

HALINA MIODUSZEWSKA

Zakład Genetyki i Fizjologii Roślin

Instytut Biologii

Akademia Podlaska w Siedlcach

Wpływ nawożenia azotem na aktywność peroksydazy i katalazy w bulwach ziemniaka odmiany Uran

The effect of nitrogen fertilization on peroxidase and catalase activity in tubers of the potato cv. Uran

Badania polowe mające na celu zbadanie wpływu nadmiernego nawożenia azotem na aktywność peroksydazy i katalazy w bulwach ziemniaka były prowadzone w trzech sezonach wegetacyjnych. Aktywność enzymów oznaczano w bulwach ziemniaka odmiany Uran pobranych z poletek w okresie od połowy lipca (kwitnienie i początek tuberyzacji) do końca września (zbiór). Najwyższą aktywność peroksydazy i najniższą katalazy, zarówno w bulwach pochodzących z poletka nawożonego azotem jak i nie nawożonego, notowano w okresie kwitnienia i początku tuberyzacji. W miarę dojrzewania bulw malała aktywność peroksydazy a rosła katalazy zwłaszcza w fazie zasychania naci. Efekt działania nawożenia azotem na aktywność badanych enzymów był istotny w czasie całej wegetacji. Obserwowano średnio o około 43% wyższą aktywność obu enzymów w bulwach pochodzących z poletka nawożonego azotem w dawce $200 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Słowa kluczowe: bulwy ziemniaka, katalaza, nawożenie azotem, peroksydaza

Field experiments were conducted in three vegetation periods in order to examine the effect of nitrogen fertilization (0 or $200 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$) on peroxidase and catalase activities in tubers of the potato cv. Uran. Activity of the enzymes was determined in three growth phases of the period from July (flowering) to September (harvest). The highest activity of peroxidase and the lowest of catalase were recorded at the flowering phase, independently on the nitrogen fertilization. Next, the activity of peroxidase decreased until harvest and that of catalase increased, reaching the maximum at the haulm drying up time. The effect of nitrogen fertilization on the increase of peroxidase and catalase activities was significant during a whole vegetation period. The difference was about 43%, in comparison to the non-fertilized tubers. The observed increase of these anti-oxidative enzymes activity could result from an oxidative stress caused by the excessive N-dose

Key words: catalase, nitrogen fertilization, peroxidase, potato tubers

WSTĘP

Nawożenie azotem odgrywa bardzo ważne znaczenie we wzroście i rozwoju roślin ziemniaka. Optymalna rolniczo dawka azotu dla średnio wczesnych i późnych odmian ziemniaka wynosi 100–175 kg N · ha⁻¹, zależnie od ich wymagań nawozowych (Anonim, 2000). Przy umiarkowanym i optymalnym zaopatrzeniu roślin w azot, składnik ten nie wykazuje w zasadzie wpływu na zawartość suchej masy bulw i jej składników (Fotyma, 1985; Roztropowicz, 1989). Natomiast nawożenie azotem w wysokich dawkach wywołuje podwyższenie zawartości związków azotowych oraz zmniejszenie zawartości suchej masy i skrobi w bulwach ziemniaka (Leszczyński i Lisińska, 1986; Roztropowicz, 1989). Wysokie dawki azotu powodują także spadek zawartości witaminy C, a wzrost koncentracji azotu ogólnego i białkowego (Mazur i in., 1987).

Peroksydaza i katalaza to enzymy odgrywające ważną rolę w regulacji procesów wzrostu i rozwoju roślin. Rola peroksydazy we wzroście roślin polega m.in. na udziale w syntezie lignin (Macur in., 1991) i utlenianiu kwasu indoliloctowego. Utlenianie IAA przez peroksydazę następuje przy udziale nadtlenu wodoru, podczas gdy katalaza rozkładając nadtlenek wodoru, pełni rolę ochronną względem auksyn (Van Hustee i Cairns, 1982). Enzymy te należą również do pierwszej linii obronnej tzn. ich aktywność bardzo szybko wzrasta, w przypadku reakcji roślin na patogen czy działanie stresu typu zbyt wysokie nawożenie mineralne (Okuda i in., 1991).

