

Ocena stanu odżywienia roślin azotem z zastosowaniem testów roślinnych

Marian Machul

Zakład Uprawy Roślin Pastewnych

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa

ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

tel. (081) 8863421 w. 351

Słowa kluczowe: testy roślinne, zawartość N, reduktaza azotanowa,
test SPAD

Wstęp

Nawożenie azotem jest podstawowym czynnikiem decydującym o plonowaniu roślin i jakości uzyskanego plonu. Stosowanie dużych dawek azotu w warunkach gospodarki rynkowej musi być uzasadnione ekonomicznie i powinno uwzględniać aspekt ekologiczny. Dlatego ważne jest diagnozowanie stanu odżywienia roślin azotem, co umożliwi stosowanie optymalnych dawek azotu w terminach uzasadniających realizację celów.

Stan odżywienia roślin azotem można określić wizualnie, poprzez porównanie natężenia barwy liści, oraz na podstawie analiz chemicznych materiału roślinnego. Wzrokowo można dostrzec tylko ostre niedobory składników. Mimo że niedostatek określonego składnika wywołuje charakterystyczne objawy, to w praktyce trudno jest je jednoznacznie określić, a to ze względu, iż możemy mieć do czynienia z niedoborem dwóch lub więcej składników równocześnie, co utrudnia rozpoznanie. Przykładowo objawy niedoboru azotu mogą nie wystąpić, jeżeli jednocześnie brak będzie fosforu. Ponadto w warunkach stresu azotowego rośliny przemieszczają azot ze starszych liści do młodszych, w rezultacie powodując chlorozę liści starszych [34]. Przy niedostatku azotu liście roślin są bladozielone, często żółtawozielone i stopniowo obumierają, a przy obfitości nabierają barwy intensywnie zielonej aż do zielonogranatowej. W uprawie buraka cukrowego wizualne różnice w natężeniu barwy liści pod wpływem nawożenia azotem obserwuje się zbyt późno, bo po 70 dniach od wschodów, a różnice w natężeniu barwy udowodniono statystycznie jedynie między kontrolą (N — 0) i kombinacją z największą dawką azotu (N — 210 kg · ha⁻¹) [13]. Wzro-

kowa ocena stanu odżywienia roślin azotem nie spełnia swojej roli z powodu jej subiektywizmu i małej dokładności.

Podjęmowano też próby określenia stanu odżywienia roślin azotem z użyciem testu barwnego [12–14], na zawartość N-NO₃ w soku wskaźnikowych organów roślin, np. w pędach zbóż, w fazie początku strzelania w źdźbło, w łodygach rzepaku i ogonkach liściowych buraka cukrowego. Testy te wykonuje się przy użyciu 1-procentowego roztworu dwufenyloaminy, według metody polowej opisanej przez Cerlinga [10]. Uzyskaną barwę wyciągu ocenia się w skali trzystopniowej, gdzie 0 — brak zabarwienia — oznacza bardzo duże zapotrzebowanie na azot, 3 — ciemnoniebieskie zabarwienie — oznacza wystarczające lub nadmierne zaopatrzenie w azot. Metodę testu barwnego dla zbóż opracował w Polsce Chojnacki [12]. Faber i in. [13], stosując test barwny na zawartość N-NO₃ u buraka cukrowego, stwierdzili istotne różnice między liśćmi z obiektu kontrolnego, bez nawożenia azotem, i z obiektów N — 140 i N — 210 kg · ha⁻¹. Sporadycznie różnice te były wykrywalne już w fazie 5 par liści, z reguły natomiast po 70 dniach od wschodów buraka. W wypadku stosowania testu barwnego u rzepaku [14] różnice obserwowano po 10 dniach od ruszenia wegetacji wiosną. Jednak dopiero w fazach początku pąkowania i początku kwitnienia stwierdzono istotną korelację między wskazaniem testu barwnego a zawartością N-ogólnego w nadziemnej masie roślin. Dokładność oznaczeń zawartości N-NO₃ metodą testową zwiększała się w miarę wzrostu dawki azotu. Test ten jest oficjalnym narzędziem pomiaru w Niemczech. Testowa ocena stanu odżywienia roślin, podobnie jak wizualna, jest mało czuła, co ogranicza jej przydatność diagnostyczną.

Dokładniej stan odżywienia azotem można określić, stosując testy roślinne. Rozróżnia się testy bezpośrednie i testy pośrednie. Testy bezpośrednie polegają na oznaczaniu całkowitej zawartości składnika lub jego jonów. W odniesieniu do azotu prowadzi się to do oznaczenia zawartości azotu ogólnego w suchej masie roślin lub oznaczenia zawartości azotanów w soku roślinnym. Przykładem testu pośredniego jest aktywność reduktazy azotanowej oraz zawartość chlorofilu w liściach.

Analizy chemiczne roślin

W wielu krajach próbowano zastosować metody analizy chemicznej roślin do oceny stanu odżywienia azotem i określenia uzupełniającej dawki azotu w uprawie zbóż, rzepaku, buraków cukrowych, ziemniaków i kukurydzy [8, 11–14, 19, 21, 27, 30, 33, 34]. Metodę określania zawartości azotu ogólnego w suchej masie roślin zbożowych (w fazie strzelania w źdźbło) w byłej NRD i Czechosłowacji wprowadzono do praktycznego rolnictwa w latach siedemdziesiątych [11]. Przedziały dostatecznego i niedostatecznego zaopatrzenia zbóż w azot podają dla warunków krajowych Chojnacki i Fotyma [11]. Według tych autorów, o niedoborze azotu w fazie strzelania w źdźbło świadczy zawartość poniżej 3% N w suchej masie roślin żyta, jęczmienia i

owsa oraz 3,7% N w suchej masie pszenicy [11], natomiast zawartość azotu sięgająca 3,8–4,0% w suchej masie żyta, jęczmienia i owsa — o dobrym stanie odżywienia azotem. Dla pszenicy wartość ta była większa, przy zawartości 4,2% N w suchej masie pszenica reagowała jeszcze zwyżką plonu na niewielką dawkę azotu.

