

## WPŁYW PROCESU BIOLOGICZNEJ REDUKCJI N<sub>2</sub> NA POBRANIE AZOTU PRZEZ RUTWICĘ WSCHODNIĄ (*Galega orientalis* Lam.)

Barbara Symanowicz, Janusz Pała, Stanisław Kalembasa  
Akademia Podlaska w Siedlcach

**Streszczenie.** Brak danych dotyczących ilości azotu związanego przez bakterie brodawkowe (*Rhizobium galegae*), żyjące w symbiozie z rutwicą wschodnią (*Galega orientalis* Lam.), skłonił autorów do podjęcia badań w tym zakresie. W 2004 roku w doświadczeniu polowym wieloletnim (na glebie kulturoziemnej) określono ilościowo azot pochodzący z biologicznej redukcji N<sub>2</sub> metodą izotopowego rozcieńczenia. Było to możliwe dzięki zastosowaniu na początku wegetacji azotu <sup>15</sup>N w ilości 2 g na 1 m<sup>2</sup> w formie CO(<sup>15</sup>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> o wzbogaceniu 12,12 at % <sup>15</sup>N na rutwicę i kukurydzę. Próby rutwicy pobierano w fazie: pąkowania, kwitnienia, końca kwitnienia i dojrzałości pełnej. Określono plon liści, łodyg i strąków, oznaczono azot ogółem, at % <sup>15</sup>N i obliczono ilość N pochodzącą z powietrza. Średni plon liści rutwicy wynosił 8,6 t·ha<sup>-1</sup> s.m., łodyg – 6,4 t·ha<sup>-1</sup> s.m., a strąków – 0,2 t·ha<sup>-1</sup> s.m. Zawartość azotu w poszczególnych częściach roślin kształtowała się następująco: w liściach – 32,7 g·kg<sup>-1</sup>, łodygach – 16,1 g·kg<sup>-1</sup> i strąkach 45,0 g·kg<sup>-1</sup>. Ilość azotu biologicznie zredukowanego przez części nadziemne rutwicy wschodniej wynosiła 312,3 kg N·ha<sup>-1</sup>, co stanowiło 89,2% azotu ogółem.

**Słowa kluczowe:** rutwica wschodnia, kukurydza, biologiczna redukcja N<sub>2</sub>, azot

### WSTĘP

Proces biologicznej redukcji azotu cząsteczkowego polega na włączeniu azotu molekularnego do systemu biologicznego. Taką zdolność posiadają bakterie z grupy *Rhizobium*, żyjące w symbiozie z roślinami motylkowymi, ale także bakterie swobodnie żyjące (*Azotobacter*, *Clostridium*) oraz grzyby (*Rhizopus*) i promieniowce (*Streptomyces*) [Kalembasa 1995]. Ich wspólną cechą jest to, że zawierają nitrogenazę – podstawowy enzym odpowiedzialny za asymilację azotu elementarnego. Nitrogenaza składa się z dwóch kompleksów białkowych. Białko zawierające Mo-Fe jest enzymem reduku-

jącym N<sub>2</sub>, natomiast białko zawierające tylko Fe dostarcza elektronów potrzebnych do redukcji.

W ostatnich latach z dużym zainteresowaniem prowadzi się badania z rutwicą wschodnią (wieloletnią rośliną motylkową), pochodzącą z Kaukazu lub Estonii [Ignaczak 1997, 1999a, b, Andrzejewska i Ignaczak 2001, Kalembasa i Symanowicz 2003]. Roślina ta może być uprawiana na zielonkę, susz, koncentrat białkowy, jako roślina energetyczna [Kalembasa i Symanowicz 2001, Kalembasa i in. 2003], może być również stosowana do konserwacji potencjalnych odłogów.

Celem badań było określenie wpływu procesu biologicznej redukcji N<sub>2</sub> na pobranie azotu przez rutwicę wschodnią.