Celem prezentowanych w tej pracy badań było określenie, czy stosowane w dawce supraoptymalnej dla badanej odmiany, nawożenie azotem wpływa na poziom aktywności peroksydazy i katalazy w bulwach ziemniaka.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w trzech kolejnych sezonach wegetacyjnych. Bulwy ziemniaka odmiany Uran w końcu kwietnia i na początku maja wysadzano na poletkach o zróżnicowanym nawożeniu azotem: bez nawożenia azotowego (0 kg N · ha⁻¹) oraz w dawce 200 kg N · ha⁻¹.

Fosfor zastosowano w ilości 60 kg P₂O₅ na hektar i nawozy potasowe w ilości 120 kg K₂O na hektar. Stosowano ogólnie przyjęte zabiegi pielęgnacyjne i agrotechniczne.

Bulwy do oznaczeń aktywności enzymów pobierano trzykrotnie po 10 bulw od lipca do końca września w następujących fazach rozwoju roślin:

- kwitnienia i zawiązywania bulw,
- początku zasychania naci,
- całkowitego zaschnięcia naci i zbioru bulw.

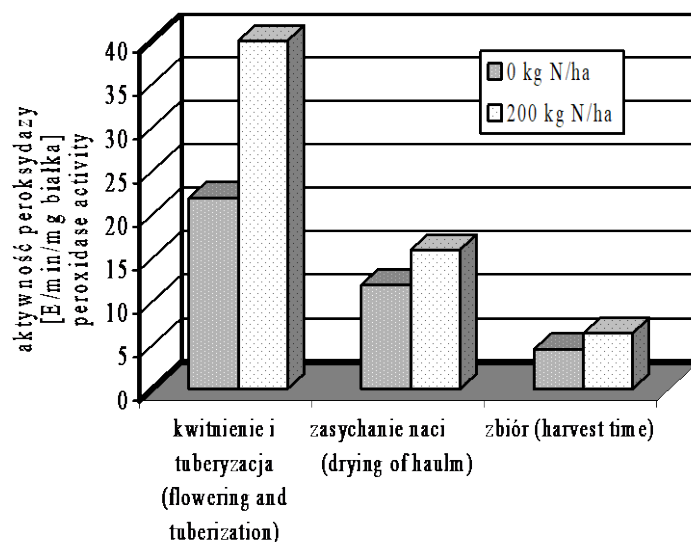
Z 10 bulw pobierano 25g części korowej bulw (wraz z oczkami) i homogenizowano z 50 cm³ 50 mmol · dcm⁻³ buforu fosforanowego o pH 7,0. Homogenat wirowano przez 10 min. przy 15 000 g w temp. 4°C. Otrzymany supernatant służył do oznaczeń aktywności enzymów.

Aktywność peroksydazy oznaczano, stosując jako substrat benzydinę, według metody opisaną przez Rychter i Lewaka (1971). Aktywność katalazy oznaczano metodą opisaną

przez Bergmayera (1963). Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej. Dokonano dwukierunkowej analizy wariancji, biorąc pod uwagę jako czynniki doświadczenia terminy pobierania prób i nawożenie azotem. Wyliczono najmniejszą istotną różnicę dla wariantów nawożenia.

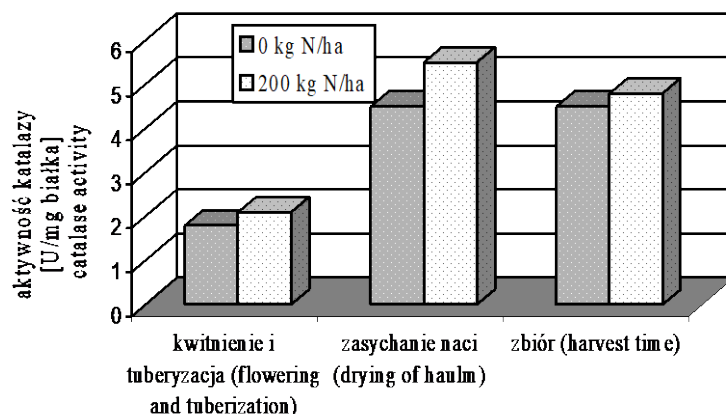
WYNIKI I DYSKUSJA

Aktywność peroksydazy i katalazy zmieniała się w czasie wegetacji roślin ziemniaka (rys. 1 i 2). W okresie kwitnienia i zawiązywania bulw obserwowano wysoki poziom aktywności peroksydazy i niski katalazy zarówno w bulwach nawożonych, jak i nie nawożonych azotem. Na podstawie prac Mioduszevskiej i Bielińskiej-Czarneckiej (1998) można przypuszczać, że peroksydaza to enzym odpowiedzialny za tuberyzację ziemniaka. W tuberyzujących roślinach ziemniaka stwierdzono, bowiem zdecydowanie wyższą aktywność peroksydaz niż w nietuberyzujących. Peroksydaza odpowiada za proces tuberyzacji prawdopodobnie poprzez regulację poziomu auksyn i etylenu w stolonach. Z drugiej strony Kumar i Wareing (1974) donosili o inhibicji tworzenia się bulw przy wysokiej koncentracji kwasu indoliloctowego.



