



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Bestimmung der Stickstofffixierleistung von biologisch angebauter Soja
im ostösterreichischen Raum anhand isotonenbasierender Methoden

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser: Marion Bonell
Studienrichtung /Studienzweig Ökologie
(lt. Studienblatt):
Betreuer: Ass.Prof. Dr. Wolfgang Wanek

Wien, am 01.11.2010

Inhalt

1.	Einleitung.....	4
1.1.	Bedeutung von Soja	4
1.2.	N ₂ - Fixierung und Bedeutung in der biologischen Landwirtschaft.....	4
1.3.	Methoden zur Quantifizierung der N ₂ Fixierung	5
1.3.1.	Natürliche Abundanz Methode (natural abundance method)	5
1.3.2.	¹⁵ N Anreicherungsmethode (¹⁵ N dilution method)	7
1.3.3.	Alternativmethode: Δδ ¹⁵ N Methode.....	7
1.4.	N Transfer zwischen Arten	8
1.5.	Zielsetzung.....	8
2.	Material und Methodik.....	10
2.1.	Topfversuch - Ermittlung der B- Werte.....	10
2.1.1.	Aufbau des Versuches und Versuchsdesign.....	10
2.1.2.	Sortenwahl	10
2.1.3.	Sterilisation des Saatgutes.....	12
2.1.4.	Anbau.....	13
2.1.5.	Ernte und Vorbereitung zur Analyse	14
2.1.6.	Analyse.....	14
2.2.	Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa und Beeinflussung des δ ¹⁵ N Wert von <i>Amaranthus retroflexus</i> durch die Sojabohne (<i>Glycine max (L.) Merr.</i>).....	15
2.2.1.	Versuchsdesign.....	16
2.2.2.	Ernte und Vorbereitung zur Analyse	16
2.2.3.	Analyse.....	17
2.3.	Berechnungen und statistische Auswertung	17
3.	Ergebnis	20
3.1.	Topfversuch - Ermittlung der B- Werte.....	20
3.1.1.	Allgemeine Entwicklung- und Habitusbeschreibung	20
3.1.2.	Biomasse, Stickstoffkonzentration und Stickstoffgehalte	21
3.1.3.	δ ¹⁵ N	25
3.1.4.	Eigenschaften des Saatgutes	31
3.1.5.	Beeinflussung der Messwerte durch das Saatgut und B-Wert.....	33
3.2.	Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa.....	37
3.2.1.	Allgemeine Parameter.....	37
3.2.2.	Berechnung des Prozentanteils des fixierten N ₂ aus der Atmosphäre, zur Gesamtstickstoffaufnahme der Soja (%Ndfa).....	41

3.3. Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wert von <i>Amaranthus retroflexus</i> durch die Sojabohne (<i>Glycine max (L.) Merr.</i>).....	44
4. Diskussion.....	46
4.1. Topfversuch - Ermittlung der B- Werte.....	46
4.1.1. Biomasse, Stickstoffkonzentration und Stickstoffgehalte	46
4.1.2. $\delta^{15}\text{N}$	47
4.1.3. Eigenschaften des Saatgutes	49
4.1.4. Beeinflussung der Messwerte durch das Saatgut und Spross B-Wert.....	50
4.2. Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa.....	51
4.2.1. Allgemeine Parameter.....	51
4.2.2. Berechnung des Prozentanteils des fixierten N_2 aus der Atmosphäre, zur Gesamtstickstoffaufnahme der Soja (%Ndfa).....	52
4.3. Untersuchung der Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wertes von <i>Amaranthus retroflexus</i> durch die Sojabohne (<i>Glycine max (L.) Merr.</i>).....	54
5. Schlussfolgerung	56
6. Zusammenfassung	57
7. Summary	58
8. Danksagung.....	59
9. Literaturnachweis.....	60
Lebenslauf	64

1. Einleitung

1.1. Bedeutung von Soja

Die Sojabohne (*Glycine max (L.) Merrill.*) ist eine sehr alte Kulturpflanze, dessen Heimat im ostasiatischen Raum anzusiedeln ist. Heute zählt die Sojabohne weltweit zu den am häufigsten angebauten Kulturpflanzen. In Europa wurde die Sojabohne durch den Österreicher Friedrich Haberlandt, Ordinarius an der Universität für Bodenkultur in Wien, eingeführt. Anlässlich der Wiener Weltausstellung 1873 kam er zur Sojabohnen und begann mit umfangreichem Anbauversuche. Die Erfahrungen die Haberlandt in seiner Pionierarbeit sammelte, wurden aber in den USA rascher aufgegriffen als in Europa. Dort begann man 1879 nach ersten Anbauversuchen den Sojaanbau stark zu fördern. Heute findet 80% des Gesamtanbaus in den USA, Brasilien und Argentinien statt. Europa liegt im Anbau weit hinter den USA und den Südamerikanischen Ländern (FAOSTAT, 2007). Während im weltweiten Anbau der Ölgehalt das wichtigste Qualitätskriterium ist, liegt das Hauptinteresse in Europa am hohen Samen-Proteingehalt von etwa 40% zur Futtermittelproduktion und bei der Humanernährung (Vollmann et al., 2005)

Der österreichische Sojaanbau rangiert in der EU an fünfter Stelle. Hier ist Soja neben dem Ölkürbis die wichtigste Ölfrucht im biologischen Landbau. Die Gesamtanbaufläche stieg im Jahr 2009 auf 25.321 ha (+37% seit 2008) an und kann im Langzeittrend seit dem Jahr 2000 auf eine Zuwachsfläche von über 16.000 ha verweisen. Im biologischen Anbau konnte die Soja, bei den Ölfrüchten mit 77% (ca. 3.000 ha) den höchsten Anstieg verzeichnen. Aufgrund der Wärmebedürftigkeit der Pflanze hat sich die Sojabohne nur in den klimatisch begünstigten Lagen Österreichs bewährt. Bundesweit haben deshalb Burgenland (1065 ha), Niederösterreich (840 ha) und Oberösterreich (472 ha) den größten Anteil an Soja-Ackerflächen (Grüner Bericht, 2010).

