

WPŁYW *FUSARIUM CULMORUM* NA ZAWARTOŚĆ CHLOROFILU  
W ZALEŻNOŚCI OD DAWKI AZOTU I SPOSOBU NAWOŻENIA

Piotr Szulc<sup>1</sup>, Magdalena Rybus-Zajac<sup>2</sup>, Hubert Waligóra<sup>1</sup>, Witold Skrzypczak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Uprawy Roli i Roślin, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu

<sup>2</sup>Katedra Fizjologii Roślin, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu

ul. Mazowiecka 45-46, 60-623 Poznań

e-mail: pszulc@au.poznan.pl

Streszczenie. Wazonowe doświadczenie przeprowadzono w latach 2004-2005 w Katedrze Uprawy Roli i Roślin Akademii Rolniczej w Poznaniu. Założono je w wazonach Mitscherlicha o objętości 10 dm<sup>3</sup>. Oceniano wpływ nawożenia azotem, sposobu jego stosowania oraz inokulacji grzybem *F. culmorum* na zawartość chlorofilu w fazie 3-4 oraz 4-5 liści roślin kukurydzy. Korzystniejszą metodą aplikacji nawozu okazał się sposób punktowy. W wyniku takiej metody wysiewu nawozu uzyskano większą zawartość chlorofilu w blaszkach liściowych kukurydzy, w porównaniu do wysiewu rzutowego. Inokulacja nasion grzybem wpłynęła na zmniejszenie ilości chlorofilu w liściach kukurydzy w badanych fazach rozwojowych.

Słowa kluczowe: kukurydza, azot, nawożenie startowe i rzutowe, inokulacja

WSTĘP

Jedną z najgroźniejszych chorób kukurydzy jest zgnilizna korzeni i zgorzel podstawy łodygi (Lisowicz i Tekiel 2004). Głównymi ich sprawcami są grzyby z rodzaju *Fusarium*, które żyją w glebie i w sprzyjających warunkach mogą wnikać poprzez korzenie do wnętrza rośliny. Zainfekowane rośliny żółkną, więdną i obumierają, a wschody roślin są przerzedzone. Jak podają (Czaplińska i Jasi 1980a, Czaplińska i Magryś 1984, Parry i in. 1995), obecność w glebie *F. culmorum* powoduje porażenie nasion i siewek kukurydzy oraz gnicie systemu korzeniowego, czego wyraźnym efektem jest zahamowany wzrost i rozwój takich roślin. Stosowanie zapraw nasiennych zmniejsza wprawdzie zagrożenie infekcją materiału siewnego, ale nie eliminuje całkowicie gnicia kielków, czego wyraźnym symptomem są puste miejsca na plantacji po obumarłych siewkach. Ciekawym

wym może być również poznanie wpływu grzybów z rodzaju *Fusarium* na stan odżywienia kukurydzy azotem we wczesnych fazach rozwojowych, poprzez określenie zawartości barwników absorbujących promienie świetlne.

W związku z powyższym podjęto badania, których celem było stwierdzenie, czy obecność w glebie grzyba *F. culmorum* wpłynie na zawartość chlorofilu w zależności od dawki azotu i sposobu nawożenia roślin kukurydzy.

#### MATERIAŁ I METODY

W latach 2004-2005 w dwóch seriach doświadczeń wazonowych przeprowadzonych szklarni w Katedrze Uprawy Roli i Roślin Akademii Rolniczej w Poznaniu, badano zawartość chlorofilu w fazach młodocianych w zależności od zasobności gleby w azot, sposobu stosowania azotu oraz inokulacji materiału siewnego kukurydzy grzybem *F. culmorum*. Założono je w układzie split-split-plot w czterech powtórzeniach, zgodnie z metodyką doświadczeń wazonowych (Żurbicki 1974). W doświadczeniu wysiano mieszańca PR 39 T 68 hodowli Pioneer. Badanymi czynnikami były: 4 dawki azotu w formie saletry amonowej (0,6; 1,2; 1,8 i 2,4 g N-wazon<sup>-1</sup>), 2 sposoby aplikacji nawozu – rzutowy na powierzchnię gleby i punktowy (zlokalizowany) 5 cm poniżej i 5 cm z boku nasienia), 2 rodzaje nasion kukurydzy (bez inokulacji oraz inokulowane *F. culmorum*).