Wyniki analizy chemicznej roślin po skalibrowaniu stanowią test roślinny. W procesie kalibracji wyznacza się krytyczną zawartość azotu. Wiadomo bowiem, że zawartość tego składnika w suchej masie rośliny szybko się zmienia z wiekiem i stąd potrzeba wyznaczania krytycznej zawartości azotu w ściśle zdefiniowanych fazach rozwoju. Greenwood i in. [23] podają, że pod pojęciem krytycznej zawartości azotu należy rozumieć minimalną zawartość N, przy której tempo przyrostu masy rośliny jest maksymalne. Jeżeli zawartość azotu oznaczona w materiale roślinnym jest mniejsza od krytycznej, świadczy to o niedostatecznym stanie odżywienia roślin. Należy wówczas zastosować uzupełniającą dawkę nawozów azotowych. Jeżeli aktualna zawartość azotu jest większa od krytycznej, świadczy to o nadmiernym (luksusowym) stanie odżywienia i wówczas można zrezygnować z zastosowania kolejnej dawki azotu. Greenwood i in. [23] zaproponowali model określenia krytycznej zawartości azotu.

$$N_c = 1,35 [1 + 3 \exp(-0,26 W)]$$

gdzie: W oznacza suchą masę w $t \cdot ha^{-1}$.

Równanie Greenwooda wyznaczone dla ziemniaka, a sprawdzone dla zbóż i roślin warzywnych uznawane jest za uniwersalne dla innych roślin. Justes i in. [25] uważają, że równanie funkcji potęgowej $N = a(W)^b$, wyznaczające krytyczną zawartość azotu, ma charakter prawa biologicznego, ale wówczas, gdy rośliny są dobrze zaopatrzone w azot w ciągu całego okresu wegetacji. Ponieważ zaopatrzenie w azot wykazuje fluktuacje w czasie wegetacji, dlatego podawane są różne wersje równań krzywej rozcieńczenia azotu [18].

Greenwood i in. [22] wskazują, że optymalna zawartość azotu w roślinie zmniejsza się wraz ze wzrostem masy rośliny. Krzywa opisująca zależność pomiędzy zawartością azotu i plonem suchej masy roślin dobrze odżywionych azotem nazywana jest krzywą rozcieńczenia. Zależność tę dla kukurydzy i sorga uprawianych w warunkach tropikalnych Lemaire i Chartier, cyt. za Lemaire i in. [30], opisali równaniem: $N\% = 3,6(DM)^{-0,34}$ gdzie: DM oznacza suchą masę w $t \cdot ha^{-1}$. Plenet (cyt. za Lemaire i in. [30]) dla zależności między krytyczną zawartością azotu w roślinie a przyrostem masy kukurydzy uprawianej w strefie umiarkowanej opracował równanie $N\% = 3,4(DM)^{-0,37}$. Równanie to jest odpowiednie także dla sorga [9, 30], które podobnie jak kukurydza jest rośliną typu C_4 .

Kruczek [27] wykazał, że zależność zawartości N-ogólnego w roślinach kukurydzy od suchej masy roślin dobrze opisują funkcje — liniowa w postaci logarytmicznej i wykładnicza w postaci zbliżonej do propozycji Greenwooda oraz nieznacznie gorzej funkcja potęgowa. Wyznaczone zawartości N-ogólnego z krzywych określonych w jego badaniach wykazywały dużą zgodność z wartościami rzeczywistymi (tab. 1). Je-

Tabela 1. Kalkulowane i rzeczywiste zawartości azotu ogólnego [%] w kukurydzy [27]

Faza rozwojowa	Metoda obliczania	Nawożenie azotem [kg N · ha ⁻¹]			
		0	<100	100–200	>200
Początek kwitnienia wiech	$N_c = a + b \cdot \ln(W)$	1,30	1,53	1,80	1,86
	$N_c = a \cdot W^b$	1,21	1,42	1,69	1,75
	$N_c = a(1 + b/a \cdot \exp) k \cdot W$	1,22	1,45	1,75	1,85
	$N_c = 1,35[1 + 3 \cdot \exp(-0,26 W)]$	2,22	2,16	2,09	2,09
	dane rzeczywiste	1,31	1,57	1,80	1,92

dynie w obiekcie bez nawożenia azotem, przy niskim plonie suchej masy kukurydzy, wystąpiła różnica w zawartości N-ogólnego wynosząca 0,91%, między wartością wyliczoną z równania Greenwooda a rzeczywistą zawartością azotu. Różnica ta potwierdza wcześniejsze wyniki innych autorów [23], że zależność opisywana modelem Greenwooda daje dobre wyniki, gdy plon suchej masy wynosi powyżej 5 t · ha⁻¹. Ponadto Kruczek [27] stwierdził, że zawartość azotu ogólnego, w tej samej fazie rozwojowej, cechuje duża zmienność. Zawartość ta wzrasta wraz ze zwiększeniem poziomu nawożenia azotem.