Rys. 1. Zmiany aktywności peroksydazy w bulwach ziemniaka w okresie wegetacji (średnie z trzech sezonów). NIR = 2,9

Fig. 1. Changes of peroxidase activity in potato tubers during vegetation (average of three seasons).
LSD = 2.9



Rys. 2. Zmiany aktywności katalazy w bulwach ziemniaka w okresie wegetacji (średnie z trzech sezonów). NIR = 0,9

Fig. 2. Changes of catalase activity in potato tubers during vegetation (average of three seasons). LSD = 0.9

W okresie tuberyzacji wysoką aktywność peroksydazy i kwasnej fosfatazy obserwowali już wcześniej Mioduszevska i wsp. (1983). W bulwach młodych występuje też wysoki poziom nieorganicznej pyrofosfatazy (Viola i Davies, 1991) i enzymów proteolitycznych (Mioduszevska i in., 1983). W miarę wzrostu bulw i ich dojrzewania malała aktywność peroksydazy, a rosła katalazy (osiągając maksimum w okresie zaschnięcia naci). Wyniki te potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia innych badaczy w tym m.in. De Kock i wsp. (1979) wykazujące, że w bulwach ziemniaka wzrostowi poziomu katalazy towarzyszy spadek aktywności peroksydazy.

Nawożenie azotem, zastosowane w dawce $200 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ (dawka optymalna azotu dla odmiany Uran wynosi $81 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$) modyfikowało poziom aktywności badanych enzymów. Obserwowano wysoce istotną stymulację aktywności peroksydazy w okresie kwitnienia i tuberyzacji, a katalazy w okresie zasychania naci (rys. 1 i 2). W pozostałych terminach aktywność badanych enzymów była wyższa w bulwach nawożonych niż nienawożonych azotem, ale różnice te nie były tak istotne. Stymulujący wpływ nawożenia azotem na aktywność peroksydazy i katalazy obserwowali także inni badacze np. (Gurgul i in., 1980) u kapusty, a Kaczmarczyk i wsp. (1993) w liściach pszenicy. Autorzy ci stwierdzili, że nawożenie mineralne, a szczególnie azotowe i poziom jego dawki są istotnym czynnikiem modyfikującym aktywność peroksydazy i katalazy w liściach roślin uprawnych.

Prezentowane w tej pracy wyniki sugerować mogą, że azot poprzez wpływ na aktywność peroksydazy i katalazy, enzymów uczestniczących w regulacji gospodarki hormonalnej, może oddziaływać na plon i jakość ziemniaków. Dalsze badania winny wyjaśnić,

czy wysoka aktywność peroksydazy i katalazy w bulwach ziemniaka przy zastosowaniu supraoptymalnych dawek azotu może wpływać ujemnie na akumulację plonu bulw.

Podwyższenie aktywności peroksydazy i katalazy pod wpływem nawożenia azotowego zastosowanego w wysokich dawkach może sugerować również, że nawożenie mineralne prawdopodobnie wywołuje stres oksydacyjny w roślinach ziemniaka poprzez produkcję wolnych rodników. Dlatego też roślina wzmaga poziom enzymów antyoksydacyjnych typu peroksydaza i katalaza i produkcję innych metabolitów np. fenoli (Rogozńska, 1995) w celu zapobieżenia uszkodzeń komórek roślinnych przez reaktywne formy tlenu.

Obserwowany wzrost aktywności peroksydazy i katalazy (enzymów antyoksydacyjnych), zachodzący pod wpływem wysokich dawek azotu, w bulwach ziemniaka może sugerować występowanie stresu oksydacyjnego w komórkach ziemniaka.