Do inokulacji nasion zastosowano zawiesinę wodną (woda destylowana) *F. culmorum* z zarodnikami i grzybnią przygotowaną z 21 dniowych kultur hodowanych na pożywce glukozowo-ziemniaczanej (Czaplińska i Magryś 1984). Wyhodowane kultury miksowano, uzyskując mieszaninę infekcyjną z grzybni, zarodników i metabolitów grzybów. Nasiona moczono w zawieszynie zarodników przez 5 minut.

W doświadczeniu wykorzystano glebę płową, podtypu gleba płowa typowa, rodzaju glina zwałowa, gatunku piasku gliniastego średniego o następującym składzie chemicznym: 13 mg P·100 g<sup>-1</sup> sm gleby, 16,9 mg K·100 g<sup>-1</sup> sm gleby, 15,2 mg Mg·100 g<sup>-1</sup> sm gleby, pH w KCL 6,75. Siew kukurydzy każdego roku wykonano 20 kwietnia do wazonów Mitscherlicha o objętości 10 dm<sup>3</sup>. W każdym wazonie wysiano 5 nasion, a po wschodach wykonano przerywkę pozostawiając jedną roślinę. Pomiary biometryczne wykonano w fazach 3-4 i 4-5 liści. Fazę 3-4 liści kukurydza osiągnęła (średnio dla 2 lat badań) po 28 dniach od daty siewu, natomiast 4-5 liści (średnio dla 2 lat badań) po 33 dniach od daty siewu. Naważki liści cięto na 2-3 mm odcinki i zalewano 5 ml DMSO (Dimethyl sulfoxide). Próby pozostawiano na około 1 godzinę w ciemności, w temperaturze pokojowej, a następnie inkubowano w temperaturze 65°C (łaźnia wodna) przez 30 minut. W otrzymanym ekstrakcie po schłodzeniu, oznaczono spektrofotometrycznie zawartość chlorofilu a i b.

Zawartość barwników chlorofilowych określano za pomocą spektrofotometru (typu Spekol) przy odpowiedniej długości fali. Dla chlorofilu a pomiar absorbancji ekstraktu wykonano przy fali długości 663 nm, dla chlorofilu b przy fali o długości 645 nm. Ilość chlorofilu a, chlorofilu b oraz sumy chlorofilu a+b wyliczono za pomocą wzorów z pracy (Arnon 1949).

$$\text{Chlorofil a} = (12,7 \cdot A_{663} - 2,7 \cdot A_{645}) \cdot V \cdot (1000 W)^{-1} \quad (1)$$

$$\text{Chlorofil b} = (22,9 \cdot A_{645} - 4,7 \cdot A_{663}) \cdot V \cdot (1000 W)^{-1} \quad (2)$$

$$\text{Suma a + b} = (20,2 \cdot A_{645} + 8,02 \cdot A_{663}) \cdot V \cdot (1000 W)^{-1} \quad (3)$$

gdzie:

A – absorbancja przy danej długości fali,

V – całkowita objętość ekstraktu (cm<sup>3</sup>),

W – masa próbki (g).

Ilość poszczególnych barwników została podana w µg·g<sup>-1</sup> świeżej masy.