## MATERIAŁ I METODY

W roku 2004 w wieloletnim doświadczeniu polowym (na glebie kulturoziemnej) wykonywanym w obiekcie szklarniowym należącym do Akademii Podlaskiej w Siedlcach określono ilościowo możliwości biologicznej redukcji N<sub>2</sub> z zastosowaniem metody izotopowego rozcieńczenia. Gleba zawierała 11,5 g·kg<sup>-1</sup> węgla w związkach organicznych oraz 1,66 g·kg<sup>-1</sup> azotu całkowitego. pH w 1 mol KCL·dm<sup>-3</sup> wynosiło 6.6. Zasobność gleby w przyswajalne formy fosforu i potasu (obliczona według metody Egnera-Riehma) była wysoka (80 mg·kg<sup>-1</sup> P i 140 mg·kg<sup>-1</sup> K), a magnezu – oznaczona metodą Schachtschabela – średnia (50 mg·kg<sup>-1</sup> Mg). Na początku wegetacji 2004 roku zastosowano azot <sup>15</sup>N w ilości 2 g na m<sup>2</sup> w formie CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, o wzbogaceniu 12,12 at % <sup>15</sup>N na rutwicę i kukurydzę. Próby biomasy rutwicy z 1 m<sup>2</sup> pobierano w fazach: pąkowania, pełni kwitnienia, końca kwitnienia i dojrzałości pełnej. Równocześnie pobrano próby kukurydzy – rośliny kontrolnej, nie posiadającej zdolności biologicznej redukcji N<sub>2</sub>. Określono plon suchej masy rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.). Następnie próby zmieniono i oznaczono azot ogółem metodą Kiejdahla, at % <sup>15</sup>N na spektrofotometrze NOI – 6E i obliczono ilość azotu pochodzącego z powietrza w wyniku biologicznej redukcji N<sub>2</sub> [Kalembasa 1995]. Wyniki oznaczeń opracowano statystycznie, wykorzystując analizę wariancji, a istotne różnice obliczono za pomocą testu Tukeya przy poziomie istotności p = 0,05.

## WYNIKI

Dane dotyczące opadów i temperatury powietrza w sezonie wegetacyjnym 2004 r. podano w tabeli 1. Suma opadów w okresie wegetacji była niższa o 53 mm od sumy wieloletniej. Niską ilość opadów odnotowano w czerwcu, lipcu i wrześniu. Średnia miesięczna temperatura kształtowała się na poziomie zbliżonym do danych wieloletnich.

Średni plon suchej masy liści rutwicy wschodniej wynosił 8,6 t·ha<sup>-1</sup>, łądyg – 6,4 t·ha<sup>-1</sup>, a strąków – 0,2 t·ha<sup>-1</sup> i był istotnie zróżnicowany dla badanych czynników oraz ich współdziałania (tab. 2). Plon liści stanowił 56,6% plonu całkowitego. Najwyższe plony suchej masy liści uzyskano w fazie kwitnienia, natomiast łądyg – w końcowej fazie kwitnienia. Obliczenia statystyczne wykazały istotne różnice zawartości azotu ogółem pomiędzy poszczególnymi fazami rozwojowymi oraz częściami rutwicy wschodniej (tab. 2). Rozpatrując poszczególne fazy rozwojowe należy stwierdzić jednoznacznie, iż

najwyższą zawartość azotu oznaczono w próbach liści i łodyg w fazie pąkowania, natomiast w strąkach – w fazie dojrzałości pełnej.

Tabela 1. Opady atmosferyczne i temperatura powietrza w 2004 roku, dane z punktu pomiarowego w Siedlcach

Table 1. Rainfall and air temperature in 2004 reported by the measurement centre in Siedlce

Maj May	Czerwiec June	Lipiec July	Sierpień August	Wrzesień September	Suma lub średnia Total or mean
Miesięczna suma opadów – Total monthly rainfall, mm					
81,6	45,2	43,5	69,3	17,5	257,1
Suma miesięczna wieloletnia opadów – Multiyear total monthly rainfall, mm					
53,0	72,7	69,9	62,1	52,4	310,1
Średnia miesięczna temperatura – Monthly temperature mean, °C					
11,5	15,2	17,4	18,7	13,0	12,6
Średnia wieloletnia temperatura – Multiyear temperature mean, °C					
13,3	16,2	17,8	17,2	12,7	12,9

Tabela 2. Plon suchej masy rutwicy wschodniej ( $t \cdot ha^{-1}$  s.m.) oraz zawartość azotu ogółem ( $g \cdot kg^{-1}$ )

Faza rozwojowa Development stage	Plon suchej masy – Dry matter yield $t \cdot ha^{-1}$			Zawartość azotu – Nitrogen content $g \cdot kg^{-1}$		
	liści leaves	łodyg stems	strąków pods	w liściach in leaves	w łodygach in stems	w strąkach in pods
Pąkowanie Budding	5,6	3,3	–	39,4	27,9	–
Kwitnienie Flowering	10,2	5,0	–	35,4	17,7	–
Koniec kwitnienia End of flowering	10,1	9,1	–	29,2	8,2	–
Dojrzałość pełna Full ripeness	8,6	8,1	0,2	26,8	10,5	45,0
Średnia – Mean	8,6	6,4	0,2	32,7	16,1	45,0
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> dla – for:						
fazy rozwojowej – development stage (A)			1,9	3,1		
części rośliny – plant parts (B)			1,5	2,4		
interakcji – interaction:						
B x A			3,0	4,8		
A x B			3,3	5,3		