WNIOSKI

1. Najwyższą aktywność peroksydazy obserwowano w okresie kwitnienia i zawiązywania bulw, a katalazy w okresie zasychania naci.
2. Nawożenie azotem, zastosowane w dawce supraoptymalnej, powodowało podwyższenie aktywności zarówno peroksydazy, jak i katalazy. Podwyższenie poziomu aktywności badanych enzymów w bulwach pochodzących z poletka nawożonego azotem może sugerować, że nawożenie azotem poprzez wpływ na te enzymy, uczestniczące w regulacji poziomu hormonów roślinnych, może wpływać na wielkość i jakość plonu bulw odmiany Uran.

LITERATURA

- Anonim. 2000. Charakterystyka zrejoniowanych odmian ziemniaka. IHAR, Jadwisin.
- Bergmayer H. U. 1963. Methods of enzymatic analysis. Acad. Press, New York pp: 888.
- De Kock P. C., Hall A., Inkson R. H. E. 1979. A study of peroxidase and catalase distribution in the potato tuber. Ann. Bot. 43: 295 — 298.
- Gurgul E., Kołota E., Ściążko D. 1980. Próba określenia zależności między aktywnością niektórych enzymów a poziomem nawożenia azotowego oraz plonem kapusty nawadnianej i nie nawadnianej. Zesz. Nauk. AR Szczecin, 24, 85: 33 — 42.
- Fotyma M. 1985. Podstawy mineralnego żywienia ziemniaka. W: Biologia ziemniaka. W. Gabriel (red.) PWN, Warszawa: 134 — 156.
- Kaczmarczyk S., Koszańska E., Ściążko D., Roy M. 1993. Przebieg niektórych procesów fotosyntetycznych oraz plonowanie pszenicy ozimej i pszenżyta pod wpływem deszczowania i nawożenia azotem. Część II. Aktywność niektórych enzymów oraz plonowanie pszenicy ozimej i pszenżyta. Acta Agrobot. 46: 31 — 38.
- Kumar D., Wareing P. F. 1974. Studies on tuberization of *Solanum andigena*. II. Growth hormones and tuberization. New Phytol. 73: 833 — 840.
- Leszczyński W., Lisińska G. 1986. Wpływ nawożenia azotem i terminu sadzenia ziemniaka Atol, Cisa i Reda na zmiany jakości bulw. Bul. Inst. Ziemn. 34: 63 — 70.
- Macur R. E., Mathre D., Olsen R. A. 1991. Interaction between iron nutrition and Verticillium wilts resistance in tomato. Plant and Soil 134: 281 — 286.
- Mazur T., Ciećko Z., Krefft L., Bieniaszewska J. 1987. Działanie nawożenia azotem na plonowanie i niektóre cechy jakościowe ziemniaków uprawianych w województwie olsztyńskim. W: Agrotechnika ziemniaka i wybrane zagadnienia z przechwalnictwa. I. Ziemn., Bonin: 158 — 160.

- Mioduszevska H., Bielińska-Czarnecka M., Białek K. 1983: Activity of some enzymes in developing potato tubers as compared to endogenous gibberellin activity. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Biol.* 31: 85 — 90.
- Mioduszevska H., Bielińska-Czarnecka M., Kłoczek J. 1998. Zmiany aktywności peroksydaz w roślinach ziemniaka hodowanych w kulturach *in vitro*. Materiały konferencji i obrad sekcji 51 Zjazdu PTB — Gdańsk 98: 334.
- Okuda T., Matsuda Y., Sagisaka S. 1991. Abrupt increase in the level of hydrogen peroxide in leaves of winter wheat in caused by cold treatment. *Plant Physiol.* 97: 1265 — 1267.
- Rogozińska I. 1995: Wpływ nawożenia azotowego na bilans azotu i szkodliwych dla zdrowia substancji chemicznych w bulwach ziemniaka. *Post. Nauk Rol.* 1: 59 — 65.
- Roztropowicz S. 1989. Środowiskowe, odmianowe i nawozowe źródła zmienności składu chemicznego bulw ziemniaka. *Fragm. Agron.* 1, 21: 33 — 76.
- Rychter A., Lewak S. 1971. Apple peroxidases. *Phytochem.* 10: 1609 — 1703.
- Van Hustee R. B., Cairns W.L. 1982: Progress and prospect in use of peroxidase to study cell development. *Phytochem.* 21: 1843 — 1847.
- Viola R., Davies H. V. 1991. Fluoride- induced of starch biosynthesis in developing potato, *Solanum tuberosum* L., tubers is associated with pyrophosphate accumulation. *Plant Physiol.* 97: 105 — 110.