Inną metodą pozwalającą na ocenę zaopatrzenia roślin w azot jest test opracowany przez Van Burga i Whiteheada, cyt. za Wojciską i in. [38], polegający na określaniu zawartości azotanów w zielonym materiale roślinnym. Geyer i Marschner [21] uważają, że oznaczanie zawartości azotanów jest metodą bardzo przydatną do oceny stanu odżywienia kukurydzy azotem. Określając zawartość N-NO₃ w łodygach, pochwach liściowych i blaszkach liściowych młodych roślin, stwierdzili, że najlepszym wskaźnikiem zaopatrzenia w azot jest zawartość N-NO₃ w pochwach liściowych dwóch najstarszych, fotosyntetycznie czynnych liści. Na odpowiednie zaopatrzenie kukurydzy w azot wskazywały zawartości N-NO₃ na poziomie: 1100–1700 mg · l⁻¹ w fazie 4–5 liści, 550–850 mg · l⁻¹ w początku strzelania w źdźbło i 400–700 mg · l⁻¹ w fazie ukazywania się znamion. Nitsch [33] podaje, że Izba Rolnicza w Hanowerze w swoich zaleceniach przyjmuje test azotanowy jako wskaźnik nawożenia kukurydzy azotem. Optymalna zawartość azotu w formie azotanowej w soku roślinnym w łodydze kukurydzy (u podstawy) powinna wynosić 5000 ppm w ciągu całej wegetacji. Zawartość na poziomie 7000–8000 ppm świadczy o nadmiernym zaopatrzeniu roślin w azot, które nie powoduje wzrostu plonu. Natomiast Fox i in. [19] na podstawie wyników 87 doświadczeń z kukurydzą, przeprowadzonych w centralnej i południowo-wschodniej Pensylwanii, stwierdzili, że koncentracja NO₃ w łodygach kukurydzy, w fazie 5–6 liści (4–5 tygodni po wschodach), nie była dobrym wskaźnikiem dostępności azotu w glebie i określenia reakcji kukurydzy na nawożenie azotem. We Francji, w pilotażowym programie Jubil [8], metoda wskaźnika roślinnego oparta jest na oznaczaniu zawartości azotanów w soku roślinnym. W 1993 r. zaproponowano zastosowanie tej metody w nawożeniu pszenicy ozimej. Obecnie jest polecana dla jęczmienia, ziem-

niaków i kukurydzy. Organem wskaźnikowym u zbóż jest dolny odcinek źdźbła, u ziemniaków — ogonki liściowe. W metodzie tej do kalibracji wykorzystuje się indeks odżywienia roślin azotem (Nitrogen Nutrition Indeks, NNI) [24]. Indeks stanu odżywienia roślin azotem jest ilorazem aktualnej i krytycznej zawartości N w roślinach, przy określonym plonie suchej masy; $NNI = N_a(\%)/N_c(\%)$. Przy czym krytyczną zawartość azotu dla kukurydzy dającej plony od 1 do 22 t suchej masy z 1 ha wylicza się z równania Pleneta $N\% = 3,4 (DM)^{-0,37}$. Wartość indeksu *NNI* równa 1 oznacza prawidłowy stan odżywienia roślin azotem. $NNI < 1$ określa stan niedożywienia azotem. Konieczne jest wówczas zastosowanie dodatkowej dawki azotu. Natomiast $NNI > 1$ świadczy o nadmiernym pobraniu azotu przez rośliny, które nie wymagają nawożenia tym składnikiem.

Należy podkreślić, że zawartość azotu ogólnego i azotanowego jest uzależniona od przebiegu pogody, części wskaźnikowych rośliny oraz fazy rozwojowej [28]. Według Kruczka [28], zawartość N-ogólnego jest lepszym wskaźnikiem stanu odżywienia kukurydzy azotem aniżeli forma azotanowa, ponieważ zawartość azotanów w roślinie podlega większym wahaniom, pod wpływem warunków środowiskowych, w porównaniu do zawartości azotu ogólnego. Ponadto cała masa nadziemna roślin bardziej wiarygodnie odzwierciedla zaopatrzenie kukurydzy w azot w porównaniu z częściami wskaźnikowymi (nerwy liści dolnego i flagowego). Nierozstrzygnięty i otwarty pozostaje problem wyboru właściwych części wskaźnikowych rośliny i terminu wykonywania oznaczeń.

Kontrola stanu odżywienia roślin metodą DRIS

Koncepcja wartości krytycznej lub przedziału krytycznego ma słabe punkty [35]. Wartości krytyczne uzyskane dla tych samych gatunków roślin, tej samej odmiany, fazy rozwojowej i organu były różne w różnych badaniach. Wynikało to z interakcji między czynnikami plonotwórczymi. Innym słabym punktem jest fakt niedostatecznego uwzględniania współdziałań między składnikami pokarmowymi. Słabe strony koncepcji wartości krytycznej [35] były impulsem podjęcia badań w początkach lat siedemdziesiątych, przez Beaufilsa, a następnie przez Sumnera i wielu innych autorów, które doprowadziły do opracowania metody DRIS (Diagnosis Recommendation Integrated System).

Metoda DRIS — Zintegrowany System Diagnozy i Zaleceń jest metodą diagnozowania bardziej kompleksową w porównaniu z metodami opartymi na koncepcji zawartości składników pokarmowych. Składa się z dwóch powiązanych ze sobą części: zespołu norm DRIS oraz procedury obliczania indeksów DRIS [15].

Norma DRIS to stosunki zawartości składników w suchej masie roślin oraz wariancja tych stosunków, określona dla populacji wysokich plonów, która wyznaczona została metodami statystycznymi [35]. Norma DRIS stanowi więc wzorzec odżywie-

nia wysokoplonującej rośliny, do którego odnosimy stan odżywienia badanych roślin. W normie uwzględnia się stosunki zawartości, ponieważ lepiej charakteryzują one potrzeby pokarmowe roślin niż absolutne zawartości składników. Stosunki zawartości składników zmieniają się z wiekiem rośliny w mniejszym stopniu niż zawartości tych składników [15], dlatego norma DRIS może być stosowana nie tylko w tej fazie rozwoju rośliny, dla której została wyznaczona, lecz również w fazach wcześniejszych i późniejszych. Normy DRIS zostały wyznaczone w Polsce dla 4 zbóż, kukurydzy i chmielu [15]. Normy te dotyczą fazy wiechowania dla kukurydzy i fazy strzelenia w źdźbło dla zbóż.