1.2. N₂- Fixierung und Bedeutung in der biologischen Landwirtschaft

Sojabohnen haben aufgrund des hohen Proteingehalts einen hohen N Bedarf. Als Vertreter der Leguminosen besitzt die Sojabohne jedoch die Fähigkeit mit Knöllchenbakterien der Gattungen *Bradyrhizobium* und *Sinorhizobium* eine Symbiose zur Fixierung des atmosphärischen Luftstickstoffs einzugehen (Taiz und Zeiger, 2000). Demnach ist der nachhaltige Anbau von Soja nur durch eine effiziente Symbiose möglich. Gut nodulierte Sojabohnen können im Durchschnitt 142 kg N ha⁻¹ mit Hilfe ihrer Symbionten fixieren (Unkovich und Pate, 2000). Dies entspricht 50% ihres Gesamtstickstoffbedarfes (%Ndfa).

Unter Idealbedingungen sind im Freiland sogar bis zu 80% Ndfa möglich (Hungria et al., 2006). Die Ausbildung einer leistungsfähigen Symbiose ist von mehreren Faktoren abhängig. Zu diesen Faktoren gehören verschiedene Umweltparameter wie Wasserversorgung, Bodendurchlüftung, Bodentemperatur und Bodennährstoffgehalt, im speziellen der pflanzenverfügbare N-Gehalt, aber auch eine ausreichende Beimpfung von geeigneten Rhizobien Stämmen ist essentiell (Unkovich et al., 2008).

1.3. Methoden zur Quantifizierung der N₂ Fixierung

Um den Nutzen der Leguminose im Anbau abschätzen zu können, sind zuverlässige Messmethoden für den Anteil des fixierten Stickstoffs notwendig. Zur Quantifizierung des fixierten N sind bereits eine Vielzahl an Methoden durch unterschiedliche Arbeitsgruppen beschrieben worden (Shearer und Kohl, 1986; Unkovich und Pate, 2000; Peoples et al., 2002). Die Methoden variieren in ihrer Genauigkeit, in ihren Durchführungskosten und beinhalten differente Limitierungen (Unkovich et al., 2008). In der heutigen Zeit liegt aber das Hauptaugenmerk für die Abschätzung der N₂- Fixierung von Leguminosen bei der Ureid-Messung Methode und bei den isotopenbasierten Methoden (Peoples et al., 2002).

Isotopenbasierten Methoden werden häufig verwendet, da sie die Möglichkeit liefern, zeitintegrierte Aussagen über die Stickstofffixierleistung der Leguminose zu tätigen (Shearer und Kohl, 1986). Bei diesen Methoden werden zur Messung der N₂-Fixierung die zwei stabilen N Isotopen ¹⁴N und ¹⁵N verwendet, wobei ¹⁴N natürlich in größeren Mengen vorkommt als ¹⁵N. ¹⁵N tritt in der Atmosphäre in einer konstanten Abundanz von 0,3663 atom% auf. Die natürliche Variation der ¹⁵N Abundanz wird üblicherweise als δ¹⁵N Wert mit der Einheit ‰ angegeben, welche die Abweichung relativ zum internationalen Standard Luft beschreibt (Högberg, 1997). Wenn die ¹⁵N Konzentration der Atmosphäre sich signifikant vom pflanzenverfügbaren Boden N unterscheidet, kann auf Basis von ¹⁵N Analysen, die N₂- Fixierung ermittelt werden. Die Abschätzung der N₂- Fixierung basiert auf den Vergleich der ¹⁵N Konzentration einer fixierenden Pflanze zu einer nicht fixierenden Pflanze. Nachteilig bei diesen Methoden sind die relativ hohen Kosten der Analyse mittels Massenspektrometer und der Bedarf von Referenzpflanzen (nicht fixierenden Pflanze) (Unkovich et al., 2008).

1.3.1. Natürliche Abundanz Methode (natural abundance method)

Bei der natürlichen Abundanz Methode (natural abundance) wird das natürliche Verhältnis der Stickstoffisotopen ¹⁴N und ¹⁵N in der Pflanze gemessen. Um den Anteil des fixierten Stickstoffes an der Gesamtstickstoffaufnahme zu messen, nützt man die natürliche ¹⁵N Anreicherung im Boden im Vergleich zur Atmosphäre aus (Unkovich und Pate, 2000). Die natürliche Anreicherung im Boden entsteht durch Isotopenfraktionierung bei zahlreichen

Reaktionen im Stickstoffkreislauf (Högberg, 1997). Die Auswertung beruht auf der Annahme, dass Nicht Fixierer größere Mengen an Boden N aufnehmen und dadurch höhere ^{15}N -Gehalte in ihren Geweben aufweisen, als Leguminosen. Das Ausmaß der Verdünnung soll eine Einschätzung der Höhe der symbiontischen N_2 Fixierung ermöglichen.

Für die Berechnung des aus der symbiontischen N_2 -Fixierung stammenden N-Anteil (%Ndfa = nitrogen derived from the atmosphere) werden die $\delta^{15}\text{N}$ Werte von Referenzpflanzen gebraucht. Ihr $\delta^{15}\text{N}$ Wert spiegelt ein über die Zeit integriertes N Isotopenverhältnis, des von der Pflanze aufgenommenen bodenbürtigen N wider ((Boddey et al., 2000) zitiert aus (Klatt, 2008)). Als Referenzpflanzen eignen sich Arten, die nicht zur symbiontischen N_2 -Fixierung befähigt sind und den gleichen N pool nutzen wie die untersuchten Leguminosen. Dafür sollten sie eine ähnliche Morphologie, Physiologie, Wurzelverteilung, Auf- und Abbau der Wurzel, die gleiche Wachstumsdauer und das gleiche Aufnahmemuster entlang der Wachstumsperiode besitzen. Aufgrund dieser anspruchsvollen Anforderungen ist die Auswahl von einer geeigneten Referenzpflanze sehr problematisch. Die aufgezählten Faktoren sind schwierig vorherzusagen oder auch schwer zu quantifizieren. Deshalb ist die Auswahl der Referenzpflanze in der Praxis sehr herausfordernd und ist eine der höchsten Fehlerquellen bei der Quantifizierung der N_2 -Fixierung durch isotopebasierte Methoden (Peoples et al., 2002).

Eine im Prozess der N_2 -Fixierung potenziell auftretende Isotopenfraktionierung durch die Diskriminierung des Isotopen ^{15}N , wird durch den sogenannten B-Wert berücksichtigt. Der B-Wert ist der $\delta^{15}\text{N}$ Wert von Leguminosen, die ihren gesamten N Bedarf durch symbiontische N_2 -Fixierung decken. Der B-Wert gesamter Sojapflanzen ist mit Ausnahme von *Bradyrhizobium elkanii* Stämmen nahe 0‰, da die Diskriminierung zwischen ^{14}N und ^{15}N während der N_2 Fixierung auf Basis der Gesamtpflanze relativ gering ist (Högberg, 1997; Unkovich et al. 2008).

