

EFFECT OF WATER STRESS ON NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN THE LEAVES OF SPRING BARLEY FERTILIZED WITH NITROGEN

VPLYV VODNÉHO STRESU NA AKTIVITU NITRÁTREDUKTÁZY V LISTOCH JARNÉHO JAČMEŇA HNOJENÉHO DUSÍKOM

Krček M., Slamka P.

Katedra agrochémie a výživy rastlín, FAPZ, Slovenská poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra Slovenská republika

E-mail: krcek1@post.sk, Pavol.Slamka@uniag.sk

ABSTRACT

Effect of nitrogen rates on NRA (nitrate reductase activity) in leaves of spring barley was investigated in pot vegetation trial at atmospheric conditions. There were applied the following rates of N per pot: 0,0 g (var. 1, control), 1g (var. 2), 2g (var. 3) in the form of liquid N-fertilizers DAM – 390. Each investigated variant was 4 times repeated. The plants were grown under optimum water moisture regime and drought stress was applied during the duration of growth stage of tillering, shooting and earing respectively. Samples of plant material were taken after stress finishing in respective growth stages. One year results indicate that NRA in spring barley leaves was in all fertilized and unfertilized treatments significantly higher under optimal water regime than in respective treatments in which the plants were exposed to drought stress. Applied nitrogen fertilization particularly higher rate of N alleviated adverse effect of applied drought stress during investigated growth stages in comparison to unfertilized control. The most drought stress sensitive growth stage seems to be shooting where NR activity was not stimulated significantly by N-fertilizing. However if the moisture conditions during this growth stage were optimum effect of N-fertilization resulted in the highest values of NR activity.

Keywords: nitrate reductase activity (NRA), drought stress, growth stage, spring barley, N-fertilisation

ABSTRAKT

V pokuse sme sledovali účinok dávok dusíka na aktivitu nitrátreduktázy (NRA) v listoch jarného jačmeňa. Pokus bol založený vo vegetačných nádobach realizovaný v atmosferických podmienkach vo vegetačnej kletke. Aplikovali sme nasledovné dávky dusíka na nádobu: 0 g (var. 1- kontrola), 1 g na nádobu (variant 2) a 2 g na nádobu (variant 3). Na hnojenie sme použili kvapalné dusikaté hnojivo DAM-390. Každý variant sme štyri krát opakovali. Rastliny sme pestovali v optimálnych vlhkostných podmienkach a stresu zo sucha boli vystavené počas celej rastovej fázy odnožovania, steblovania a klasenia. Jednoročné výsledky ukázali, že NRA v listoch jačmeňa na hnojených a nehnojených variantoch bola preukazne vyššia pri

optimálnom vodnom režime v porovnaní s tými istými variantami, na ktorých boli rastliny vystavené deficitu vody (sucho). Aplikované dusíkaté hnojenie, zvlášť vyššia dávka dusíka znižovala negatívny účinok stresu zo sucha na rastliny v skúmaných rastových fázach. Najcitlivejšou rastovou fázou z hľadiska vodného stresu bolo steblovanie počas ktorého NRA nebola N- hnojením významne stimulovaná.

Kľúčové slova: aktivita nitrátreduktázy (NRA), vodný stres, rastová fáza, jačmeň jarný, N- hnojenie