Indeksy DRIS są względną miarą niedoboru lub nadmiaru składników pokarmowych w badanej roślinie w stosunku do przyjętej normy. Indeksy dla N, P, K i innych składników pokarmowych wyznacza się według odpowiednich wzorów [15]. Indeks każdego składnika jest wartością liczbową niemianowaną ze znakiem ujemnym lub dodatnim, co oznacza niedobór lub nadmiar składnika. Uzyskane wartości indeksów sumuje się. Im ta suma jest bliższa zeru, tym stan odżywienia rośliny jest bardziej zgodny z normą. Natomiast wysoka wartość sumy indeksów bez uwzględnienia znaków świadczy o niezrównoważonym stanie odżywienia rośliny.

Metoda DRIS jest dość skomplikowana, wymaga wielu analiz chemicznych dla określenia zawartości poszczególnych składników pokarmowych. Ponadto, jak wykazuje w swoich badaniach Beverly [4], może być stosowana w diagnozowaniu odżywienia kukurydzy fosforem i potasem, natomiast nie może być akceptowana do azotu i siarki, ze względu na małą dokładność oceny i słabą reakcję w plonie kukurydzy. Ten sam autor potwierdza przydatność metody DRIS w ocenie stanu odżywienia pszenicy azotem, fosforem i potasem oraz w określaniu potrzeb nawozowych pszenicy w odniesieniu do tych składników.

Reduktaza azotanowa jako wskaźnik zaopatrzenia roślin w azot

Azotany są zazwyczaj głównym źródłem dostępnego dla roślin azotu. Zanim azotan zostanie włączony w procesy metaboliczne, musi ulec redukcji do NH_3 . Ten ważny proces, zwany redukcją azotanów, składa się z dwu etapów: redukcji NO_3 do NO_2 i dalszej redukcji NO_2 do NH_3 [32]. Rośliny posiadają aktywny mechanizm, dzięki któremu pobrane azotany są redukowane i wykorzystywane do syntezy organicznych związków azotu. Kluczowym enzymem włączającym azot azotanowy w procesy metaboliczne jest reduktaza azotanowa (NR) [3]. Enzym ten funkcjonuje zarówno w organach nadziemnych, jak i w korzeniach. Nasunęło to przypuszczenie, że poziom aktywności reduktazy azotanowej może być wskaźnikiem zapotrzebowania na azot. Przeprowadzone liczne badania [1, 2, 37–40], głównie z roślinami zbożowymi i pastewnymi, wskazały, że aktywność reduktazy azotanowej oznaczana metodą *in vivo*

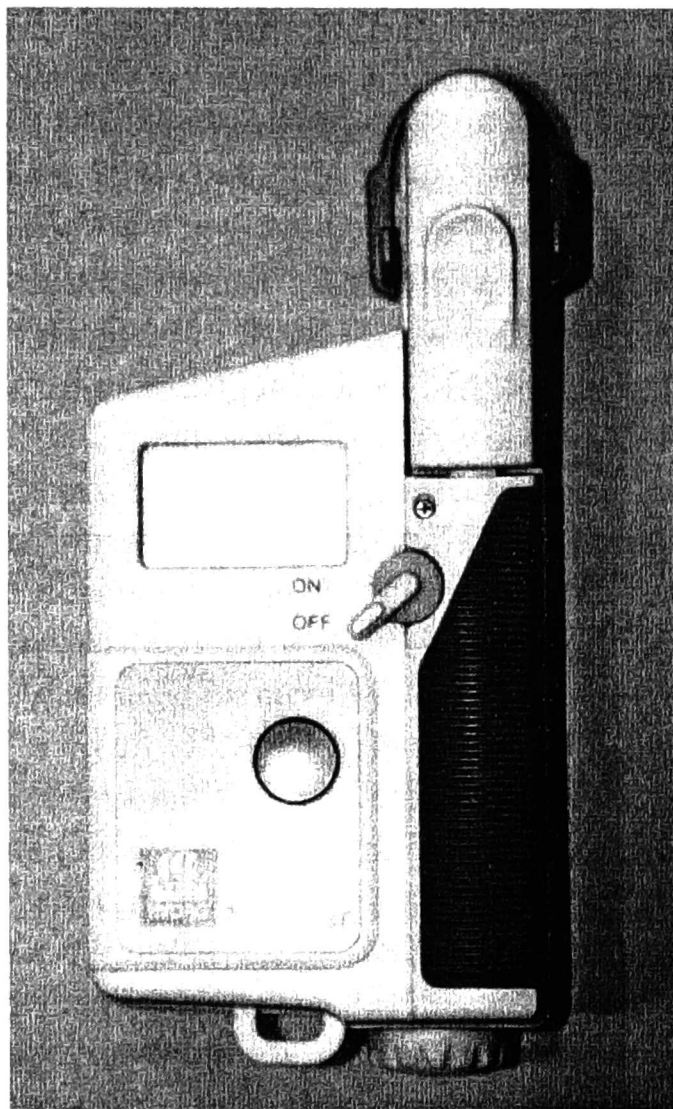
opisaną przez Kleppera [26] wykazywała dużą zmienność w zależności od zaopatrzenia w azot i stanu fizjologicznego rośliny, a także od warunków środowiskowych, głównie świetlnych i termicznych. Wzrost aktywności NR [40] pod wpływem zwiększenia dawki azotu następował z różną intensywnością w poszczególnych organach rośliny. U młodych roślin najsilniej aktywność enzymu wzrastała w łodygach, a w późniejszych okresach wegetacji w blaszkach liściowych, które są głównym miejscem redukcji azotanów u zbóż. Aktywność NR w korzeniach w małym stopniu zależała od zaopatrzenia roślin w azot. Aktywność tego enzymu zależała także od wieku blaszek liściowych; zmniejszała się wraz z ich starzeniem się. Również inne czynniki, przykładowo obecność związków fosforu, mają wpływ na aktywność reduktazy azotanowej. Kummerova i Buczek [29] podają, że fosfor jest niezbędny do utrzymania aktywności NR u kukurydzy na względnie wysokim poziomie, ale w mniejszym stopniu wpływa na inkubację NR. Okazało się, że brak fosforu w pożywce zahamował w 50% pobieranie azotanów oraz obniżył aktywność reduktazy azotanowej w korzeniach kukurydzy, mierzoną zarówno *in vivo*, jak i *in vitro*.