Wyniki jednoroczne poddano jednoziennej analizie wariancji, następnie wykonano syntezę dla doświadczeń wielokrotnych. Istotność różnic oszacowano na poziomie  $\alpha = 0,05$  za pomocą testu t-Studenta. Zawartość chlorofilu w zależności od sposobu nawożenia i dawki azotu (równania regresji) została wyliczona dla 8 danych, po cztery dla każdego roku badań.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Zawartość chlorofilu a i a+b w fazie 3-4 liści zależała wyłącznie od sposobu wysiewu nawozu (tab. 1, tab. 3). W wyniku umieszczenia nawozu azotowego punktowo stwierdzono większą zawartość chlorofilu (odpowiednio o 0,13 µg·g<sup>-1</sup> i 0,17 µg·g<sup>-1</sup>), w stosunku do aplikacji rzutowej. Uzyskane wyniki potwierdzają doniesienie z literatury, wskazujące na lepsze odżywienie kukurydzy azotem w wyniku zlokalizowanego umieszczenia nawozów (El-Hamdi i Woodard 1995, Rhoads i Wright 1998, Tlustos i in. 1997). Jak podaje (Schroeder i in. 1996), odpowiednio wysokie stężenie azotu w roztworze glebowym w wyniku nawożenia zlokalizowanego (punktowego) gwarantuje lepsze odżywienie roślin tym składnikiem. W przypadku chlorofilu b w fazie 3-4 liści nie stwierdzono wpływu żadnego z badanych czynników doświadczenia na zawartość tego barwnika (tab. 2).

W fazie 4-5 liści zawartość chlorofilu zależała od nawożenia azotem oraz inokulacją materiału siewnego (tab. 1). W miarę wzrostu wielkości dawki azotu w przedziale od 0,6 do 1,8 g wazon<sup>-1</sup> koncentracja chlorofilu w blaszkach liściowych wzrastała od 1,19 do 1,31 µg·g<sup>-1</sup>, natomiast zastosowanie dawki 2,4 g N·wazon<sup>-1</sup> spowodowało istotne zmniejszenie zawartości barwnika. Większą o 0,13 µg·g<sup>-1</sup> zawartość chlorofilu stwierdzono u roślin, których nasiona przed siewem nie zostały zakażone, w porównaniu do roślin wyrosłych z zainfekowanych nasion (tab. 1).

**Tabela 1.** Zawartość chlorofilu a ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )  
**Table 1.** Content of chlorophyll a ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Wyszczególnienie – Specification		Faza 3-4 liści Phase of 3-4 leaves	Faza 4-5 liści Phase of 4-5 leaves
Dawka N w g-wazon <sup>-1</sup> N dose in g pot <sup>-1</sup>	0,6	1,42	1,19
	1,2	1,46	1,17
	1,8	1,61	1,31
	2,4	1,21	1,13
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	0,143
Sposób nawożenia Fertilization method	rzutowo – broadcast	1,36	1,16
	punktowo – in points	1,49	1,23
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	0,091	r.n.
Inokulacja F. culmorum Inoculation with F.culmorum	bez inokulacji without inoculation	1,46	1,26
	z inokulacją with inoculation	1,39	1,13
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	0,114

r.n. – różnice nieistotne – non-significant differences.

**Tabela 2.** Zawartość chlorofilu b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )  
**Table 2.** Content of chlorophyll b ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Wyszczególnienie – Specification		Faza 3-4 liści Phase of 3-4 leaves	Faza 4-5 liści Phase of 4-5 leaves
Dawka N w g-wazon <sup>-1</sup> N dose in g pot <sup>-1</sup>	0,6	0,44	0,40
	1,2	0,47	0,39
	1,8	0,48	0,41
	2,4	0,40	0,38
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	r.n.
Sposób nawożenia Fertilization method	rzutowo – broadcast	0,43	0,39
	punktowo – in points	0,46	0,39
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	r.n.
Inokulacja F. culmorum Inoculation with F.culmorum	bez inokulacji without inoculation	0,46	0,43
	z inokulacją with inoculation	0,44	0,36
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	0,047

r.n. – różnice nieistotne – non-significant differences.

**Tabela 3.** Zawartość chlorofilu a + b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )  
**Table 3.** Content of chlorophyll a + b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )

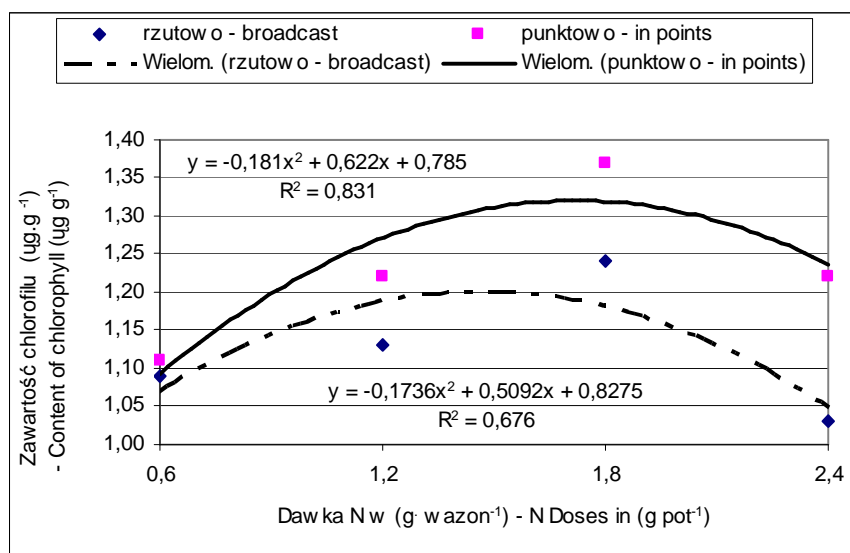
Wyszczególnienie – Specification		Faza 3-4 liści Phase of 3-4 leaves	Faza 4-5 liści Phase of 4-5 leaves
Dawka N w g-wazon <sup>-1</sup> N dose in g pot <sup>-1</sup>	0,6	1,93	1,59
	1,2	2,01	1,57
	1,8	2,16	1,72
	2,4	1,71	1,51
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	0,092
Sposób nawożenia Fertilization method	rzutowo – broadcast	1,87	1,56
	punktowo – in points	2,04	1,63
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	0,102	r.n.
Inokulacja F. culmorum Inoculation with F.culmorum	bez inokulacji without inoculation	1,99	1,71
	z inokulacją with inoculation	1,92	1,49
	NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	r.n.	0,16

r.n. – różnice nieistotne – non-significant differences.

Zawartość chlorofilu b w fazie 4-5 liści kukurydzy w istotny sposób zależała wyłącznie od inokulacji materiału siewnego (tab. 2.). Większą o 16,3% zawartość chlorofilu w blaszkach liściowych kukurydzy stwierdzono, gdy nasiona przed siewem nie były zainfekowane grzybem, w porównaniu do roślin wyrosłych z nasion zainfekowanych. Taki sam wynik uzyskali (Stern i in. 2004, Santos 2004, oraz Tanaka i in. 2006), wg których obecność w glebie czynnika powodującego stres rośliny, przyczynia się do mniejszej syntezy chlorofilu.

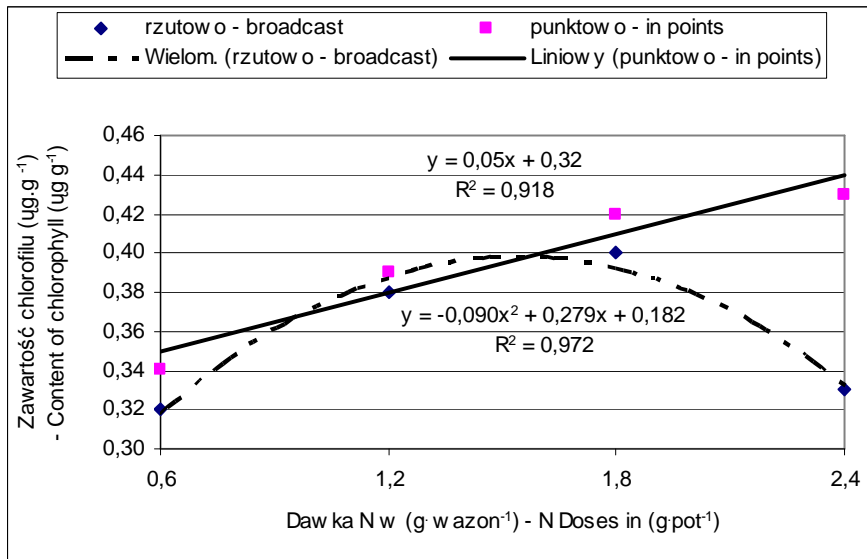
Zawartość chlorofilu a+b w fazie 4-5 liści zależała od dawki azotu oraz inokulacji materiału siewnego kukurydzy (tab. 3.). Największą zawartość barwnika stwierdzono dla dawki 1,8 g N·wazon<sup>-1</sup> (1,72  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), natomiast dla pozostałych dawek zawartość chlorofilu nie różniła się i wynosiła 1,55  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (tab. 3). Większą o 12,8% zawartość chlorofilu stwierdzono u roślin, których nasiona przed siewem nie zostały zakażone, w porównaniu do roślin wyrosłych z zainfekowanych nasion (tab. 3.).