ÚVOD

Dusík je jednou z najdôležitejších minerálnych živín pre rastliny a je dominantne prijímaný v anorganických formách (NH_4^+ , NO_3^-) koreňovým systémom. Rastliny asimilujú dusík na rast, produkciu biomasy a vývoj. Dusík absorbujú hlavne ako nitráty, ktoré sú najbežnejším zdrojom dusíka dostupným pre vyššie rastliny. Asimilácia nitrátov je primárnou cestou pri ktorej sa redukuje nahromadený dusík v rastline. To si vyžaduje následnú činnosť dvoch enzýmov: nitrátreduktázy (NR), cytoplazmatického enzýmu, ktorý redukuje nitráty na nitrity, pričom ako donor elektrónov slúži NAD(P)H a nitritreduktázy, plastidového enzýmu, ktorý redukuje dusitaný na amoniak (Druart et al., 2000). Redukcia nitrátov a ich ďalšia asimilácia je zapojená v hlavných metabolických funkciách (Crawford et. al., 1992). Aktivita nitrátreduktázy (NRA) je kvôli tomu považovaná za limitujúci faktor produkcie rastlinných proteínov, vývoja a rastu (Huppe and Turpin, 1994). Bola preskúmaná v rozmanitých druhoch plodín, pričom sa často poukazuje na jej zníženie v podmienkach vodného stresu (Dubey, Pessaraki, 1995). V rastlinách pestovaných na poli aplikácia vodného stresu spôsobila postupné znižovanie NRA v listoch (Kathju et. al., 1990). Títo autori tiež uvádzajú, že v pšenici, pri rastúcej intenzite vodného stresu, postupne od troch do deviatich dní sa znižuje aktivita NRA pri nižšom aj vyššom NP hnojení ako aj pri nehnojenom variante. Avšak aktivita bola vždy vyššia pri vyššej úrovni hnojenia rastlín ako pri menej hnojených variantoch. Pre aspoň čiastočnú elimináciu negatívneho vplyvu stresu zo sucha pre rastliny boli navrhnuté niektoré opatrenia. Pri narastaní pôdnej úrodnosti najmä aplikáciou dusíkatých hnojív môže byť účinok sucha značne znížený (Lahiri, 1980; Wang et. al., 2003).

Cieľom tejto práce bolo preskúmať účinky vodného stresu pri rôznych rastových fázach jarného jačmeňa a rôznej dusíkatej výživy na aktivitu NR.

MATERIÁL A METODIKA

Účinky vodného stresu a dusíkatej výživy na aktivitu NR v listoch jarného jačmeňa (odrody Kompakt) sme sledovali v nádobovom vegetačnom pokuse v atmosférických podmienkach.

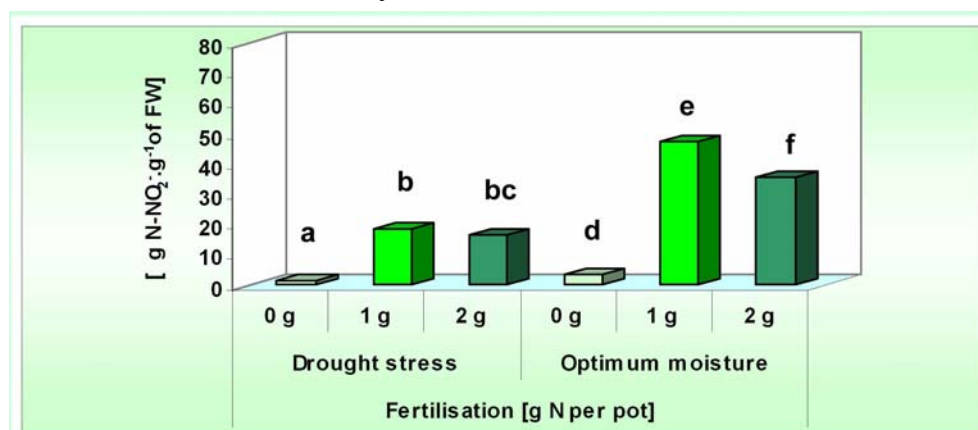
Nádoby sme naplnili osiatou pôdou (hnedozem-luvická, 16 kg pôdy na nádobu) s nasledovnými agrochemickými parametrami pH = 5,9; N_{in} = 11,3 ppm; P = 44 ppm; K = 224 ppm; Ca = 2026 ppm; Mg = 448 ppm. Aplikovali sme nasledovné dávky dusíka na nádobu:

0 g (var. 1- kontrola), 1 g na nádobu (variant 2) a 2 g na nádobu (var. 3). Použitou formou N-hnojiva bol DAM 390. Každý variant sme štyri krát opakovali. Rastliny sme pestovali v optimálnych vlhkostných podmienkach (60% PVK) a stresované rastliny sme vystavili suchu počas celej rastovej fázy odnožovania, steblovania a klasenia. Počas stresu množstvo vody v pôde bolo na úrovni 15-20% PVK. Po ukončení vodného stresu boli rastliny optimálne zavlažované až do konca vegetačného obdobia. Aktivita NR bola sledovaná metódou podľa Jaworského (1971) v modifikácii podľa Barkera (1974). Vzorky listov (0,2 g) sme umiestnili do 10 ml inkubačného roztoku obsahujúceho 0,1 M K-fosfátový pufr (pH 7,2; 0,1 M KNO₃ a 1-propanolu (1 obj.%) na dve hodiny pri 25 °C v tme. Vyfarbenie roztoku sme dosiahli pridaním kyseliny sulfanilovej a α -naftylamínu. Dosiahnutý farebný komplex sme stabilizovali octanom sodným. Absorbanciu sme merali kolorimetricky pri 520 nm. Výsledky sme štatisticky vyhodnotili pomocou Studentovho t-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dosiahnuté výsledky NRA v listoch jačmeňa na hnojených a nehnojených variantoch boli preukazne vyššie pri optimálnom vlhkostnom režime v porovnaní s rastlinami vystavenými stresu. Tieto výsledky sú zhodné so závermi Dubey a Pessarakli (1995). Klesajúca aktivita nitrátreduktázy v listoch pri stresovaných variantoch bola pozorovaná na konci každej sledovanej rastovej fázy, počas ktorej boli rastliny vystavené stresu. Keď bol jačmeň vystavený vodnému stresu počas odnožovania, dosiahol najväčšiu aktivitu NRA (18,9 $\mu\text{g N-NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1}$ zelenej hmoty) na variante 2. Avšak dvojnásobná úroveň hnojenia N pôsobila mierne depresívne na NRA.

Obr. 1 Aktivita nitrátreduktázy v listoch na konci odnožovania.

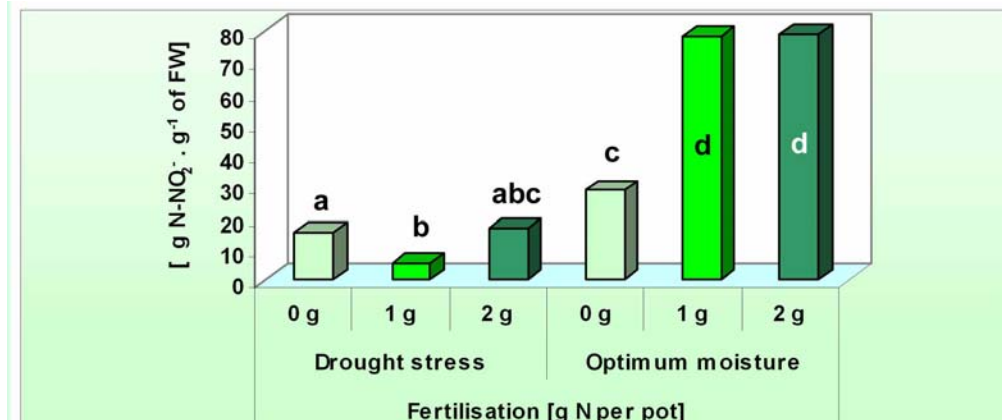


Poznámka: Rovnaké písmená nad stĺpcom vyjadrujú nepreukazné rozdiely medzi variantami

V rámci tejto rastovej fázy, ale v optimálnom vlhkostnom režime, hnojenie dusíkom (var. 2) preukazne zvyšovalo NRA (47,5 $\mu\text{g N-NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1}$), zatiaľ čo dvojnásobná dávka dusíka (var. 3) bola menej úspešná podobne ako v stresových podmienkach. V protiklade k vodnému stresu aplikovanému počas odnožovania sa zníženie účinku vodného stresu dusíkatým

