie badanych procesów z równoległe przebiegającymi w korzeniach. Obiektem badań była marchew 'Kazan F<sub>1</sub>', którą uprawiano w latach 2004-2005 w pojemnikach ażurowych na terenie otwartym. Połączenie nawożenia doglebowego zredukowanymi formami azotu z dokarmianiem pozakorzeniowym stymulowało aktywność NR w liściach w porównaniu z roślinami niedokarmianymi. Wykazano wzrost aktywności NiR i zawartości  $\text{NO}_3^-$  oraz spadek poziomu  $\text{NH}_4^+$  w liściach marchwi od sierpnia (tuż przed ostatnim zabiegiem dokarmiania dolistnego) do września (termin zbioru) niezależnie od rodzaju nawozu azotowego. Dokarmianie dolistne wpłynęło na istotne zwiększenie zawartości  $\text{NO}_3^-$  w liściach marchwi, natomiast nie miało wpływu na zawartość barwników asymilacyjnych. Żywienie azotowe roślin modyfikowało udział liści i korzeni spichrzowych marchwi w redukcji azotanów i azotynów.

**Słowa kluczowe:** reduktaza azotanowa, reduktaza azotynowa, jony azotanowe, jony amonowe, barwniki asymilacyjne

## WSTĘP

O wartości biologicznej warzyw decyduje nie tylko wysoki poziom witamin, cukrowców, czy związków o działaniu antyoksydacyjnym, ale także niska zawartość związków chemicznych powodujących zagrożenie dla zdrowia konsumenta, do których zalicza się azotany i azotyny. Od wielu lat poszukuje się metod skutecznie obniżających nadmierny poziom  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NO}_2^-$  w częściach użytkowych

warzyw [10]. Z ich ilością w tkankach roślinnych ściśle wiąże się aktywność dwóch enzymów: reduktazy azotanowej redukującej azotany do azotynów i reduktazy azotynowej uczestniczącej w redukcji azotynów do formy amonowej azotu. Stwierdzono, że oba enzymy indukowane są obecnością jonów  $\text{NO}_3^-$  w środowisku, a do uzyskania maksymalnej ich aktywności oprócz azotanów niezbędne jest światło [7].

Jak wykazali Smoleń i in. [12] na zawartość azotanów oraz ich redukcję w korzeniach marchwi może w znacznym stopniu wpływać forma azotu zastosowana w nawożeniu doglebowym, a także dokarmianie dolistne wykonane przy użyciu mocznika i nawozu Supervit-R. Istotnym uzupełnieniem tych badań jest (reprezentowane w tej pracy) równoległe określenie, w jakim stopniu zróżnicowane nawożenie azotem modyfikuje zawartość azotanów i aktywność enzymów odpowiedzialnych za redukcję  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NO}_2^-$  w liściach marchwi. Poziom azotanów i redukcja tych związków zależy bowiem w dużym stopniu od organu rośliny. We wcześniejszych badaniach wykazano, że poziom  $\text{NO}_3^-$  w liściach i korzeniach spichrzowych marchwi jest różny i ulega zmianom w zależności między innymi od stanu fizjologicznej dojrzałości roślin [9]. Podobnie aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej jest różna w różnych organach roślin i zmienia się wraz z wiekiem badanego organu oraz pod wpływem różnych czynników zewnętrznych. Druart i in. [4] stwierdzili na przykład, że we wczesnym stadium wzrostu roślin cykorii redukcja azotanów odbywała się głównie w korzeniach, natomiast w późniejszej fazie formowania się główek liściowych – przede wszystkim w liściach.

Wyniki wielu badań wskazują, że aktywność reduktazy azotanowej występuje nie tylko w obecności jonów azotanowych, ale mogą ją także istotnie stymulować obecne w środowisku jony amonowe [6,11,14].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dokarmiania dolistnego mocznikiem i nawozem wieloskładnikowym Supervit-R oraz różnych form azotu nawozowego na metabolizm azotanów w liściach marchwi oraz porównanie badanych procesów z równoległe przebiegającymi w korzeniach [12].

#### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2004-2005. Obiektem badań była marchew 'Kazan F<sub>1</sub>', którą uprawiano w pojemnikach ażurowych, umieszczonych na terenie otwartym pod cieniówką. Badania obejmowały dwa podbloki: bez dokarmiania dolistnego (N) i z dokarmianiem dolistnym (D), które wykonywano trzykrotnie z użyciem odpowiednich roztworów w następującej kolejności: 2%-owy mocznik, 1%-owy nawóz wieloskładnikowy Supervit-R i 2%-owy mocznik. W każdym podbloku wyodrębniono pięć kombinacji nawożenia doglebowego azotem: naturalna zawartość azotu w glebie – kontrola (I),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (II),  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (III),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

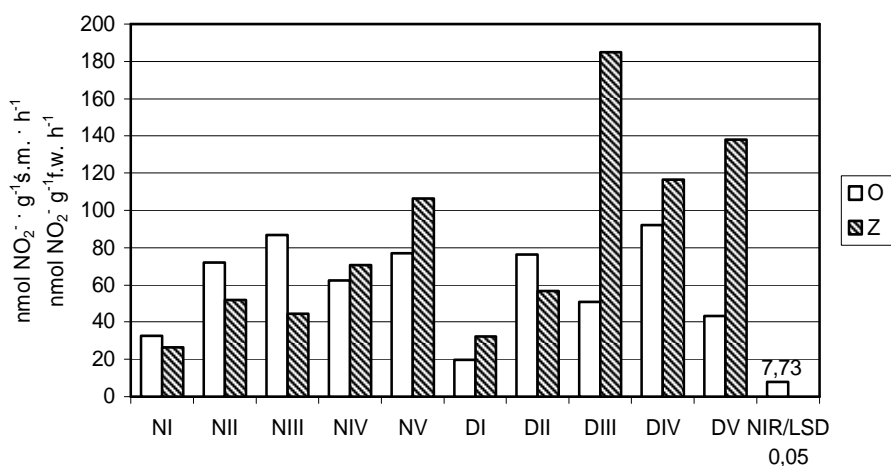
(IV) i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (V). Szczegółowy opis uprawy z terminami siewu, charakterystyką fizykochemicznych właściwości gleby, terminami i poziomami nawożenia doglebowego oraz terminami dokarmiania dolistnego przedstawiono w części Materiał i metody pracy Smolenia i in. [12].

Analizy zawartości azotanów, formy amonowej azotu oraz aktywność reduktazy azotanowej (skrót: NR) i azotynowej (skrót: NiR) w liściach marchwi przeprowadzono w dwóch terminach: tuż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym (O), tj. 24 sierpnia 2004 i 23 sierpnia 2005 oraz w terminie zbioru plonu (Z), odpowiednio 14 i 27 września.

Oznaczenia aktywności reduktazy azotanowej i azotynowej wykonano metodą *in vitro* opracowaną przez Buczka [2] z niewielkimi modyfikacjami, które dotyczyły wielkości naważki materiału roślinnego oraz w przypadku reduktazy azotynowej – rozcieńczeń mieszaniny inkubacyjnej. Zawartość  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$  w materiale roślinnym oznaczono wykorzystując elektrody jonoselektywne firmy ORION współpracujące z jonometrem typu UNICAM-9460 (próby ekstrahowano 0,02M  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ). Do oznaczenia zawartości barwników asymilacyjnych wykorzystano metodę Arnona [1].

## WYNIKI

Na rysunku 1 przedstawiono uśrednione wyniki 2-letnich badań nad aktywnością reduktazy azotanowej w liściach marchwi. Najniższą aktywność tego enzymu – w każdej kombinacji doświadczenia – stwierdzono w roślinach kontrolnych, rosnących na stanowisku z naturalną zawartością azotu. Interesujące jest, że nie wykazano modyfikującego wpływu dokarmiania dolistnego na aktywność NR w liściach marchwi nawożonej saletrą wapniową (NII i DII). Natomiast w liściach roślin nawożonych  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  i dodatkowo dokarmianych dolistnie (DIII) wykazano w terminie zbioru około 3,7-krotny wzrost aktywności reduktazy azotanowej w porównaniu ze stanem tuż przed ostatnią aplikacją dolistną. Była to najwyższa aktywność NR ( $184,9 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \text{ s. m. h}^{-1}$ ) uzyskana w badaniach. Tymczasem w podbloku niedokarmianym dolistnie stwierdzono w tym przypadku spadek aktywności tego enzymu (NIII). Podobnie połączenie nawożenia doglebowego zredukowaną formą azotu (siarczanem amonu albo mocznikiem) z dokarmianiem pozakorzeniowym (DIV, DV) istotnie stymulowało aktywność reduktazy azotanowej w porównaniu z roślinami niedokarmianymi (NIV, NV). W obu tych przypadkach dokarmianie dolistne spowodowało istotny wzrost aktywności NR od ostatniego zabiegu do zbioru roślin, przy czym był on większy w liściach marchwi nawożonej mocznikiem.