Bei der praktischen Anwendung, vor allem bei Feldstudien, werden aber meist nur die Sprosse zur %Ndfa Abschätzung geerntet, da das Ernten des gesamten Wurzelsystems vor allem im Freiland fast nicht möglich ist und zudem mit sehr zeitintensiven Arbeitsschritten verbunden ist. Um die %Ndfa Abschätzung mittels isotopebasierter Methoden noch mehr zu vereinfachen, wurde von unterschiedlichen Arbeitsgruppen versucht, nur einzelne Pflanzenteile wie Blätter oder Hülsen zur Abschätzung heranzuziehen (Yoneyama et al., 1986; Huss-Danell und Chaia, 2005). Yoneyama (1986) erzielte bei der Abschätzung des Anteils der N_2 - Fixierung mit Sojakörnern signifikante Korrelation mit der Acetylen Reduktions Aktivität, dem Knöllchentrockengewicht, sowie zum Blatt/Knöllchen Trockengewicht Verhältnis. Neuere Untersuchungen von Huss-Danell (2005) konnten bei *Trifolium pratense*

zeigen, dass die Abschätzung des %Ndfa ausschließlich auf Basis der Blätter nützliche Indikatoren für die %Ndfa Abschätzung im Spross und der Gesamtpflanze sein können. Die Möglichkeit nur Spross oder nur einzelne Pflanzenteile zur %Ndfa Abschätzung heranzuziehen, vermindert stark die Arbeitszeit, aber die Kenntnis über Diskriminierungseffekte innerhalb der Pflanze ist unerlässlich. Diese Diskriminierungseffekte innerhalb der Pflanze werden durch die Ermittlung spezifischer Spross B- Werte berücksichtigt. Bei der Sojabohne liegen die Spross B- Werte im Bereich von -0,9 und -2,6 (Peoples et al., 2002; Unkovich et al., 2008). Unterschiedliche Bakterienstämme und in geringerem Ausmaß auch die Sorten beeinflussen den B-Wert. Abhängig ist der B-Wert auch vom Alter der Pflanzen und bei jungen Pflanzen von der Signatur des Saatgutes. Das Saatgut spielt vor allem dann eine Rolle, wenn der N Gehalt des Saatgutes im Vergleich zum N Gehalt der Pflanze noch relativ groß ist. In diesem Fall ist eine Korrektur durch das Saatgut erforderlich (Unkovich et al., 1994; Okito et al., 2004).

1.3.2. ^{15}N Anreicherungsverfahren (^{15}N dilution method)

Das Prinzip dieser Methode beruht ebenfalls auf einer Verdünnung des ^{15}N Gehaltes im Pflanzengewebe der Leguminosen durch symbiotische N_2 -Fixierung. Um die Differenz zwischen den N- Quellen zu erhöhen, wird hierbei vor Versuchsbeginn eine künstliche Anreicherung des Bodens mit dem ^{15}N Isotop durch die Gabe von ^{15}N angereichertem Dünger vorgenommen. Aus der N Isotopenzusammensetzung im Pflanzenmaterial der Leguminose und der Referenzpflanze wird der Anteil des fixierten Stickstoffs (%Ndfa) berechnet (Klatt, 2008; Unkovich et al., 2008). Die Ermittlung der Isotopenfraktionierung innerhalb der Pflanze durch den B- Wert, ist aufgrund der viel stärkeren Anreicherungen nicht notwendig.

1.3.3. Alternativmethode: $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Methode

Die isotonenbasierten Methoden haben sich in der Messung des %Ndfa in vielen Untersuchungen bewährt. Die natürliche Abundanz Methode wird häufig bei Felduntersuchungen angewendet, da sie genaue Messergebnisse liefert ohne in das Boden-Pflanze System einzugreifen (Peoples et al., 2002). Die zur Berechnung des Anteils der N_2 -Fixierung notwendige Referenzpflanze ist aber generell eine signifikante Fehlerquelle. Vor allem bei niedrigeren %Ndfa oder bei sich ändernder natürlicher Abundanz von ^{15}N mit der Tiefe und/oder der Versuchsdauer kann eine ungeeignete Wahl der Referenzpflanze zu signifikanten Fehlern führen. Fehler können durch Verwendung von mehreren Arten oder durch die Verwendung von nicht nodulierenden Isolinen oder nichtnodulierten Leguminosen minimiert werden, aber die Wahl der Referenzpflanze bleibt kritisch (Peoples et al., 2002; Unkovich et al., 2008).

Alternative isotopebasierte Methoden zur Messung des %Ndfa ohne den Gebrauch von Referenzpflanze sind deshalb gesucht. Wanek und Arndt (2002) fanden die Möglichkeit, den Anteil der N₂-Fixierung von Sojapflanzen (%Ndfa) durch die Differenz des $\delta^{15}\text{N}$ zwischen nodulierten Wurzeln und Sprossen ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) zu ermitteln. Die breite Anwendbarkeit und die hohe Robustheit dieser Methode bei Leguminosen, konnten nicht nur bei der Anwendung an Literaturdaten durch Wanek und Arndt (2002) gezeigt werden, sondern auch bei der Anwendung an Bohne (*Phaseolus vulgaris*), Augenbohne (*Vigna unguiculata*) und Buschklees (*Lespedeza cuneata*) durch Khadka und Tatsumi (2006). Khadka und Tatsumi fanden in ihren Untersuchungen nicht nur eine hohe Korrelation zwischen %Ndfa und $\Delta\delta^{15}\text{N}$ aus Spross - nodulierter Wurzel, sondern auch bei $\Delta\delta^{15}\text{N}$ aus Spross – Wurzel (Khadka und Tatsumi, 2006). Die Notwendigkeit von weiteren Untersuchungen zur Prüfung der Beeinflussung des $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Wertes durch unterschiedliche Bakterienstämme und Sorten wurde jedoch aufgezeigt (Wanek und Arndt, 2002)

1.4. N Transfer zwischen Arten

Interspezifischer N Transfer findet bei geschlossenen Pflanzenverbänden hauptsächlich indirekt, infolge von Wurzel -exsudationen und -umsatz, sowie durch Tierfraß und Streufall statt (Høgh-Jensen und Schjoerring, 2000; Unkovich et al., 2008). Vor allem bei niedriger Nährstoffversorgung, ist der unterirdische N Transfer in Leguminosen- Nicht-Leguminosen Mischkulturen von Bedeutung. Im Grasland kann der transportierte Anteil des N von der Leguminose zur Nicht-Leguminose, bis zu 50 % des gesamten aufgenommenen N ausmachen (Soussana, 1996 zitiert aus (Rasmussen et al., 2007)).