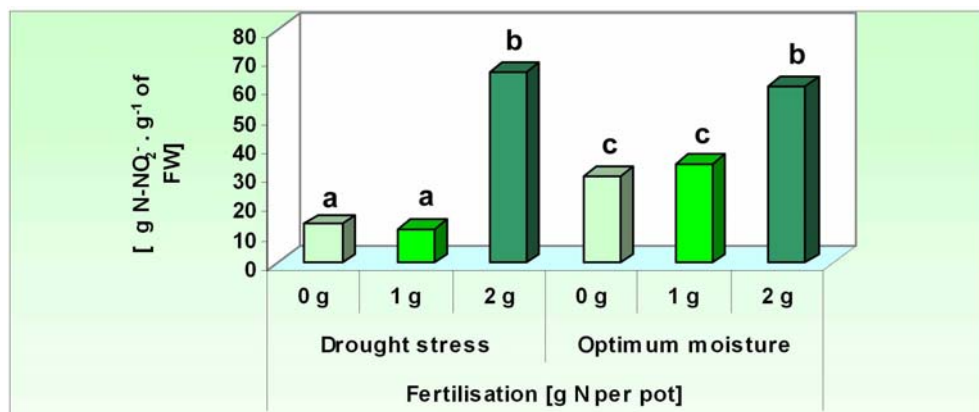
hnojením vyjadrené v hodnotách NRA prejavilo počas rastovej fázy steblovania až pri dávke 2g dusíka na nádobu (obr. 2).

Obr. 2 Aktivita nitrátreduktázy v listoch na konci steblovania.



Toto bolo pravdepodobne spôsobené zvýšenými požiadavkami jačmeňa na dusík v tejto rastovej fáze. Avšak účinok tejto dávky nebol štatisticky významne preukazný v porovnaní s kontrolným variantom. Keď boli vlhkostné pomery pri pestovaní jačmeňa optimálne, neboli v aktivite nitrátreduktázy medzi skúmanými dávkami dusíka zistené preukazné rozdiely. Veľmi priaznivý účinok na NRA bol zistený najmä počas rastovej fázy klasenia, kedy vyššia dávka dusíka (2 g na nádobu) štatisticky vysoko preukazne zvyšovala NRA v porovnaní s nižšou úrovňou hnojenia (1g N) pri optimálnych aj stresových podmienkach (obr. 3).

Obr. 3 Aktivita nitrátreduktázy v listoch na konci klasenia.



Tieto výsledky sa zhodujú so zisteniami Kathu a kol. (1990) a Pessarakli a kol. (1995). Aktivita enzýmu bola 65,5 $\mu\text{g N-NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1}$ zelenej hmoty pri dávke 2 g N v porovnaní s 11,7 $\mu\text{g N-NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1}$ pri dávke 1 g N na nádobu. Variabilita nameraných hodnôt NRA vyjadrená variačným koeficientom bola vyššia na stresovaných variantoch, predovšetkým v rastových fázach odnožovania a steblovania. V štádiu klasenia jačmeňa sme namerali vyššie variačné

koeficienty v podmienkach optimálneho vlhkostného režimu. Hnojenie znižovalo variabilitu NRA hodnôt v podmienkach optimálneho vlhkostného režimu všeobecne, v podmienkach stresu len v rastovej fáze klasenia (Tab. 1.)

Tab. 1 Variabilita nameraných hodnôt NRA

Water regime	Fertilization per pot	Tillering		Shooting		Earning	
		s	V(%)	s	V(%)	s	V(%)
Drought stress	0 g	0,4	25,6	2,0	13,2	4,7	35,0
	1 g	8,1	42,8	0,7	12,1	1,2	10,6
	2 g	6,2	37,1	8,5	51,6	8,7	13,3
Optimum moisture	0 g	1,7	48,8	6,4	22,3	9,8	32,9
	1 g	8,1	17,0	10,9	13,8	5,9	17,4
	2 g	5,2	14,4	7,3	9,2	12,2	20,0

s – smerodajná odchýlka, V – variačný koeficient

Dosiahnuté úrody zrna jačmeňa dosiahnuté na jednotlivých variantoch pokusu sú uvedené v tabuľke 2.