Średnie pobranie azotu z plonem suchej masy rutwicy wynosiło  $367,9 \text{ kg N} \cdot ha^{-1}$  (tab. 3). Istotne różnice w pobraniu azotu wystąpiły pomiędzy częściami roślin oraz dla współdziałania faz rozwojowych i części roślin. Liście rutwicy pobrały z plonem około 3,2 razy więcej azotu niż łodygi.

W tabeli 4 przedstawiono atomowy procent wzbogacenia (at %  $^{15}N$  wzbogacenia) w poszczególnych fazach rozwojowych i częściach rutwicy wschodniej. Wartości te obliczono z różnicy między ilością azotu wyrażonego w at %  $^{15}N$  badanej próby i standardu (azotu zawartego w powietrzu –  $0,3663 \text{ } ^{15}N$ ). Obliczenia statystyczne wykazały istotne zróżnicowanie wzbogacenia izotopem  $^{15}N$  w rutwicy wschodniej dla badanych

czynników oraz ich współdziałania. Najwyższe wzbogacenie izotopem  $^{15}\text{N}$  oznaczono w fazie pąkowania w liściach – 0,196. Wraz ze wzrostem i rozwojem rutwicy wzbogacenie malało, a najniższe wartości osiągnęło w fazie pełnej dojrzałości. Podobne zależności w uzyskanych wynikach wystąpiły dla łądyg. Należy przypuszczać, że obniżenie wzbogacenia izotopem  $^{15}\text{N}$  związane było z jego rozcieńczeniem w plonie rutwicy. Atomowy procent wzbogacenia, oznaczony w fazie dojrzałości pełnej w liściach, łądygach i strąkach, kształtował się na zbliżonym poziomie 0,076-0,078.

Tabela 3. Pobranie azotu z plonem suchej masy rutwicy wschodniej,  $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$   
Table 3. Uptake of nitrogen in the yield of dry matter of goat's rue,  $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$

Faza rozwojowa Development stage	Pobranie azotu z plonem Uptake of nitrogen in the yield $\text{kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$			Suma Total
	liści – leaves	łądyg – stems	strąków – pods	
Pąkowanie – Budding	220,1	92,6	–	312,7
Kwitnienie – Flowering	354,3	86,0	–	440,3
Koniec kwitnienia – End of flowering	294,1	74,4	–	368,5
Dojrzałość pełna – Full ripeness	228,7	85,5	9,0	323,2
Średnia – Mean	274,3	84,6	9,0	367,9
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> dla – for:				
fazy rozwojowej – development stage (A)				ni – ns
części rośliny – plant parts (B)				36,4
interakcji – interaction:				
B x A				72,8
A x B				80,4

ni – ns – różnice nieistotne – non-significant differences

Tabela 4. Atomowy procent wzbogacenia (at %  $^{15}\text{N}$  wzbogacenie) w rutwicy wschodniej  
Table 4. At %  $^{15}\text{N}$  enrichment in goat's rue

Faza rozwojowa Development stage	At % $^{15}\text{N}$ wzbogacenie – At % $^{15}\text{N}$ enrichment		
	liście – leaves	łądygi – stems	strąki – pods
Pąkowanie – Budding	0,196	0,129	–
Kwitnienie – Flowering	0,102	0,096	–
Koniec kwitnienia – End of flowering	0,087	0,085	–
Dojrzałość pełna – Full ripeness	0,078	0,078	0,076
Średnia- Mean	0,116	0,097	0,076
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> dla – for:			
fazy rozwojowej – development stage (A)	0,025		
części rośliny – plant parts (B)	0,020		
interakcji – interaction:			
B x A	0,039		
A x B	0,043		

W badaniach oznaczono także wzbogacenie izotopem  $^{15}\text{N}$  w kukurydzy, roślinie kontrolnej, nie posiadającej możliwości biologicznej redukcji  $\text{N}_2$ . Wzbogacenie to osiągnęło wartość – 0,7.