Wenn Referenzpflanzen und Leguminose in unmittelbarer Nähe zueinander stehen, kann auch hier ein N Transfer stattfinden. In diesem Fall besteht die Möglichkeit, dass der N der Referenzpflanze eine niedrigere ^{15}N Anreicherung besitzt als jener für die Leguminose verfügbare N. Bisher konnte gezeigt werden, dass dies keine signifikante Auswirkung auf die Abschätzung des %Ndfa der Leguminose hat (Chalk, 1996 zitiert aus (Unkovich et al., 2008)).

1.5. Zielsetzung

Diese Diplomarbeit ist in das Projekt „Nitrogen economy of soybean in East Central Europe – an evaluation of methods for the quantification of basic input parameters“ der Bio Forschung Austria integriert. Dieses hat die Ziele 1) die N₂-Fixierung von biologisch angebauter Sojabohne unter Ostösterreichischen Bedingungen zu quantifizieren, 2) Methoden -Vergleich und -Optimierung zur Messung der N₂-Fixierung, 3) Quantifizierung des unterirdisch

verbliebenen N und dessen Beeinflussung durch Wasserlimitierung, sowie 4) die Entwicklung von einfachen Messmethoden, die auch dem Anwender (Landwirt, Berater) eine Abschätzung der N₂-Fixierung ermöglichen.

In dieser Arbeit liegt das Hauptaugenmerk bei der natural abundance Methode zur Quantifizierung der N₂-Fixierung von Sojabohnen. Es werden 3 Hauptziele verfolgt:

a) Im Glashaus werden in einem Topfversuch die B- Werte für 5 verschiedene Sojasorten und 3 verschiedene *Rhizobium* Stämme bestimmt. Die Pflanzen werden dafür in einem N freien Substrat angebaut. Die Variation der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur innerhalb der Pflanze wird diskutiert. Sorten- und Bakterienstamm- Unterschiede in der ¹⁵N Verteilung innerhalb der Pflanze werden erwartet.

b) Eine %Ndfa Abschätzung erfolgt mittels der natural abundance Methode bei Sojapflanzen von einem Feldversuch. Dabei werden die im Topfversuch ermittelten B- Werte in der %Ndfa Berechnung angewendet. Eventuell auftretende Unterschiede in den Ergebnissen zwischen in der Literatur angegebenen B- Werten und ermittelten B- Werten werden ausgearbeitet. Die Freilandpflanzen sind in einem unterschiedlichen Alter entlang der Vegetationsperiode geerntet und analysiert worden. Die unterschiedliche natürliche ¹⁵N Verteilung in den Pflanzenorganen: Spross, Wurzel und Knöllchen wird ermittelt und zur Berechnung des $\Delta\delta^{15}\text{N}$ verwendet. Die von Wanek und Arndt (2002) gefundene Korrelation zwischen $\Delta\delta^{15}\text{N}$ und %Ndfa wird mit diesen Daten getestet. Die Anwendbarkeit dieser Methode zur %Ndfa Quantifizierung bei Freilandpflanzen wird geprüft.

c) Die Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wertes von *Amaranthus retroflexus* durch in unterschiedlicher Entfernung wachsende Sojabohnen wird überprüft. Eventuelle Auswirkungen auf die Abschätzungen der N₂-Fixierung werden diskutiert.

2. Material und Methodik

2.1. Topfversuch - Ermittlung der B- Werte

Der B-Wert für die natural abundance Methode wurde in einem Topfversuch ermittelt. Dabei wurden auch Zusammenhänge zwischen den ermittelten Parametern wie Biomasse, N-Konzentration, N-Gehalt und $\delta^{15}\text{N}$ bei den unterschiedlichen Sorten untersucht und beschrieben.

2.1.1. Aufbau des Versuches und Versuchsdesign

Der Topfversuch wurde im Glashaus I der Universität Wien, Althanstrasse im Zeitraum vom 15. Jänner bis 31. März 2009 angelegt. Die Temperatur im Glashaus betrug im Tagesmittel 24°C und bei Nacht 18-19°C. Die relative Luftfeuchte lag nachts im Mittel bei 49% und stieg tagsüber auf bis zu 55%. Die Pflanzen wurden mit PlantStar "vario" 600W Natriumdampf-Lampen (Quelle: www.muselmann.de) für 14 Stunden täglich zusätzlich beleuchtet. Durch die Zusatzbeleuchtung betrug die Bestrahlungsstärke auf Topfhöhe ca. 380 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$.

2.1.2. Sortenwahl

Die Auswahl der im Versuch verwendeten Sorten beruhte auf bereits bestehende „Ergebnisse“ der Bio Forschung Austria in vorangegangenen Projekten. Diese Sorten hatten sich bei durchgeführten Untersuchungen im Institut als sehr vielversprechende Sorten im österreichischen Anbau, vor allem in der Bio-Speisesojaproduktion, hervorgehoben.

Tabelle 1. Sortenbeschreibung (Hofer et al., 2008)

Sorte	Reifegruppe	Eigenschaften	Bezugsquelle
Sorte A ¹	00/0	Stabile hohe Kornerträge und Proteingehalte über verschiedene Umwelten, heller Nabel	eigenes Nachbausaatgut
Cardiff	00	Hoher Kornertrag, guter Proteingehalt, rasche Jugendentwicklung, sehr standfest, heller Nabel	Saatbau Linz, Bio-Saatgut [Quelle: www.saatbaulinz.at]
Essor	00	Hoher Kornertrag, guter Proteingehalt, sehr standfest, heller Nabel	Saatbau Linz, Bio-Saatgut [Quelle: www.saatbaulinz.at]
Maple Arrow	00	Gute Erträge und Proteingehalte im Trockengebiet, großes Korn, Knabbersoja, dunkler Nabel	Landgarten [Quelle: www.landgarten.at]
Primus	00	High Protein- Sorte, guter Ertrag, hohes TKG, heller Nabel	Die Saat [Quelle: www.diesaat.at]

¹Die bis 2006 in der Sortenliste eingetragene Sorte Apache, wird in dieser Arbeit als Sorte A bezeichnet. Sie wurde aus der Sortenliste zurückgezogen und ist demnach ein im Eigennachbau erhaltener Genotyp. In Österreich ist dieser Genotyp in vielen Betrieben, vor allem in der Qualitätssojaproduktion sehr gebräuchlich, denn er gilt nach langjährigen Praxiserfahrungen unter unterschiedlichen Umweltbedingungen bis heute, als sehr anpassungsfähig und produktiv mit hohen Qualitätsmerkmalen. Aus diesem Grund wird dieses Saatgut auch für Forschungszwecke in der Bio Forschung Austria verwendet. Zur leichteren Handhabung im Kontext wird dieser Genotyp, als Sorte A bezeichnet, auch wenn es sich hierbei ausdrücklich, um keine Sorte mehr handelt.