Tab. 2 Úroda zrna jarného jačmeňa g.nádoba⁻¹

Yield grain	Fertilization per pot	Drought stress during			Optimum moisture
		Tillering	Shooting	Earning	
g.pot ⁻¹	0 g	8,2	6,6	6,9	7
	1 g	27,4	13,7	4,4	18,31
	2 g	23,2	13,2	1,6	12,19

ZÁVERY

Jednoročné výsledky naznačujú, že NRA v listoch jarného jačmeňa bola na hnojených a nehnojených variantoch preukazne vyššia pri optimálnom vodnom režime ako na variantoch vystavených vodnému stresu. Aplikované dusíkaté hnojenie najmä pri jeho vyššej úrovni zmierňovalo nepriaznivé pôsobenie vodného stresu počas sledovaných rastových fáz v porovnaní s nehnojenou kontrolou. Na základe našich výsledkov sa na stres najcitlivejšou rastovou fázou javí steblovanie, počas ktorého sa aktivita nitrátreduktázy v listoch stresovaných rastlín v dôsledku N- hnojenia preukazne nezvyšovala v porovnaní s nehnojenou kontrolou. Avšak ak zavlažované podmienky počas tohto rastového štádia boli optimálne, účinky N-hnojenia mali za následok najvyššie hodnoty NRA. Vysoká schopnosť eliminácie stresu aplikáciou dusíka bola pozorovaná hlavne v poslednom sledovanom rastovom štádiu – v klasení pri vyššej dávke dusíka. Napriek tomu však účinok stresu práve v tejto rastovej fáze v najväčšej miere znižoval úrodu zrna jačmeňa pri obidvoch úrovniach hnojenia.

LITERATÚRA

1. CROWFORD, N. M. – WILKINSON, J. Q. – LaBRIE, S. T. 1992. Metabolic control of nitrate reduction in *Arabidopsis thaliana*. *Australian Journal of Plant Physiology* 19, 377-385.
2. DRUART, N. et al., 2000. Nitrate assimilation in chicory roots (*Cichorium intibus* L.) which acquire radial growth. *Journal of Experimental Botany*, vol. 51, No. 344, 2000, pp. 539-546
3. DUBEY, R. S. – PESSARAKLI, M. 1995. Physiological mechanisms of nitrogen absorption and assimilation in plants under stressful conditions. In: Pessarakli, M.: *Handbook of Plant and Crop Physiology*, 1995, pp. 605-625, ISBN-0-8247-9250-5
4. HUPPE, H. C.- TURPIN, D. H. 1994. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and alga cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45, 577-607.
5. KATHJU, S. – VYAS, S. P. – GARG, B. K. – LAHIRI, A. N. 1990. Fertility Induced Improvement in Performance and Metabolism of Wheat under Different Intensities of Water Stress. In: *Proceedings of the International Congress of Plant Physiology*, 1990, New Delhi, India, pp. 854-858
6. LAHIRI, A. N. 1980. In: *Adaptation of Plants to Water and Higher Temperature Stress* (N. C. Turner and P. J. Kramer, eds.), Wiley, New York, p. 341, 1980
7. SHANNER, D. L. – BOYER, J. S. 1976. *Plant Physiology*, 58: 505, 1976
8. WANG et al. 2003. Effects of limited water and N applications on physiological characteristics of winter wheat during later growth stages, (Abstracts) No 1-028, 2003, p. i10
9. WASNIK, K. G. – VARADE, P. B. – BAGGA, A. K. 1988. *Indian J. Plant Physiology*, 31: 324, 1986