W fazie 4-5 liści wykazano współdziałanie pomiędzy wielkością dawki azotu a sposobem jej wysiewu (rys. 1, rys. 2 i rys. 3.). Zależność tą opisano równaniami 2<sup>o</sup>, natomiast zawartość chlorofilu b, dla dawek azotu wysiewanych punktowo opisano równaniem 1<sup>o</sup> (rys. 2.). Krzywe przedstawiające zawartość chlorofilu a i a+b miały podobny przebieg, przy czym dla dawek azotu wysiewanych rzędowo, w porównaniu do aplikacji rzutowej przebiegały na wyższym poziomie (rys. 1 i rys. 3). Zawartość chlorofilu b dla dawek azotu wysiewanych rzędowo rosła w sposób liniowy, natomiast wysiewanych rzutowo osiągnęła maximum przy 1,54 g N·wazon<sup>-1</sup> (rys. 2).



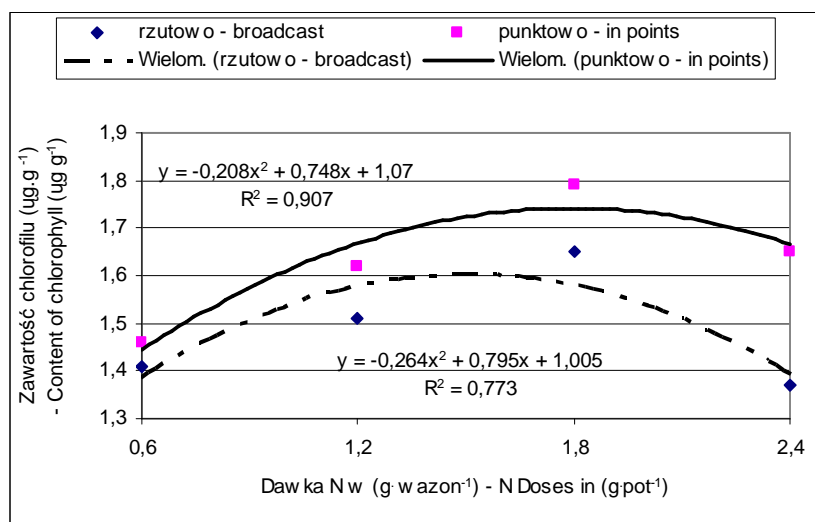
**Rys. 1.** Zawartość chlorofilu a w zależności od sposobu nawożenia i dawki azotu (2004-2005)

**Fig. 1.** Content of chlorophyll a in dependence on method of fertilization and doses of nitrogen (2004-2005)



**Rys. 2.** Zawartość chlorofilu b w zależności od sposobu nawożenia i wielkości dawki azotu (2004-2005)

**Fig. 2.** Content of chlorophyll b in dependence on method of fertilization and doses of nitrogen (2004-2005)



**Rys. 3.** Zawartość chlorofilu a+b w zależności od sposobu nawożenia i wielkości dawki azotu (2004-2005)

**Fig. 3.** Content of chlorophyll a+b in dependence on method of fertilization and doses of nitrogen (2004-2005)

#### WNIOSKI

1. Punktowa aplikacja azotu, w stosunku do nawożenia rzutowego powodowała wzrost zawartości chlorofilu a i a + b w fazie 3-4 liści.
2. W fazie 4-5 liści zawartość chlorofilu a i a + b wzrastała wraz ze wzrostem wielkości dawki azotu w przedziale od 0,6 do 1,8 g N·wazon<sup>-1</sup>. Zastosowanie największej dawki azotu 2,4 g N·wazon<sup>-1</sup> powodowało istotne zmniejszenie ilości tych barwników.
3. Zawartość chlorofilu a, b i a + b w fazie 4-5 liści kukurydzy była istotnie wyższa przy wysiewie nasion bez inokulacji *F. culmorum*, w porównaniu do nasion zainfekowanych odpowiednio o 10,3%, 16,3% i 12,9%.
4. Stwierdzono większą efektywność stosowania dawek azotu wysiewanego punktowo, w porównaniu do wysiewu rzutowego.