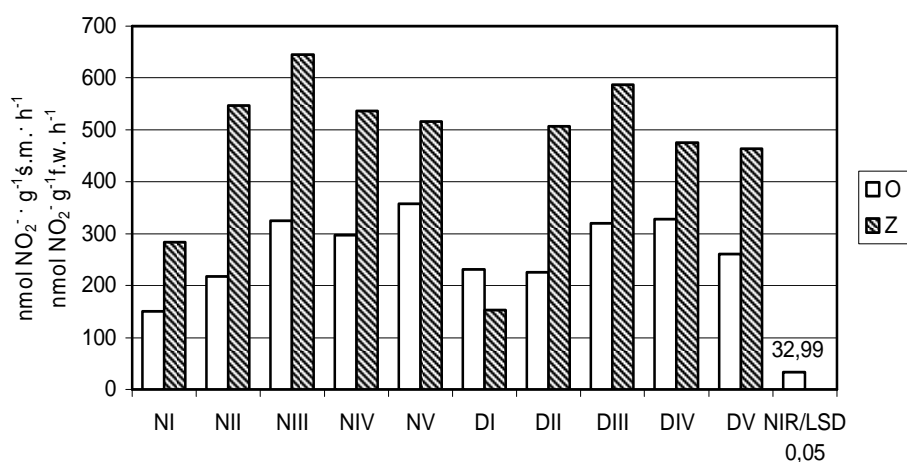
**Rys. 1.** Aktywność reduktazy azotanowej w liściach marchwi w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań), N – bez dokarmiania dolistnego, D – dokarmianie dolistne, I – kontrola, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , O – termin tuż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym, Z – termin zbioru

**Fig. 1.** Nitrate reductase activity in carrot leaves as related to different nitrogen nutrition (means of two-year study), N – without foliar nutrition, D – with foliar nutrition, I – control, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , O – immediately before the last foliar nutrition, Z – harvest time

Średnie 2-letnich wyników oznaczeń aktywności reduktazy azotynowej wskazują na bardziej jednoznaczne zależności (rys. 2). Otóż aktywność tego enzymu w liściach marchwi istotnie wzrosła od sierpniowego terminu analiz do zbioru roślin. Prawidłowość ta dotyczyła wszystkich obiektów doświadczenia z wyjątkiem stanowiska kontrolnego w podbloku z dokarmianiem dolistnym (DI). Najwyższą aktywność reduktazy azotynowej stwierdzono w dniu zbioru w liściach marchwi nawożonej saletrą amonową, ale niedokarmianej dolistnie (NIII). Interesujący jest dość jednoznaczny wpływ różnych form azotu użytych w nawożeniu doglebowym marchwi na aktywność NiR w liściach tuż po zbiorze plonu, który ujawnił się niezależnie od dokarmiania pozakorzeniowego. Aktywność tego enzymu najbardziej stymulowało nawożenie  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , a następnie  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Dokarmianie dolistne wpłynęło natomiast na obniżenie aktywności NiR w terminie zbioru plonu: niewielkie, choć istotne – w przypadku każdego obiektu nawożonego doglebowo azotem i znaczne – w liściach roślin kontrolnych.

Badania zawartości azotanów (rys. 3) wykazały, że w ciągu wegetacji roślin od sierpnia do września poziom tych związków istotnie się zwiększał w liściach marchwi niezależnie od nawożenia azotem. Jedynie w przypadku zastosowania  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  w podbloku niedokarmianym dolistnie (NII), poziom azotanów był w sierpniu bardzo wysoki (wielokrotnie wyższy niż w pozostałych przypadkach