Lepiej niż aktywność reduktazy azotanowej aktualne zaopatrzenie roślin w azot odzwierciedla stosunek aktywności reduktazy indukowanej substratem (KNO_3) do aktywności mierzonej w obecności substratu endogenego (bez dodatku KNO_3) [38], gdyż mniej podlega wpływom czynników środowiskowych i stanu fizjologicznego rośliny. Wartość tego stosunku w granicach 1,2–1,8 świadczy o wystarczającym zaopatrzeniu roślin w azot [1, 37, 38]. Przy silnym niedoborze azotu wartość ta może przekraczać 10, a przy nadmiarze wynosi około 1 i mniej. Najbardziej właściwym, jak podają Wojcieszka i in. [36], terminem dokonywania oceny zasobności roślin zbożowych w azot, na podstawie stosunku reduktazy azotanowej indukowanej do reduktazy mierzonej w obecności substratu endogenego, jest okres strzelania w źdźbło i bezpośrednio po nim [37, 38].

Duża zmienność aktywności reduktazy azotanowej pod wpływem czynników środowiskowych stwarza trudności w wyznaczeniu „krytycznej” wartości aktywności tego enzymu w określonych organach roślin i przyjęcia jej jako wskaźnika stanu zaopatrzenia roślin w azot [37]. Niemniej jednak Bar-Akiva i Sternbaum [2] podają, że u cytrusów aktywność reduktazy azotanowej w liściach przyjęto jako wskaźnik zapotrzebowania na azot.

Ocena stanu odżywienia roślin azotem na podstawie zawartości chlorofilu

Test chlorofilowy (na zawartość chlorofilu w liściach) jest testem pośrednim oceny stanu odżywienia roślin azotem. Oparty jest na istnieniu dodatniej zależności pomiędzy zawartością azotu a ilością chlorofilu w liściach, którą to zależność wykazali Wolfe i in. (1988), Lohry (1989) oraz Wood i in. (1992), cyt. za Blackmer i Schepers



Rysunek 1. Chlorofilometr SPAD 502

[7]. Ocenę zawartości chlorofilu można przeprowadzić za pomocą chlorofilometru SPAD 502, dzięki czemu nie trzeba stosować metod chemicznych do oznaczania zawartości chlorofilu. Zastosowanie chlorofilometru daje przewagę nad tradycyjnymi metodami postępowania i wykrywania niedoborów azotu. Największą zaletą jest szybkie ocenianie stanu odżywienia roślin bez zniszczenia tkanek roślinnych i potrzeby wyposażenia w dodatkową aparaturę i środki chemiczne do analiz. Aparat został wyprodukowany przez japońską firmę Minolta i znany jest jako SPAD (Soil Plant Analysis Development) w USA, a w Europie — jako Hydro N-tester.

Piekielek i Fox [34] podają, że Marquard i Tipton przetestowali tym aparatem 12 gatunków roślin ogrodniczych i stwierdzili wysoką korelację między wskazaniami aparatu a ekstrahowaną ilością chlorofilu, przy czym współczynnik determinacji R^2 w zależności od gatunku wynosił od 83 do 97%.

Hydro N-tester wielkością przypomina aparat fotograficzny (rys. 1). Składa się z dwóch części: pomiarowej (w formie głowicy) i obliczeniowej (korpusu). Zasilany jest dwoma bateriami. Część pomiarowa ma dwa ramiona. W górnym ramieniu znajdują się dwie fotodiody emitujące światło o długości fali 650 i 940 nm [6, 7, 16]. Światło o długości fali 650 nm pozostaje w zakresie maksymalnej absorpcji światła

przez chlorofil. Długość fali 940 nm znajduje się w zakresie dalekiej czerwieni, gdzie nie ma przenoszenia widma chlorofilu, gdyż światło zatrzymuje tkanka liścia. Umieszczone w dolnym ramieniu dwa detektory mierzą różnice pomiędzy absorpcją światła przy 650 i 940 nm, a iloraz tych różnic jest wskaźnikiem zawartości chlorofilu. Wynik, wyświetlany jako wartość liczbowa, jest średnią trzydziestu poprawnie wykonanych pomiarów. Pomiar skrajnie odbiegający od średniej aparat eliminuje. Wynikiem pomiarów są liczby niemianowane, określane jako jednostki SPAD. Powierzchnia pomiaru na pojedynczym liściu wynosi 6 mm^2 , ale wykonywanie oznaczeń na 30 roślinach (liściach) praktycznie eliminuje uzyskanie odczytu z uszkodzonej lub chorobowo przebarwionej tkanki liścia.