Tabelle 2. Beschreibung der verwendeten Impfpräparate

Handelsname	Bakterienstamm	Herkunft
RWA Torf /RWA flüssig	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> : Stamm 61A273 und 61A212	EMD CROP BIOSCIENCE USA; importiert: RWA Die Saat
Radicin	Bacterium radicola: hauseigener Stamm Nr.7	JOST GmbH Deutschland
NPPL HiStick (inkrustiert)	Rhizobium tropici UMR 1899	Inokulumherstellung: Becker Underwood

Um die Inokulierung, bzw. das N-Isotopenverhältnis und dessen Variation innerhalb der Pflanze während der Wachstumsperiode besser beurteilen zu können, wurden 2 Erntetermine angesetzt. Um Fremdinfection und unkontrolliertes Knöllchenaufkommen während der Versuchsdauer ausschließen zu können, wurden zusätzlich bei 2 Varianten Kontrollpflanzen (keine Inokulation) in 5 Wiederholungen angebaut. Zur Festlegung des Erntezeitpunktes wurde der entwickelte Schlüssel zur Beschreibung der Reproduktionsstadien (R) von Fehr und Caviness (1977) zu Hilfe genommen.

- **R1** Blühbeginn: eine Blüte an irgendeinem Knoten am Hauptspross
- **R2** Vollblüte: geöffnete Blüte an einem der beiden obersten Knoten des Haupttriebes
- **R3** Beginn der Hülsenbildung: eine 5 mm lange Hülse an einem der vier obersten Knoten
- **R4** Maximale Hülsenbildung: mind. 20 mm lange Hülse an einem der vier obersten Knoten
- **R5** Beginn der Körnerbildung: Körner in einer Hülse tastbar
- **R6** Maximale Körnerbildung: Hülse an einem der vier obersten Knoten mit vollständig entwickelten, noch grünen Körnern
- **R7** Physiologische Reife: mind. eine bräunlich verfärbte Hülse am Haupttrieb
- **R8** Vollreife: 95% der Hülsen sind braun

Folgenden Varianten wurden in 5 Wiederholungen angebaut:

Sojasorte	Inokulationslösung	Geplanter Erntetermin
Sorte A	Radicin	Vollblüte (R2 Stadium)
Sorte A	RWA-Torf und RWA- flüssig	Vollblüte (R2 Stadium)
Sorte A	RWA-Torf und RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Sorte A	RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Sorte A	Radicin	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Sorte A	Keine Inokulation (Kontrolle)	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Cardiff	RWA-Torf und RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Cardiff	Inkrustierungslösung	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Cardiff	Keine Inokulation (Kontrolle)	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Essor	RWA-Torf und RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Essor	Inkrustierungslösung	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Primus	RWA-Torf und RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)
Maple Arrow	RWA-Torf und RWA- flüssig	Gefüllte Samen (R6 Stadium)

2.1.3. Sterilisation des Saatgutes

Das gesamte Saatgut wurde vor der Ansaat oberflächensterilisiert, damit eine unkontrollierte Inokulierung verhindert werden konnte. Die Oberflächensterilisierung wurde mit 3%igem Wasserstoffperoxid durchgeführt. Das ausgewählte Saatgut wurde in einem Erlmeyerkolben mit 3%iger Wasserstoffperoxidlösung aufgeschwemmt, so dass alle Samen bedeckt waren. Durch schwenken des Erlmeyerkolbens konnte gewährleistet werden, dass alle Samen mit dem Wasserstoffperoxid in Kontakt gekommen waren. Nach 4 Minuten wurde das Saatgut sofort mit destilliertem Wasser 6 Mal gewaschen um vollständig und ohne Rückstände das

Wasserstoffperoxid zu entfernen. Die Inkrustierung der Sorten Essor und Cardiff wurde vor dem Sterilisieren mit destilliertem Wasser gelöst und anschließend als Impflösung im 4°C Raum bis zur Ansaat aufbewahrt.

Die feuchten Samen wurden nach der Sterilisation für ca. 16 h im Dunkeln bei Raumtemperatur vorgekeimt.

2.1.4. Anbau

Die Ansaat der Soja fand in 4 l Rosentöpfen, die mit einer 50/50 Mischung aus Perlit und Sandsubstrat gefüllt wurden, statt. Das Substrat wurde bei 80-90°C nach üblicher gärtnerischer Methodik zur Sterilisation ausgedämpft. Mit Hilfe eines sterilisierten Glasstabes wurden sieben 2,5 cm tiefe Einkerbungen vorbereitet und jeweils mit einem Samen bestückt. Jeder Samen wurde anschließend mit einer Pipette mit der entsprechenden Impflösung benetzt. Die Töpfe wurden randomisiert und in 4 Reihen mit einem Abstand von ungefähr 15 cm zueinander aufgestellt. Wöchentlich wurden alle Töpfe so umgestellt, dass alle Töpfe einmal an jeder Position standen. Nach dem Auflaufen der Keimlinge nach 2 Wochen, wurde auf 2 Pflanzen pro Topf vereinzelt.

Als Gießlösung wurde eine modifizierte stickstofffreie Hoagland Nährlösung (0,5-fach) verwendet.

Modifizierte Hoagland Nährlösung (0.5-fach)	
Einwaage für Stammlösung (g/l)	
Lösung 1:	
KH ₂ PO ₄	6,8045
MgSO ₄ ·7H ₂ O	24,6480
K ₂ SO ₄	34,8540
Lösung 2:	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	29,4040
Lösung 3:	
Borsäure	3,092
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,075
NaMO ₂ -O ₄ ·2H ₂ O	0,024
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,230
FeNaEDTA	36,706
MnCl ₂ ·2H ₂ O	1,619

Die Stammlösungen 1 und 2 wurden für die Gießlösung 100 fach verdünnt. Die Stammlösung 3 wurde 2000 fach verdünnt.