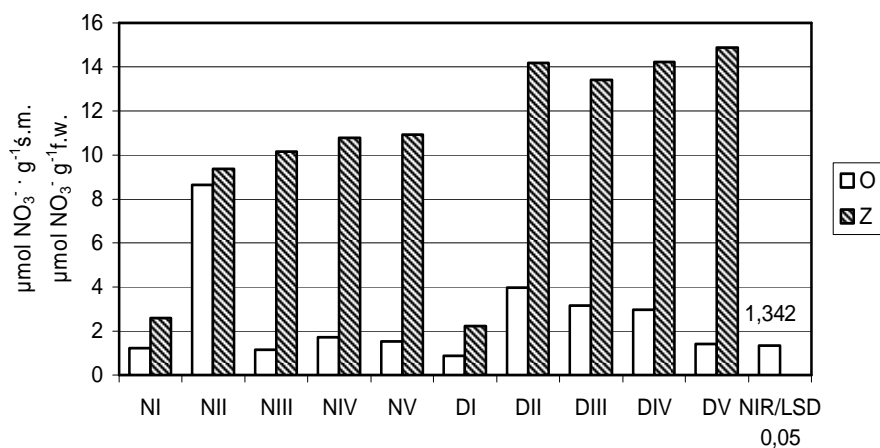
w tym terminie) i nie różnił się istotnie od wykazanego w czasie zbioru. Najmniej azotanów wykazano w roślinach kontrolnych niezależnie od dokarmiania pozakorzeniowego. Uśrednione wyniki dwuletniego doświadczenia wskazują, iż dokarmianie dolistne wpłynęło jednoznacznie na istotne zwiększenie zawartości azotanów w liściach marchwi niezależnie od formy azotu użytej w nawożeniu doglebowym. Największe różnice w porównaniu z roślinami niedokarmianymi wykazano w tym zakresie po zastosowaniu w nawożeniu  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ .



**Rys. 2.** Aktywność reduktazy azotynowej w liściach marchwi w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań), N – bez dokarmiania dolistnego, D – dokarmianie dolistne, I – kontrola, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , O – termin tuż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym, Z – termin zbioru

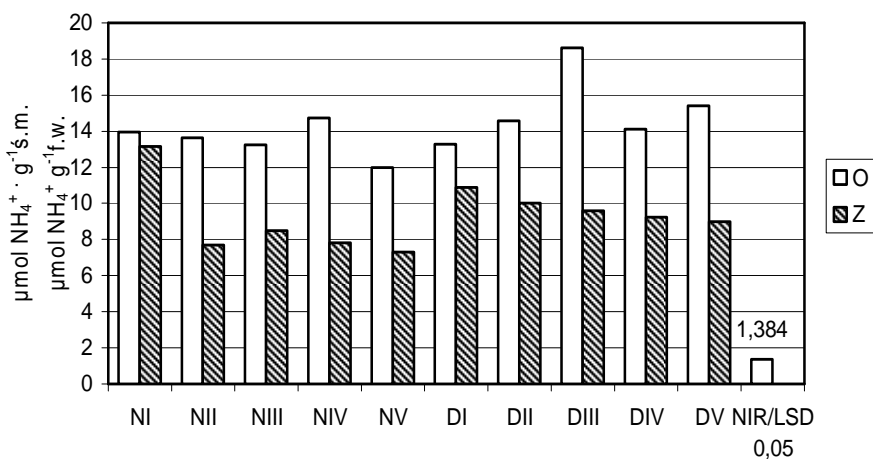
**Fig. 2.** Nitrite reductase activity in carrot leaves as related to different nitrogen nutrition (means of two-year study), N – without foliar nutrition, D – with foliar nutrition, I – control, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , O – immediately before the last foliar nutrition, Z – harvest time

Jeszcze inne zależności wykazano po oznaczeniach formy amonowej w badanych liściach marchwi (rys. 4). Podczas zbioru (Z) zawartość jonów amonowych w liściach marchwi była istotnie mniejsza niż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym (O), z wyjątkiem roślin kontrolnych w podbloku nie dokarmianym (NI). Największe różnice obserwowano w liściach roślin nawożonych  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  i dodatkowo dokarmianych dolistnie (DIII). Liście tych roślin w sierpniu zawierały najwięcej jonów  $\text{NH}_4^+$ . Zabieg dokarmiania pozakorzeniowego powodował wzrost (najczęściej istotny) poziomu jonów amonowych w liściach roślin nawożonych doglebowo poszczególnymi nawozami azotowymi, który obserwowano w obu terminach badań.