Piekielek i Fox [34] stwierdzili przydatność chlorofilometru do identyfikacji miejsc z niedoborem azotu w glebie i określaniu możliwości wystąpienia pozytywnej reakcji kukurydzy na nawożenie azotem. Cytowani autorzy przeprowadzili (w latach 1987–1989) 67 doświadczeń nawozowych z kukurydzą i wykazali, że zawartość chlorofilu w liściu piątym, mierzona aparatem SPAD, w fazie szóstego liścia kukurydzy, była dobrym wskaźnikiem określenia reakcji na przedsięwzięte nawożenie azotem. Wskazania chlorofilometru umożliwiły wyznaczenie wartości krytycznej, która pozwoliła na oddzielenie miejsc, gdzie reakcja na nawożenie azotem wystąpiła, od tych, na których reakcji nie było.

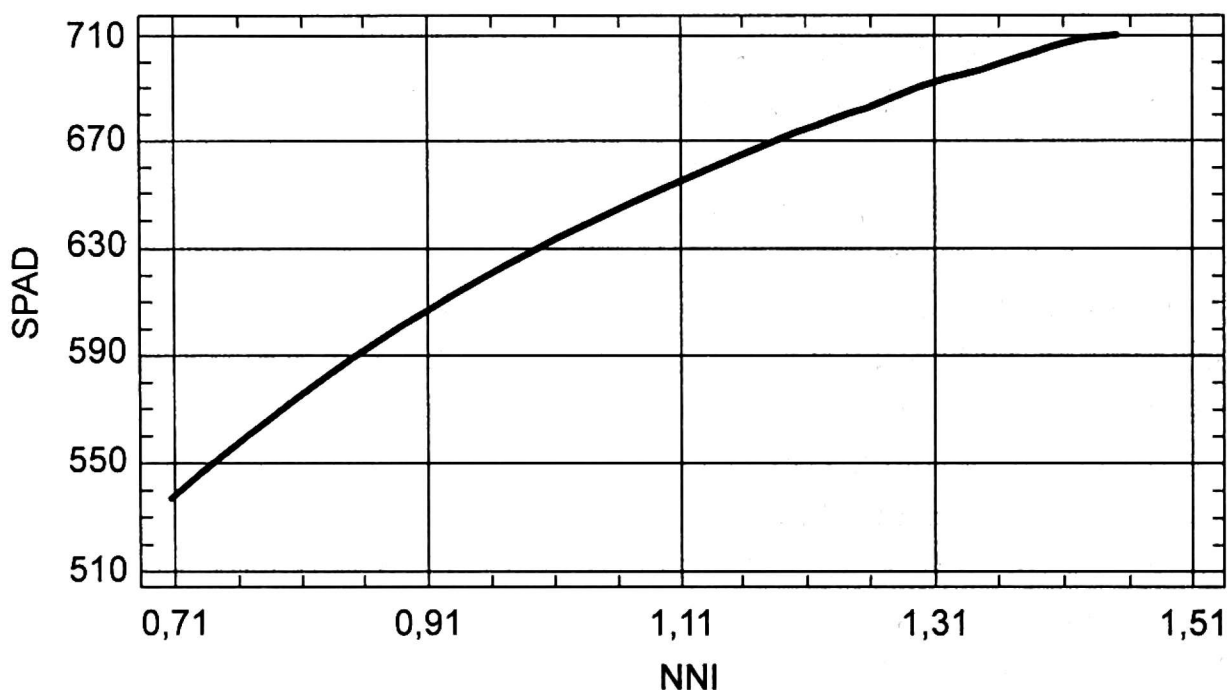
Aparat SPAD ma zastosowanie w monitorowaniu stanu odżywienia roślin azotem i jest przydatny w umiejętnym kierowaniu w nawożeniu azotem ryżu, kukurydzy i zbóż [5–7, 9, 16, 17, 36]. Badania Waskom i in. [36] wskazują jako optymalne terminy do wykonania pomiarów chlorofilometrem fazę 10 liści i wiechowania kukurydzy. Natomiast wskazania zawartości chlorofilu wykonane w fazie 6 liści nie były skorelowane z plonem ziarna kukurydzy.

Przeprowadzone w latach 1997–1998 badania własne autora [31], dotąd niepublikowane, wskazują, że zawartość chlorofilu w liściach kukurydzy odmiany Greta, mierzona aparatem SPAD 502 w fazie wiechowania, była skorelowana z indeksem odżywienia azotem (NNI). Rzeczywistą zawartość azotu w kukurydzy oznaczono metodą spektrofotometrii przepływowej, przy określonym plonie suchej masy roślin. Krytyczną zawartość azotu wyliczono z wzoru Pleneta. Zależność pomiędzy zawartością chlorofilu (SPAD) i indeksem stanu odżywienia azotem (NNI) była najlepiej opisana modelem funkcji wykładniczej, której równanie regresji miało postać:

$$\text{SPAD} = \exp(6,83781 - 0,392141/\text{NNI})$$

Współczynnik determinacji $R^2 = 76,33\%$, a krytyczna wartość odczytu SPAD wynosiła 630. Wykresem tego równania jest krzywa przedstawiona na rys. 2.

Castillon [9] stwierdził, iż pomiary zawartości chlorofilu powinny być wykonywane w późniejszych fazach rozwojowych kukurydzy; w fazie 15 liści i znamionowania. W fazie 12 liści indeks azotowy (NNI) i zawartość chlorofilu były dobrze skorelowane nawzajem, ale słabo tłumaczyły zmienność w plonie ziarna.