Die Sojapflanzen wurden 3 Mal pro Woche mit der Gießlösung gegossen. Damit ein Nährstoffstau im Substrat vermieden werden konnte, wurde darauf geachtet, dass bei jedem Gießen ein Teil der Gießlösung wieder unten austritt. Nach 8 Wochen (R4 Stadium) wurde das Substrat zusätzlich einmal in der Woche mit Wasser durchgespült.

Blätter, die bereits vor der Ernte abfielen, wurden gesammelt und mit den jeweiligen Pflanzen mitanalysiert.

2.1.5. Ernte und Vorbereitung zur Analyse

Bei der Ernte wurden die Sojapflanzen in Spross, Wurzel und Knöllchen getrennt. Die Wurzeln wurden im Wasser gesäubert und anschließend die Knöllchen von der Wurzel mit einer Pinzette gelöst und abgezählt. Blätter die bereits vor der Ernte abgefallen waren, wurden gesammelt und bei der Ernte zum entsprechenden Pflanzenmaterial hinzugegeben. Das gesamte Pflanzenmaterial trocknete im Trockenschrank bei einer Temperatur von 65°C bis zur Gewichtskonstanz. Nach der Bestimmung der Trockenbiomasse wurde das Pflanzenmaterial mit einer handelsüblichen Kaffemühle grob und anschließend mit einer Kugelmühle (Retsch MM 2000/ MM 200) fein gemahlen. Nach Homogenisieren des gemahlten Materials wurden 1,5 bis 2 mg für die Messung im Massenspektrometer in Zinnkapseln (5x9mm; IVA Analysetechnik e.K.) eingewogen.

Zur Analyse des Saatgutes im Massenspektrometer wurde in 3 Wiederholungen eine Mischprobe aus 4 Samen hergestellt. Dabei wurden je Sorte repräsentative Samen ausgewählt, im Trockenschrank bei 65°C getrocknet und mit der Kugelmühle fein gemahlen. Aufgrund des hohen Ölgehaltes der Samen war es nicht möglich, wie beim restlichen Pflanzenmaterial, ein ähnlich homogenes Material zu erhalten. Aus diesem Grund wurden repräsentativ für alle Sorten, von der Sorte A aus jeder Wiederholung zusätzlich 3 Stichproben zur Analyse im Massenspektrometer entnommen.

2.1.6. Analyse

Massenspektrometer

Die Analyse am Massenspektrometer im Department für Chemische Ökologie und Ökosystemforschung an der Universität Wien führte freundlicherweise Mag. Margarete Watzka durch. Die Messung der N und C Konzentration, sowie die beiden Isotopenverhältnisse $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ erfolgten mit einem continuous-flow IRMS System. Dieses besteht aus einem Elementaranalysator (EA 1110; CE Instruments, Mailand, Italien), welches mit einem Gasmassenspektrometer (Delta^{PLUS}; Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) verbunden ist. Die Referenzgase (high purity CO₂ und N₂ Gas; AGA, Wien,

Österreich) wurden zum Vienna-Pee-Dee Belemnite (V-PDB) Standard, durch Verwendung von IAEA-CH-6 und IAEA-CH-7, und zum atmosphärischen N₂ Standard durch Verwendung IAEA-NO-3, IAEA-N-1 und 2 Referenzmaterialien (Internationale Atomenergieorganisation, IAEA, Wien Österreich) kalibriert. Die N und C Isotopenabundanz jeder Probe wurden in einem einzigen Lauf gemessen, wobei die N und C Referenzgase bei jeder Analyse mit durchliefen.

Die natürliche Abundanz von ¹⁵N und ¹³C wurden wie folgt analysiert:

$$\delta^{15}\text{N} [\text{‰ versus at air}] = (R_{\text{Probe}} / R_{\text{Standard}} - 1) \times 1000$$

$$\delta^{13}\text{C} [\text{‰ versus V-PDB}] = (R_{\text{Probe}} / R_{\text{Standard}} - 1) \times 1000$$

wobei R das Verhältnis von ¹⁵N/¹⁴N für die Stickstoff- und ¹³C/¹²C für die Kohlenstoffisotopenabundanz beschreibt (Wania et al., 2002). In dieser Arbeit wurden nur die $\delta^{15}\text{N}$ Werte abgehandelt. Die Standardabweichung für $\delta^{15}\text{N}$ beträgt bei wiederholten Messungen des Laborstandards 0,15‰.

2.2. Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa und Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wert von *Amaranthus retroflexus* durch die Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.)

Der Feldversuch fand in Obersiebenbrunn (Niederösterreich) im Zeitraum vom 7. Mai bis 2. Oktober 2008 statt. Obersiebenbrunn liegt im Marchfeld und gehört nach pflanzengeographischen und klimatologischen Gesichtspunkten dem Pannonikum an. Dieses Gebiet ist mit viel Sonnenschein, hohen Temperatursummen in der Vegetationsperiode und relativ geringen Niederschlägen gekennzeichnet und liegt in der wärmsten und trockensten Zone Österreichs (Umweltbundesamt, 2000). Das Lufttemperatur-Jahresmittel beträgt über 9°C und die mittlere Jahresniederschlagssumme liegt zwischen 500 mm und 600 mm (Cepuder et al., 1998, ZAMG, 2009).

Die Ackerfläche ist durch eine tiefgründige, stark kalkhaltige Schwarzerde (Tschernosem) gekennzeichnet. Der Boden besitzt mittlere Wasserverhältnisse mit mäßig bis geringer Durchlässigkeit. Der A-Horizont des Bodens ist als mittelhumoser Mullhumus ausgebildet (eBOD). Die Vorfrüchte auf dieser Ackerfläche waren ab 2004 Karotte, Winter Weizen, Mais, und Sojabohne.

Die Analysen der Bodenbeprobung mittels CFA (Continuous-Flow Analytik) ergaben vor dem Anbau einen Ausgangsstickstoffgehalt von 131 kg/ha NO₃-N in den oberen 90 cm Boden. Die Herbstbeprobung nach der Ernte ergab einen Stickstoffgehalt von 62 kg/ha NO₃-N.

2.2.1. Versuchsdesign

Der Versuch wurde mit handelsüblichen Geräten manuell in Reihensaat als eine randomisierte Blockanlage angebaut. Die Parzellengröße betrug 3m x 3m mit einem Reihenabstand von 50 cm und einem Saatgutabstand von 4 cm. Jede Variante wurde in 4 Wiederholungen angelegt. Die Sorte A wurde in einer Variante mit einer Mischung aus den Inokulationspräparaten RWA Torf und RWA flüssig (*Bradyrhizobium japonicum*) beimpft. In einer zweiten Variante fand keine Beimpfung mittels Inokulationslösung statt. *Amaranthus retroflexus* ging als Beikraut in jeder Parzelle auf. In den Sojapartellen wurde er händisch durch ausreißen reguliert. In den Zwischenreihen wurde er mit einer Sternradhacke entfernt. In den Referenzparzellen diente der Amaranth als Referenzpflanze, deshalb ließ man ihn frei wachsen.