**Rys. 3.** Zawartość jonów azotanowych w liściach marchwi w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań), N – bez dokarmiania dolistnego, D – dokarmianie dolistne, I – kontrola, II – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, III – NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, IV – (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, V – CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, O – termin tuż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym, Z – termin zbioru

**Fig. 3.** Nitrate ion content in carrot leaves as related to different nitrogen nutrition (means of two-year study), N – without foliar nutrition, D – with foliar nutrition, I – control, II – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, III – NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, IV – (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, V – CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, O – immediately before the last foliar nutrition, Z – harvest time



**Rys. 4.** Zawartość jonów amonowych w liściach marchwi w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań), N – bez dokarmiania dolistnego, D – dokarmianie dolistne, I – kontrola, II – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, III – NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, IV – (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, V – CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, O – termin tuż przed ostatnim dokarmianiem dolistnym, Z – termin zbioru

**Fig. 4.** Ammonium ion content in carrot leaves as related to different nitrogen nutrition (means of two-year study), N – without foliar nutrition, D – with foliar nutrition, I – control, II – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, III – NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, IV – (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, V – CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, O – immediately before the last foliar nutrition, Z – harvest time

W tabeli 1 przedstawiono średnią zawartość barwników asymilacyjnych w liściach marchwi w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem. Wykazano istotny wpływ nawożenia doglebowego azotem na ten parametr, podczas gdy wpływ dokarmiania dolistnego okazał się nieistotny.

**Tabela 1.** Zawartość barwników fotosyntetycznych w liściach marchwi tuż po zbiorze w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań)

**Table 1.** Photosynthetic pigment content in leaves as related to differentiated nitrogen nutrition (means of two-year study)

Dokarmianie dolistne Foliar nutrition	Nawożenie Fertilization	Chlorofil a	Chlorofil b	Chlorofil a+b	Karotenoidy
		mg·g <sup>-1</sup> ś.m. – mg·g <sup>-1</sup> f.w.			
Bez dokarmiania dolistnego Without foliar nutrition	Kontrola – Control	0,76	0,31	1,06	0,44
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,21	0,47	1,67	0,64
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,00	0,43	1,43	0,56
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,02	0,43	1,46	0,57
	CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	1,08	0,47	1,55	0,63
Z dokarmianiem dolistnym With foliar nutrition	Kontrola – Control	0,70	0,29	0,99	0,43
	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,81	0,35	1,16	0,50
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,22	0,52	1,74	0,67
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,05	0,44	1,49	0,59
	CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	1,07	0,43	1,50	0,58
NIR (dokarmianie×nawożenie)					
LSD (nutrition×fertilization)		0,212	0,088	0,291	0,098
Średnie dla nawożenia Mean for fertilization		Chlorofil a	Chlorofil b	Chlorofil a+b	Karotenoidy
Kontrola – Control		0,73	0,30	1,03	0,44
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>		1,01	0,41	1,42	0,57
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>		1,11	0,47	1,59	0,61
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		1,04	0,44	1,48	0,58
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>		1,08	0,45	1,53	0,60
NIR (nawożenie) – LSD (fertilization)		0,150	0,062	0,206	0,069
Średnie dla dokarmiania dolistnego Mean for foliar nutrition		Chlorofil a	Chlorofil b	Chlorofil a+b	Karotenoidy
Bez dokarmiania dolistnego Without foliar nutrition		1,01	0,42	1,44	0,57
Z dokarmianiem dolistnym With foliar nutrition		0,97	0,41	1,38	0,56
NIR (dokarmianie)		n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
LSD (foliar nutrition)		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

n.i. – różnice nieistotne dla  $\alpha = 0,05$ ; n.s. – non-significant difference at  $\alpha = 0.05$ .

Najmniejsze zawartości wszystkich barwników obserwowano zawsze w liściach roślin kontrolnych, które rosły na stanowisku z naturalną zawartością azotu w glebie. Analizując współdziałanie obu czynników doświadczenia można stwierdzić, że w podbloku z dokarmianiem dolistnym w liściach marchwi nawożonej saletrą wapniową wykazano istotnie mniej barwników chlorofilowych niż w przypadku stosowania pozostałych nawozów azotowych.

#### DYSKUSJA

Najniższa aktywność reduktazy azotanowej i azotynowej w liściach roślin kontrolnych była związana z niedostatecznym zaopatrzeniem marchwi w azot, na co nie miało wpływu nawet uzupełniające dokarmianie pozakorzeniowe. Fakt ten stwierdzono równolegle w korzeniach spichrzowych badanych roślin [12]. Istotnie mniejsza zawartość barwników asymilacyjnych w porównaniu z liśćmi roślin nawożonych azotem była potwierdzeniem niedoboru azotu w tym obiekcie.