Rysunek 2. Zależność pomiędzy zawartością chlorofilu (SPAD) i indeksem odżywienia kukurydzy mieszańca Greta azotem (NNI), w fazie wiechowania (RZD w Grabowie 1997–1998)

Stosowanie testu chlorofilowego wymaga oddzielnej kalibracji dla każdej odmiany [6, 9, 16]. Fotyma [16] podaje, że indeks zieloności liścia przy tym samym stanie odżywienia jest zróżnicowany genetycznie, co wymaga wyznaczenia tzw. współczynników korekcyjnych dla odmian innych niż ta, dla której dokonano kalibracji. Castillon [9] wskazał też na zróżnicowanie zależności między miejscowościami. Prawdopodobnie było to związane z różnymi warunkami wzrostu i uprawy kukurydzy, które wpływały na grubość i strukturę liścia, a w konsekwencji na absorpcję światła. Według Castillon [9], metoda, mimo że jest skomplikowana, będzie polecana farmerom francuskim, gdyż jest łatwiejsza niż metoda oparta na oznaczaniu zawartości N w soku roślinnym.

Krajowe badania wykonane w IUNG ze zbożami ozimymi i jarymi [5, 6, 16, 17] również potwierdzają przydatność pomiaru zawartości chlorofilu aparatem SPAD do oceny stanu odżywienia roślin i określenia wiosennej dawki azotu dla zbóż. Doniesienia zagraniczne [20] wskazują także na możliwość wykorzystania pomiaru zawartości chlorofilu za pomocą aparatu SPAD 502 w nawożeniu i hodowli traw.

Podsumowanie

Ocena stanu odżywienia roślin azotem była, jest i będzie przedmiotem licznych badań. Proste metody, takie jak ocena wizualna i ocena za pomocą testu barwnego na zawartość azotanów w soku roślinnym, z powodu małej dokładności i ich subiektywizmu mają ograniczoną przydatność diagnostyczną. Dokładniej stan odżywienia azotem można określić za pomocą testów roślinnych.

Podstawą oceny stanu odżywienia roślin azotem są w wielu krajach analizy chemiczne materiału roślinnego na zawartość tego składnika w suchej masie lub w świeżym materiale roślinnym. Ciągłe pozostaje tu jednak otwarta sprawa przyjęcia do analiz właściwych organów wskaźnikowych rośliny, jak i odpowiedniego wyboru terminu wykonywania oznaczeń. Różne są też wartości krytyczne lub wartości przedziału krytycznego uzyskane w badaniach, wynikające z interakcji zachodzących między czynnikami plonotwórczymi. Wielokrotne wykonywanie analiz chemicznych roślin w okresie wegetacji, w ściśle określonych fazach rozwojowych roślin, pozwala przybliżyć się do ustalenia optymalnego stanu odżywienia roślin azotem.

Także metoda DRIS, opierająca się na stosunkach zawartości poszczególnych składników w roślinie, jest dość skomplikowana i nie zawsze jest przydatna w diagnozowaniu odżywienia roślin azotem.

Ostatnio coraz częściej stosowane są niedestrukcyjne i możliwie szybkie metody oceny zaopatrzenia roślin w azot. Jedną z takich metod jest ocena oparta na pomiarze zawartości chlorofilu w liściach za pomocą aparatu Hydro N-tester SPAD 502, która umożliwia stosowanie bardziej racjonalnego nawożenia azotem.

Literatura

- [1] Bar-Akiva A., Sagiv J., Leshem J. 1970. Nitrate reductase activity as an indicator for assessing the nitrogen requirement of grass crops. *J. Sci. Fd. Agric.* 21: 405–407.
- [2] Bar-Akiva A., Sternbaum J. 1965. Possible use of nitrate reductase activity of leaves as a measure of nitrogen requirement of citrus trees. *Pl. Cell. Physiol.* 6: 575–577.
- [3] Beevers L., Hageman R. H. 1969. Nitrate reduction in higher plants. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 29: 495–522.
- [4] Beverly R. B. 1993. Re-evaluation reveals weaknesses of DRIS and sufficiency range diagnoses for wheat, corn and alfalfa. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 24, 5–6: 487–501.
- [5] Bezdusznik D. 1995. Possibility of chlorophyll meter test calibration to predict nitrogen status of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frag. Agron.* 2(46): 150–151.
- [6] Bezdusznik D. 1997. Ocena stanu odżywienia pszenicy ozimej azotem na podstawie pomiaru zawartości chlorofilu metodą optyczną (SPAD). Praca doktorska. ss. 78.
- [7] Blackmer T. M., Schepers J. S. 1995. Use of a chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. *J. Prod. Agric.* 8: 56–60.
- [8] Bodilis A. M., Bouthier A., Castillon P., Laurent F., Desvignes P. 1998. Pilotage de la fertilisation azotée avec Jubil. La gamme s'élargit. *Perspectives Agricoles* 236: 57–63.
- [9] Castillon P. 1998. Using a chlorophyll meter to assess the nitrogen nutrition status of maize. Short communications Fifth Congress ESA. Vol. II: 334–335.
- [10] Cerling V. V. 1985. Metodika diagnostirovanija potrebnosti rastenij w azote. *Pocvovedenie* 1: 68–74.
- [11] Chojnacki A., Fotyma E. 1981. Określenie wielkości uzupełniającej dawki azotu pod zboża na podstawie analizy chemicznej materiału roślinnego. *Pam. Puł.* 76: 107–117.