Procentowy udział azotu ogółem w rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.), pochodzący z powietrza w wyniku biologicznej redukcji, był istotnie zróżnicowany w fazach rozwojowych i poszczególnych częściach roślin, a także dla współdziałania badanych czynników (tab. 5). Największe wartości uzyskano dla dojrzałości pełnej w badanych częściach roślin – 88,9-89,2%.

Tabela 5. Procentowy udział azotu ogółem w rutwicy wschodniej, pochodzący z powietrza w wyniku biologicznej redukcji N<sub>2</sub>

Table 5. Percentage share of total nitrogen in goat's rue from the air as a result of biological reduction of N<sub>2</sub>

Faza rozwojowa Development stage	% N ogółem z biologicznej redukcji N <sub>2</sub> % total N from biological reduction of N <sub>2</sub>		
	liście – leaves	łodygi – stems	strąki – pods
Pąkowanie – Budding	72,0	81,6	–
Kwitnienie – Flowering	85,4	86,3	–
Koniec kwitnienia – End of flowering	87,6	87,9	–
Dojrzałość pełna – Full ripeness	88,9	88,9	89,2
Średnia – Mean	83,4	86,2	89,2
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> dla – for:			
fazy rozwojowej – development stage (A)	3,6		
części rośliny – plant parts (B)	2,8		
interakcji – interaction:			
B x A	5,6		
A x B	6,2		

Rutwica wschodnia podczas okresu wegetacyjnego pobrała z powietrza w wyniku biologicznej redukcji N<sub>2</sub> średnio 312,3 kg N·ha<sup>-1</sup> (tab. 6). Badane czynniki oraz ich współdziałanie istotnie różnicowało ilość azotu pochodzącego z powietrza. Największe ilości oznaczono w fazie kwitnienia (379,7 kg N·ha<sup>-1</sup>) i w liściach (305,0 kg N·ha<sup>-1</sup>). Rutwica wschodnia zgromadziła w liściach 74,1%, w łodygach 23,3 i w strąkach 2,6% ogólnej ilości azotu biologicznie zredukowanego.

Tabela 6. Ilość azotu biologicznie zredukowanego przez rutwicę wschodnią, kg N·ha<sup>-1</sup>

Table 6. Amount of nitrogen biologically reduced by goat's rue, kg N·ha<sup>-1</sup>

Faza rozwojowa Development stage	Liście Leaves	Łodygi Stems	Strąki Pods	Suma Total
Pąkowanie – Budding	158,8	75,5	–	234,3
Kwitnienie – Flowering	305,0	74,7	–	379,7
Koniec kwitnienia – End of flowering	258,9	65,1	–	324,0
Dojrzałość pełna – Full ripeness	203,1	76,2	8,0	287,3
Średnia – Mean	231,4	72,9	8,0	312,3
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub> dla – for:				
fazy rozwojowej – development stage (A)	45,8			
części rośliny – plant parts (B)	35,9			
interakcji – interaction:				
B x A	71,8			
A x B	79,3			

## DYSKUSJA

Wysokie plony rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) w ósmym roku jej uprawy potwierdziły wyniki badań Ignaczaka [1999b], Sienkiewicza i in. [1999] oraz Kalembasy i Symanowicz [2003]. Andrzejewska i Ignaczak [2001] uzyskali mniejszą zawartość azotu w częściach nadziemnych rutwicy w doświadczeniu wazonowym (0,81-2,33%). Natomiast Symanowicz i Kalembasa [2003] w doświadczeniu polowym, w którym nasiona rutwicy były infekowane *Rhizobium galegae*, oznaczyli znacznie wyższe ilości azotu ogółem (39,0-43 g·kg<sup>-1</sup> s.m.). Wyniki badań własnych dotyczące zawartości azotu są zbliżone do wyników Ignaczaka [1999a], jakie uzyskał dla pierwszego i drugiego pokosu. Wysoki procentowy udział azotu ogółem pochodzący z powietrza w wyniku biologicznej redukcji znalazł potwierdzenie w badaniach Andrzejewskiej i Ignaczaka [2001].

## PODSUMOWANIE

Uzyskane w ósmym roku badań wysokie plony suchej masy rutwicy wschodniej świadczą o doskonałych warunkach adaptacyjnych tej rośliny.

Wysoka zawartość azotu ogółem w poszczególnych częściach rutwicy potwierdza intensywność procesu biologicznej redukcji azotu cząsteczkowego, bez potrzeby dodatkowego mineralnego nawożenia azotem. Przedstawione w pracy wyniki wskazują, że najkorzystniejszy jest zbiór rutwicy w fazie kwitnienia.