Stymulujący wpływ połączenia nawożenia doglebowego  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  z dokarmianiem dolistnym na aktywność reduktazy azotanowej może wiązać się ze stosunkiem zawartości jonów amonowych do azotanowych w badanych częściach roślin. Interesującą zależność w proporcjach  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  obserwowano w terminie zbioru (tab. 2). Dokarmianie dolistne nie miało wpływu na zmianę omawianych proporcji tylko w liściach roślin kontrolnych, w których wykazano 5-krotnie więcej jonów amonowych niż azotanowych.

**Tabela 2.** Wpływ zróżnicowanego nawożenia azotem na wzajemny stosunek  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$  w liściach marchwi (średnie z dwóch lat badań) w terminie zbioru

**Table 2.** Effect of different nitrogen fertilization on the ratio of  $\text{NO}_3^-$  to  $\text{NH}_4^+$  ions in carrot leaves (means of two-year study), harvest time

Dokarmianie – Foliar nutrition	Nawożenie – Fertilization	$\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$
Bez dokarmiania dolistnego Without foliar nutrition	Kontrola/Control	1 : 0,2
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1 : 1,2
	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1 : 1,2
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1 : 1,4
	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	1 : 1,5
Z dokarmianiem dolistnym With foliar nutrition	Kontrola/Control	1 : 0,2
	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1 : 1,4
	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1 : 1,4
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1 : 1,5
	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	1 : 1,6



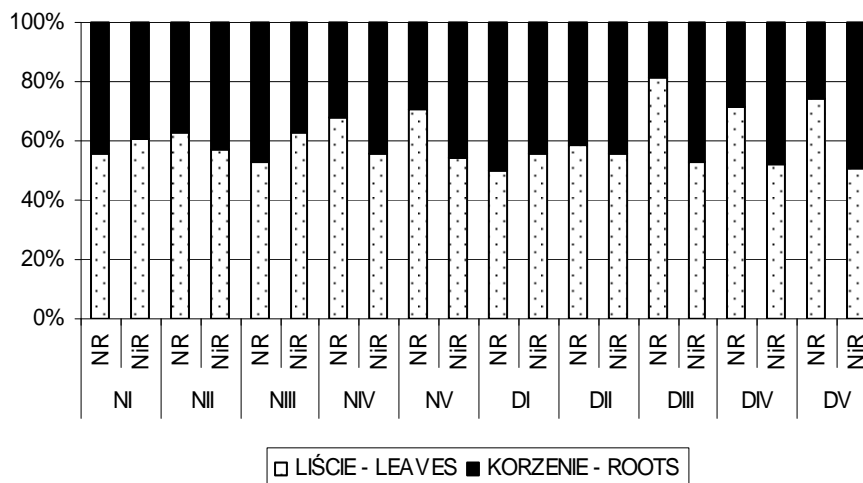
W pozostałych przypadkach wraz ze wzrostem udziału zredukowanych form azotu w żywieniu marchwi (doglebowym i poza korzeniowym), stosunek jonów amonowych do azotanowych w liściach wyraźnie się zwiększał na korzyść tych ostatnich. Ten właśnie fakt mógł być bezpośrednią przyczyną zwiększenia aktywności reduktazy azotanowej w liściach, które wykazano w kombinacjach z zastosowaniem zredukowanych form azotu. Również we wcześniejszych badaniach obserwowano, że proporcje obu jonów mogą istotnie modyfikować aktywność reduktazową w liściach sałaty [15], czy różach brokuła [13].

Dynamika zmian aktywności reduktazy azotanowej w liściach marchwi wykazana między ostatnim dokarmianiem dolistnym a zbiorem różniła się od stwierdzonej wcześniej w badaniach dotyczących sałaty gruntowej [15]. Ostatnią aplikację mocznikiem wykonano wtedy na 6 dni przed zbiorem sałaty i obserwowano istotny spadek zarówno aktywności reduktazy azotanowej, jak i azotynowej. Szczególnie jednoznaczne w niniejszym doświadczeniu zwiększenie aktywności NR obserwowane pod wpływem nawożenia  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  wskazuje na synergistyczny wpływ obu jonów mających wpływ na aktywność tego enzymu w badanych liściach marchwi.