- [12] Chojnacki A. 1984. Uściślenie wielkości drugiej wiosennej dawki azotu pod zboża. Wyd. IUNG Puławy, Instr. upow. 5/84: ss. 21.
- [13] Faber A., Chojnacki A., Kryszkowska T. 1989. Ocena stanu odżywienia buraka cukrowego na podstawie analizy chemicznej roślin. *Pam. Puł.* 94: 29–40.
- [14] Faber A., Chojnacki A., Kryszkowska T. 1989. Określenie wielkości wiosennej dawki azotu pod rzepak na podstawie analizy roślin. *Pam. Puł.* 95: 109–124.
- [15] Faber A., Filipiak K., Kryszkowska T. 1988. Zalecenia nawozowe. Część III. Kontrola stanu odżywienia roślin metodą DRIS. Wyd. IUNG Puławy, seria P(37): ss. 35.
- [16] Fotyma E. 2000. Zasady nawożenia azotem z wykorzystaniem testów glebowych i roślinnych. *Nawozy i nawożenie* 3(4), 3a: 19–37.
- [17] Fotyma E., Fotyma M., Bezdusznik D. 1998. Chlorophyll meter (SPAD-502, Minolta) a new tool for evaluating the nitrogen nutritional status of cereals. Short communications Fifth Congress ESA. Vol. II: 304–305.
- [18] Fotyma E., Pecio A. 1999. Zależność pomiędzy zawartością azotu a nagromadzeniem suchej masy przez zboża. *Pam. Puł.* 114: 93–100.
- [19] Fox R. H., Roth G. W., Iversen K. V., Piekielek W. P. 1989. Soil and tissue nitrate tests compared for predicting soil nitrogen availability to corn. *Agron. J.* 81: 971–974.
- [20] Gaborcik N. 1998. The possibilities of chlorophyllometer use in crop nutrition and breeding. *Polnohospodarska Vyroba a Skusobnictvo* 6(4): 30–31.
- [21] Geyer B., Marschner H. 1990. Charakterisierung des Stickstoffversorgungsgrades bei Mais mit Hilfe des Nitrat-Schnelltests. *Z. Pflanzenernahr. Bodenk.* 153: 341–348.
- [22] Greenwood D., Lemaire G., Gosse G., Cruz P., Draycott A., Neeteson J.J. 1990. Decline in percentage N of C₃ and C₄ crops with increasing plant mass. *Ann. Bot.* 66: 425–436.
- [23] Greenwood D. J., Neeteson J. J., Draycott A. 1986. Quantitative relationship for the dependence of growth rate of arable crops on their nitrogen content, dry weight and aerial environment. *Plant and Soil* 91: 282–301.
- [24] Justes E. 1992. Diagnosis of nitrogen nutrition status of a winter wheat crop by „nitrate test” with nitrogen dilution curve during the growth. Proc. 2nd ESA Congress, Warwick Univ.: 262–263.
- [25] Justes E., Mary B., Meynard J.M., Machet J.M., Thelier-Huche L. 1994. Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter wheat crops. *Ann. Bot.* 74: 397–407.
- [26] Klepper L. 1974. A mode of action of herbicides: Inhibition of the normal process of nitrate reduction. *Research Bull.* 259: ss. 42.
- [27] Kruczek A. 1996. Ilościowe zależności pomiędzy produkcją suchej masy kukurydzy a zawartością azotu ogólnego. *Frag. Agron.* 4(52): 92–99.
- [28] Kruczek A. 1996. Zmiany zawartości różnych form azotu w częściach nadziemnych kukurydzy w zależności od nawożenia azotowego i fazy rozwojowej. *Post. Nauk Rol.* 43/48 5: 67–77.
- [29] Kummerova M., Buczek J. 1983. Nitrate reductase and acid phosphatase activities as affected by inorganic phosphate in corn roots. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 52(1): 77–86.
- [30] Lemaire G., Charrier X., Hebert Y. 1996. Nitrogen uptake capacities of maize and sorghum crops in different nitrogen and water supply conditions. *Agronomie* 16: 231–246.

- [31] Machul M. 2000. Zastosowanie pomiaru zawartości chlorofilu aparatem SPAD-502 do oceny stanu odżywienia kukurydzy azotem. Maszynopis: ss. 11.
- [32] Mengel K., Kirkby E.A. 1983. Podstawy żywienia roślin. PWRiL, Warszawa: ss. 527.
- [33] Nitsch A. 1989. Nawożenie azotowe kukurydzy. *Kukurydza* 1: 11–12.
- [34] Piekielek W. P., Fox R. H. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. *Agron. J.* 84: 59–65.
- [35] Vilemeyer H. P., Fotyma M. 1989. Stan i perspektywy diagnostyki potrzeb nawozowych na podstawie analizy roślin. *Frag. Agron.* 1(21): 5–32.
- [36] Waskom R. M., Westfall D. G., Spellman D. E., Soltanpour P. N. 1996. Monitorinig nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 27, 3/4: 545–560.
- [37] Wojcieszka U., Wolska E., Król M. 1981. Wielkość i struktura plonu oraz aktywność reduktazy azotanowej u kilku odmian owsa w zależności od dawki azotu. *Pam. Puł.* 75: 31–43.
- [38] Wojcieszka U., Wolska E., Giza A. 1991. Wpływ żywienia azotem na plon pszenicy jarej i na aktywność reduktazy azotanowej jako wskaźnika zaopatrzenia roślin w azot. *Pam. Puł.* 98: 23–38.
- [39] Wojcieszka U., Wolska E. 1991. Aktywność reduktazy azotanowej jako wskaźnik zaopatrzenia w azot pszenżyta ozimego i jęczmienia ozimego. *Pam. Puł.* 99: 107–115.
- [40] Wojcieszka U., Wolska E., Giza A. 1992. Aktywność reduktazy azotanowej w poszczególnych organach roślin pszenżyta. *Pam. Puł.* 100: 87–99.

Evaluating nitrogen nutrition status of plants by application of plant tests

Key words: plant tests, nitrogen content, nitrate reductase, SPAD test

Summary

Nitrogen nutrition status of plants can be assessed either by direct or indirect tests. Direct tests consist in determination of total-N content in plant dry matter or N-NO₃ content in green, indicator organs of the plants. Activity of nitrate reductase as well as the chlorophyll content in leaves are measured by indirect tests. Recently a fast and non-destructive chlorophyll measurement test with SPAD application is becoming more and more important.