Duża ilość azotu biologicznie zredukowanego przez rutwicę wschodnią w fazie kwitnienia (379,7 kg N·ha<sup>-1</sup>) wskazuje na wysoką opłacalność i możliwość uprawy tej rośliny na cele paszowe w warunkach Podlasia.

## PIŚMIENNICTWO

- Andrzejewska J., Ignaczak S., 2001. Effectiveness of symbiosis between fodder galega (*Galega orientalis* Lam.) and *Rhizobium galegae* on follow land. EJPAU, Agronomy 4(2), www.ejpau.media.pl.
- Ignaczak S., 1997. Porównanie tradycyjnego i ekstensywnego systemu użytkowania rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) Biul. Oceny Odmian 29, 143-148.
- Ignaczak S., 1999a. Wartość przedplonowa rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) Zesz. Nauk. ATR w Bydgoszczy, Rolnictwo 44, 125-130.
- Ignaczak S., 1999b. Wartość zielonki z rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) jako surowca dla różnych form paszy. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 468, 145-157.
- Kalembasa S., 1995. Zastosowanie izotopów <sup>15</sup>N i <sup>13</sup>N w badaniach gleboznawczych i chemiczno-rolniczych. WNT Warszawa.
- Kalembasa S., Symanowicz B., 2001. The possible utilization of *Galega orientalis* Lam. Corp for the energy purpose. International Workshop on Bioenergy for rural area development, Warszawa.
- Kalembasa S., Symanowicz B., 2003. Wpływ infekcji nasion rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) na plon suchej masy i wartość energetyczną. Acta Sci. Pol., Agricultura 2(2), 157-162.
- Kalembasa S., Symanowicz B., Kalembasa D., Malinowska E., 2003. Możliwość pozyskania i przeróbki biomasy z roślin szybko rosnących (energetycznych). II Międzynarodowa i XIII

- krajowa konf. nauk. techn. Nowe spojrzenie na osady ściekowe – odnawialne źródła energii. Konferencje 49, 358-364.
- Sienkiewicz S., Wojnowska T., Pilejczyk D., 1999. Plonowanie rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) oraz zawartość związków organicznych w zależności od zróżnicowanego nawożenia fosforowo-potasowego. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 468, 223-232.
- Symanowicz B., Kalembasa S., 2003. „Goats rue” (*Galega orientalis* Lam.) a plant with multi-directional possibilities of use of agriculture. Part I. The influence of seed inoculation on the yield and the content of nitrogen, protein, ash and crude fiber. Polish J. Soil Sci. XXXVI (1), 65-70.

### **INFLUENCE OF BIOLOGICAL REDUCTION OF N<sub>2</sub> ON THE UPTAKE OF NITROGEN BY GOAT’S RUE (*Galega orientalis* Lam.)**

**Abstract.** No available data on the amount of nitrogen fixed by nodule bacteria (*Rhizobium galegae*) living in symbiosis with goat’s rue (*Galega orientalis* Lam.) encouraged the present authors to undertake applicable examinations. In 2004 in a multi-year field experiment (cultural soil) there was determined the amount of nitrogen from the reduction of N<sub>2</sub> with the isotopic dilution method. It was possible due to the application of <sup>15</sup>N at the dose of 2 g per 1 m<sup>2</sup> in a form of CO (<sup>15</sup>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> enriched with 12.12 at % <sup>15</sup>N to goat’s rue and maize at the beginning of the vegetation period. The samples of goat’s rue were taken at the following stages: budding, flowering, end of flowering and full ripeness. The leaf, stem and pod yields were determined and the total nitrogen at % <sup>15</sup>N was defined as well as the amount of N fixed from the air was calculated. The mean yield of goat’s rue leaves reached 8.6 t·ha<sup>-1</sup> of dry matter, of stems – 6.4 t·ha<sup>-1</sup> of dry matter, and pods – 0.2 t·ha<sup>-1</sup> of dry matter. The content of nitrogen in respective plant parts was as follows: in leaves – 32.7 g·kg<sup>-1</sup>, stems – 16.1 g·kg<sup>-1</sup> and in pods 45.0 g·kg<sup>-1</sup>. The amount of nitrogen fixed by goat’s rue aboveground parts was 312.3 kg N·ha<sup>-1</sup>, which accounted for 89.2% of total nitrogen.

**Key words:** goat’s rue, maize, biological reduction of N<sub>2</sub>, nitrogen

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 20.12.2005