Wykazany istotny wzrost zawartości azotanów w liściach marchwi przy równoczesnym obniżeniu się poziomu jonów amonowych w okresie od sierpnia do terminu zbioru plonów (współczynnik korelacji pomiędzy zawartością obu jonów w czasie zbioru wyniósł  $-0,781$  przy  $p = 0,05$ ), oraz duża zawartość barwników asymilacyjnych wskazują na fakt, iż liście roślin żywionych azotem nie rozpoczęły jeszcze procesu starzenia się, który charakteryzują dokładnie odwrotne zależności [9]. Dodatkowo o braku metabolicznych objawów starzenia się liści świadczyły aktywnie funkcjonujące enzymy: reduktaza azotanowa i azotynowa, szczególnie w kombinacji z dodatkowym dokarmianiem pozakorzeniowym roślin. Sukcesywne obniżanie się aktywności NR obserwowano bowiem często w starzejących się liściach [3,8].

W celu porównania metabolizmu azotanów w liściach i korzeniach spichrzowych marchwi [12] w zależności od żywienia azotem przedstawiono udział tych organów w redukcji  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NO}_2^-$  (rys. 5). Za 100% przyjęto sumaryczną aktywność NR lub NiR w korzeniach spichrzowych i częściach nadziemnych marchwi. Generalnie średnia aktywność reduktazy azotanowej była większa w liściach (69%) niż w korzeniach (31%). Udział liści w redukcji azotanów w stosunku do korzeni wyraźnie się zwiększał pod wpływem stosowania zredukowanych form azotu nawozowego, szczególnie w połączeniu z dokarmianiem dolistnym – nawet do 81% (DIII), podczas gdy w roślinach kontrolnych udział obu organów w tym procesie był mniej więcej wyrównany. Badania nad mutantami jęczmienia pozabawionymi NR wykazały, że akumulacja azotanów w komórkach korzenia wpływa hamująco na pobieranie  $\text{NO}_3^-$ , jednak według Imsande i Touraine [5]

zależność ta nie funkcjonuje na poziomie całej rośliny ze względu na występowanie innych mechanizmów regulujących zapotrzebowanie na azot także w częściach nadziemnych. Wyniki badań przedstawione w tej pracy i poprzedniej [12] potwierdzają tę tezę.



**Rys. 5.** Udział liści i korzeni spichrzowych marchwi w redukcji azotanów (NR) i azotynów (NiR) w zależności od zróżnicowanego żywienia azotem (średnie z dwóch lat badań), N – bez dokarmiania dolistnego, D – dokarmianie dolistne, I – kontrola, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , termin zbioru

**Fig. 5.** Participation of carrot leaves and roots in nitrate (NR) and nitrite (NiR) reduction in relation of different nitrogen nutrition (means of two-year study), N – without foliar nutrition, D – with foliar nutrition, I – control, II –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , III –  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , IV –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , V –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , harvest time

## WNIOSKI

1. Wykazano stymulujący wpływ zredukowanych form azotu stosowanych w nawożeniu doglebowym i dolistnym na aktywność reduktazy azotanowej w liściach marchwi.

2. W okresie od sierpniowego zabiegu dokarmiania dolistnego mocznikiem do wrześniowego terminu zbioru w liściach roślin nawożonych azotem stwierdzono wzrost zawartości  $\text{NO}_3^-$  i aktywności reduktazy azotanowej przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości  $\text{NH}_4^+$ .

3. Liście roślin kontrolnych starzały się szybciej w porównaniu z nawożonymi azotem, o czym świadczyła mniejsza zawartość barwników asymilacyjnych oraz niższa aktywność metaboliczna.

4. Wraz ze wzrostem udziału zredukowanych form azotu w żywieniu marchwi (doglebowym i pozakorzeniowym), proporcja jonów  $\text{NH}_4^+$  do  $\text{NO}_3^-$  w liściach zwiększała się na korzyść azotanów.

5. Średnia aktywność reduktazy azotanowej była większa w liściach (69%) niż w korzeniach (31%). Dokarmianie dolistne w połączeniu z doglebowym nawożeniem  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  zwiększyło udział redukcji azotanów w liściach do 81%.