Angebaut wurden folgende Varianten:

Pflanze/Sorte	Inokulationslösung	Wiederholung
Sorte A	RWA-Torf und RWA- flüssig	4
Sorte A	Nicht inokuliert	4
Referenzpflanze: <i>Amaranthus retroflexus</i>		4

2.2.2. Ernte und Vorbereitung zur Analyse

Während der Vegetationsperiode wurde insgesamt an 8 Terminen (11.6.2008; 23.6.2008; 08.7.2008; 16.07.2008; 28.07.2008; 06.08.2008; 18.08.2008; 03.09.2008) geerntet, bei der jeweils 3 Einzelpflanzen ausgegraben und in Spross, Wurzel und Knöllchen getrennt wurden. Die Trocknung des Erntegutes erfolgte im Trockenschrank bei > 60°C. Die Endernte erfolgte zur Vollreife händisch, wobei je Parzelle 3 Laufmeter mit einer handelsüblichen Rebschere abgeschnitten wurden. Zur Bestimmung der Biomasse und des ¹⁵N/¹⁴N Verhältnisses erntete man ganze Pflanzen und trennte sie in Spross, Wurzel und Knöllchen. Das Erntegut wurde bei 45°C im Trockenschrank getrocknet. Die Trocknung bei niedrigen Temperaturen war notwendig um das Denaturieren der Proteine zu verhindern. Anschließend wurden die Bohnen aus den Hülsen herausgelöst, um die Parameter: Kornertrag, Tausendkorngewicht, Proteingehalt und Ölgehalt zu ermitteln.

Amaranthus retroflexus wurden am 18.08.2008 geerntet. Da der Amaranth in erster Linie als Referenzpflanze diente wurden nur die oberirdischen Pflanzenteile geerntet, zusätzlich war es nicht notwendig den gesamten Bestand zu ernten. Teilweise wurden auch nur Teile der Pflanze geerntet. Anschließend wurden die Amaranthpflanzen bei >60°C im Trockenschrank getrocknet und gemahlen.

2.2.3. Analyse

NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)

Der Protein- und Ölgehalt wurde mittels der Nahinfrarot-Reflexionsspektroskopie (NIRS; Bruker Matrix-IFT-NIR; Bruker, Ettlingen, Deutschland) gemessen. Bei dieser Methode nutzt man, um Gehaltswerte (mg/g) von Inhaltsstoffen zu ermitteln, die Absorption bzw. Reflexion von nahem Infrarot Licht (800-2600 nm) bei organischen Verbindungen.

Die getrockneten Bohnen wurden unmittelbar vor der Messung mit einer handelsüblichen Mühle gemahlen und anschließend die vermahlene Probe in die Messküvette eingefüllt. Jede zu analysierende Probe wurde in 3 Wiederholungen gemessen. Als Referenzwert diente hierfür die N-Bestimmungen nach Kjeldahl für die Proteingehaltsmessung und die Soxhlet-Extraktion für die Ölgehaltbestimmung. Die eigentliche Kalibration des Gerätes geschah mathematisch. Dabei wurden Absorptionen bei einzelnen Wellenlängen mit den Öl- und Protein-gehalten (aus den Referenzproben) in Verbindung gebracht und sog. Kalibrationsgleichungen erstellt. Mit deren Hilfe konnten aus den Absorptionswerten der unbekannt Proben die Gehalte errechnet werden (Vollmann, 2002).

Massenspektrometer

Zur Bestimmung des $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnisses wurde in gleicher Weise wie im Topfversuch vorgegangen.

2.3. Berechnungen und statistische Auswertung

Die natürliche Abundanz des ^{15}N Isotops ist sehr gering und wird deshalb als eine δ (delta) Notation mit der Einheit (‰) angegeben, welche die relative Abweichung des Isotopen Verhältnisses einer Probe vom internationalen Standard (Luftstickstoff) ist. Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel (Unkovich et al., 1994):

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰})_{\text{Probe}} = \frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{Probe}} - {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{Luft}}}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{Luft}}} * 1000$$

Um eventuell unterschiedliche Diskriminierung von ^{15}N bei den verschiedenen Sorten im Transport von den Knöllchen in die Sojapflanze festzustellen, wurden folgende Berechnungen durchgeführt. Wobei Δ_{Export} die Signatur des aus dem Knöllchen exportierten N ist und $\Delta_{\text{Retention}}$ die Signatur des im Knöllchen verbleibenden N ist.

$$\Delta_{\text{Export}} = \frac{(N_{\text{Gesamt}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Gesamt}}) - (N_{\text{Knöllchen}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Knöllchen}})}{N_{\text{Gesamt}} - N_{\text{Knöllchen}}}$$

$$\Delta_{\text{Retention}} = \frac{(N_{\text{Gesamt}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Gesamt}}) - (N_{\text{Spross}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Spross}} + N_{\text{Wurzel}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Wurzel}})}{N_{\text{Gesamt}} - (N_{\text{Spross}} + N_{\text{Wurzel}})}$$

- Gesamt = Gesamtpflanze (Spross+Wurzel+Knöllchen)

Die Berechnung der während einer Reaktion auftretenden Änderung des δ Wertes bei der Umwandlung des Substrates in das Produkt in einem geschlossenen System nach der Rayleigh Fraktionierungskinetik, erfolgte nach Mariotti et al. (1981)

$$\delta_{\text{residuale Substrat}} = \delta_0 + \epsilon * \ln(1-f)$$

$$\delta_{\text{kumulatives Produkt}} = \frac{\epsilon * (1-f) * [\ln(1-f)]}{f}$$

- δ_0 = ist die $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des Substrates bei Reaktionsbeginn
- ϵ = Anreicherungsfaktor
- f = ist der Anteil des Substrates, der während der Reaktion bereits verbraucht wurde

Die Saatgutkorrektur erfolgte für den Spross $\delta^{15}\text{N}$ nach (Okito et al., 2004)

$$\delta^{15}\text{N}_{(\text{SK})} = \frac{(N_{\text{Spross}} * \delta^{15}\text{N}_{\text{Spross}}) - (N_{\text{Saatgut}} * P_s * \delta^{15}\text{N}_{\text{Saatgut}})}{(N_{\text{Spross}} - (N_{\text{Saatgut}} * P_s))}$$