#### PIŚMIENNICTWO

- Arnon D.I., 1949. Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase In *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24,1-15.
- Czaplińska S., Jasa S., 1980a. Investigation on the maize resistance to *Fusarium* disease in Poland. Roczn. Nauk Roln., Sre E, 10(1-2),137-143.

- Czplińska S., Magryś A., 1984. Studia nad odpornością kukurydzy na fuzariozę. Część II. Ocena podatności lili i mieszańców kukurydzy na zgorzel podstawy łodyg i zgniliznę kolb w warunkach sztucznej infekcji. *Hodowla Roślin Aklimatyzacja i Nasiennictwo*, 28, (5/6), 337-357.
- El-Hamdi K.H., Woodard H.J., 1995. Response of early corn growth to fertilizer phosphorus rates and placement methods. *Journal of Plant Nutrition*, 18(6), 1103- 1120.
- Lisowicz F., Tekiel A., 2004. Szkodniki i choroby kukurydzy oraz ich zwalczanie. *Technologia produkcji kukurydzy*, 52-64.
- Parry D.W., Jenkinson P., McLeod L., 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathol*, 44, 207-238.
- Rhoads F.M., Wright D.L., 1998. Root mass as a determinant of corn hybrid response to starter fertilizer. *Journal of Plant Nutrition*, 21(8), 1743-1751.
- Santos V., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae*, 103, 93-99.
- Schroeder J.J., Groenwold J., Zaharieva T., 1996. Soil mineral nitrogen availability to young maize plants as related to root density distribution and fertilizer application method. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 44 (3), 209-225.
- Stern D.B., Hanson M.R., Barkan A., 2004. Genetics and genomics of chloroplast biogenesis: maize as a model system. *Trends in Plant Science*, 9(6), 293-301.
- Tanaka A., Tanaka R., 2006. Chlorophyll metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 248-255.
- Tlustos P., Balik J., Pavlikova D., Vanek V., 1997. Využití dusíku kukurice po lokální aplikaci síranu amonného. *Rostlinná Výroba*, 43(1), 13-18.
- Żurbicki Z., 1974. *Metodyka doświadczeń wazonowych*. PWRiL. Warszawa.

EFFECT OF *FUSARIUM CULMORUM* ON THE CONTENT  
OF CHLOROPHYLL IN DEPENDENCE ON DOSES OF NITROGEN  
AND THE METHOD OF FERTILIZATION

Piotr Szulc<sup>1</sup>, Magdalena Rybus-Zajac<sup>2</sup>, Hubert Waligóra<sup>1</sup>, Witold Skrzypczak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Soil and Plant Cultivation, Agricultural University

<sup>2</sup>Department of Plant Physiology, Agricultural University

ul. Mazowiecka 45/46, 60-623 Poznań

e-mail: pszulc@au.poznan.pl

**Abstract.** The experiment was carried out at the Department of Plant and Soil Cultivation, Agricultural University of Poznań, in 2004-2005. It comprised four doses of nitrogen: 0.6; 1.2; 1.8 and 2.4 g N pot<sup>-1</sup>, and 2 methods of fertilization: broadcast and point application (with fertilizer placed 5 cm off the side and 5 cm below the grains), and 2 kinds of grains (without inoculation and with inoculation with *F. culmorum*). The influence of nitrogen content in the soil, the way of application and additionally the way of fungal inoculation with *F. culmorum* on the content of chlorophyll was determined. Plants used in the experiment were at the stages of 3-4 and 4-5 fully developed leaves. The better method of nutrient application proved to be the in-row fertilization. Inoculation of seeds with *F. culmorum* decreased the content of chlorophyll.

**Key words:** maize, nitrogen, starter and broadcast fertilization, inoculation