#### PIŚMIENNICTWO

1. **Arnon D.J.:** Cooper enzymes isolated chloroplasts oxidase in *Beta vulgaris*. Plant. Physiol., 24, 1-15, 1949.
2. **Buczek J.:** The occurrence of nitrate reductase inactivating factor in extracts of *Spirodela polyrrhiza*. Acta Soc. Bot. Pol., 53, 411-417, 1984.
3. **Davies H. V., Ross H. A., Oparka K. J.:** Nitrate reduction in *Solanum Tuberosum* L.: Development of nitrate reductase activity in field – grown plants. Ann. Bot., 59, 301-309, 1987.
4. **Druart N., Goupil P., Boutin J.P., Rambour S.:** Nitrate assimilation in chicory roots (*Cichorium intybus* L.) which acquire radial growth. J. Exp. Bot., 51(344), 539-546, 2000.
5. **Ismande J., Touraine B.:** N demand and the regulation of nitrate uptake. Plant Physiol., 105, 3-7, 1994.
6. **Langelaan J.G., Troelstra S.R.:** Growth, chemical composition, and nitrate reductase activity of *Rumex* species in relation to form and level of N supply. Plant and Soil, 145, 215-229, 1992.
7. **Lillo C., Meyer C., Lea U.S., Provan F., Oltedal S.:** Mechanism and importance of post-translational regulation of nitrate reductase. Journal of Experimental Botany, Vol. 55, 1275-1282, 2004.
8. **Rożek S., Sady W., Myczkowski J.:** The effect of nitrate and urea forms of nitrogen on the metabolism of tomato plants grown by the nutrient film technique. Folia Hort., 2(2), 13-27, 1990.
9. **Rożek S., Wojciechowska R., Sady W.:** Wpływ stanu fizjologicznego liści na zawartość azotanów w korzeniach marchwi. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Sesja Naukowa, 71, 163-166, 2000.
10. **Rożek S.:** Czynniki wpływające na akumulację azotanów w plonie warzyw. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Sesja Naukowa, 71, 19-31, 2000.
11. **Sady W., Rożek S., Myczkowski J.:** Effect of different forms of nitrogen on the quality of lettuce yield. Acta Hort., 401, 409-416, 1995.
12. **Smoleń S., Wojciechowska R., Sady W., Szura A.:** Wpływ formy azotu nawozowego i dokarmiania dolistnego na plon i gospodarkę azotową korzeni spichrzowych marchwi (*Daucus carota* L.). Acta Agrophysica, 7(3), 721-732, 2006.
13. **Wojciechowska R., Rożek S.:** Nitrate reduction in broccoli heads in autumn growing as related to different nitrogen nutrition. Horticulture and Vegetable Growing, 24(3), 282-290, 2005.
14. **Wojciechowska R.:** The nitrate and nitrite reductase activity in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) as related to nitrate content modified by different nitrogen fertilization. Veg. Crops Res. Bull., 56, 31-38, 2002.
15. **Wojciechowska R.:** Wybrane aspekty metabolizmu azotanów w warzywach ze szczególnym uwzględnieniem sałaty masłowej 'Sprinter F<sub>1</sub>'. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Ser. Rozprawy, 297, 2004.

NITRATE REDUCTION IN CARROT LEAVES IN RELATION TO FOLIAR NUTRITION AND DIFFERENT FORMS OF NITROGEN FERTILIZER

*Renata Wojciechowska<sup>1</sup>, Sylwester Smoleń<sup>2</sup>, Włodzimierz Sady<sup>2</sup>, Anna Kołton<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Plant Physiology, Faculty of Horticulture, Agricultural University

<sup>2</sup>Department of Soil Cultivation and Fertilization of Horticulture Plants, Faculty of Horticulture, Agricultural University

Al. 29 Listopada 54, 31-245 Krakow

e-mail: rwojciechowska@bratek.ogr.ar.krakow.pl

**Abstract.** The aim of the research was to study the influence of foliar nutrition with urea and Supervit-R and different forms of nitrogen fertilizer ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) introduced to the soil on nitrate metabolism in carrot leaves in comparison with this process in the roots. The object of the experiment was carrot 'Kazan F<sub>1</sub>' which grew during 2004-2005 in containers placed in the open. Soil fertilization with reduced forms of nitrogen and foliar nutrition caused increase of NR activity in leaves in comparison with plants without foliar nutrition. Increase of NiR activity and  $\text{NO}_3^-$  content and decrease of  $\text{NH}_4^+$  content in carrot leaves from August (immediately before last foliar nutrition) to September (harvest time) was observed irrespectively of forms of nitrogen fertilizer. Foliar nutrition caused significant increase of  $\text{NO}_3^-$  content in carrot leaves and did not affect the photosynthetic pigment content. Nitrogen nutrition modified the participation of carrot leaves and roots in nitrate and nitrite reduction.

**Key words:** nitrate reductase, nitrite reductase, nitrate ions, ammonium ions, photosynthetic pigments