- SK = saatgutkorrigiert
- P_s = der Anteil des Saatgutstickstoffs der im Sprossgewebe eingebaut wurde. Die Berechnung erfolgte nach anteilmäßiger Verteilung des N der Gesamtpflanzen in das Sprossgewebe und war in diesem Fall ca. 87%

Zur Berechnung des Prozentanteils des fixierten Stickstoffs aus der Atmosphäre zur Gesamtstickstoffaufnahme einer Leguminose (%Ndfa), wurde folgende Formel verwendet (Shearer et al., 1986):

$$\%Ndfa = \frac{\delta^{15}N_{\text{Referenzpflanze}} - \delta^{15}N_{\text{Leguminose}}}{\delta^{15}N_{\text{Referenzpflanze}} - B} * 100$$

- . Referenzpflanze: nicht stickstofffixierende Pflanze. In dieser Untersuchung wurde dafür eine nicht nodulierende Soja und *Amaranthus retroflexus* verwendet.
- . B = $\delta^{15}N$ Wert von einer nodulierten Leguminose, die den gesamten Stickstoffbedarf durch Stickstofffixierung deckt.

Die statistische Auswertung erfolgte durch Varianzanalyse unter Verwendung des Programms PASW Statistics 17.0 (SPSS). Mittels Levene-Test wurde die Homogenität der Varianzen überprüft. Die Mittelwerte aus normalverteilten Daten mit homogenen Varianzen wurden mit ANOVA und Tukey post-hoc bzw. t-Test verglichen. Die Korrelationsanalyse erfolgte durch das Programm Statgraphics Plus 5.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics Inc., Maryland, USA). Die grafische Darstellung der Ergebnisse wurde mit Excel 2007 durchgeführt. In Tabellen und Abbildungen wurde immer der arithmetische Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt.

3. Ergebnis

3.1. Topfversuch - Ermittlung der B- Werte

3.1.1. Allgemeine Entwicklung- und Habitusbeschreibung

Das Wachstum der Sojapflanzen unterschied sich im Glashaus stark von im Freiland wachsenden Pflanzen. Bereits die Keimlinge zeigten Anzeichen der Vergeilung. Die Internodienlänge war sehr groß und der Sprossdurchmesser sehr gering. Auch mit zunehmendem Höhenwachstum nahm die Internodienlänge kaum ab.

Der gleiche Habitus konnte bei Versuchen an der BOKU und Universität Wien, die die Auswirkung unterschiedlicher Kunstlichtquellen auf das Längenwachstum der Internodien von Sojabohnen untersuchten, festgestellt werden. Die in der Arbeit verwendeten Natriumdampflampen zeigten ein geringeres Bestrahlungsniveau, als die in unserem Versuch verwendet wurden und schränken damit den Vergleich ein. Der Versuch zeigte aber dennoch, dass bei künstlicher Beleuchtung von Sojapflanzen, eine solche zum Freiland abweichende Wuchsform nicht unüblich ist. Die Untersuchungen wiesen zudem darauf hin, dass die langen Internodien nicht nur von der Bestrahlungsstärke beeinflusst waren, sondern dass hauptsächlich das Fehlen von seitlich einfallendem Licht für die langen Internodien verantwortlich war. Offenbar wird dieses seitlich einfallende Licht schon in den frühen vegetativen Stadien der Sojapflanze wirksam (Gruber, 1986). Somit sollte bei den nächsten Versuchen eher eine großflächige Anordnung der Lampen, zur Zusatzbeleuchtung und Tagesverlängerung, angestrebt werden und nicht nur direkt oberhalb der Sojapflanzen.

Die Gesamtentwicklung der Pflanze war sehr schnell. So erreichten die Pflanzen das Vollblüte – Stadium (R2) bereits 6 Wochen nach der Ansaat. Im Gegensatz dazu setzt die Blüte im Freiland normalerweise 6-7 Wochen nach Auflaufen ein (Größ und Schmidt, 2007). Die Kontrollpflanzen zeigten schon nach 6 Wochen erste Seneszenzerscheinungen. Blätter begannen zu vergilben und das Höhenwachstum wurde eingestellt. Um einen zu großen Biomasseverlust zu verhindern, wurden sie vor der angesetzten Ernte bereits nach 8 Wochen geerntet.

Jene Varianten die mit dem Präparat Radicin und mit der Inkrustierungslösung inokuliert wurden, zeigten die gleichen Merkmale wie die Kontrollpflanzen. Die Bakterienstämme in der Inokulationslösung waren demnach am Zeitpunkt des Beimpfens bereits tot und konnten keine Nodulierung auslösen. Wie bei den Kontrollpflanzen konnten nur vereinzelt Knöllchen an den Wurzelenden gefunden werden, die durch leichte Verunreinigung entstanden waren.

Positive Nodulierung gab es demnach nur bei den beiden Applikationsvarianten RWA Torf und RWA flüssig. Dadurch konnten keine Bakterienstamm -unterschiede bzw. -vergleiche beim B- Wert gezeigt bzw. vorgenommen werden. In weiterer Folge konnte so nur auf die unterschiedlichen Sorten eingegangen werden.

Nach 11 Wochen, als das Stadium der maximalen Körnerbildung (R6) bei allen Pflanzen erreicht wurde, fand die Endernte statt.

Habitusbeschreibung der verschiedenen Varianten bei der Endernte:

- **Sorte A (RWA flüssig):** Der Spross war kaum verzweigt und der Stängel sehr dünn (2 mm Durchmesser). Die Hülsen waren 4-5 cm lang und gut gefüllt. Der Blattverlust bis zur Endernte war sehr gering.
- **Sorte A (RWA Torf und RWA flüssig):** Der Spross war kaum verzweigt und der Stängel dünn (3 mm Durchmesser). Die Hülsen waren 4-5 cm lang und gut gefüllt. Der Blattverlust bis zur Endernte war sehr gering.
- **Cardiff (RWA Torf und RWA flüssig):** Der Spross war leicht verzweigt, der Stängel war relativ kräftig (5 mm Durchmesser) ausgebildet. Die Pflanzen besaßen eine große Anzahl an Hülsen (Länge 5 cm), aber nicht alle waren prall gefüllt.
- **Essor (RWA Torf und RWA flüssig):** Der Spross war kaum verzweigt, der Stängel war relativ kräftig (5 mm Durchmesser) ausgebildet. Die Hülsen waren 4-5 cm lang und gut gefüllt. Der Blattverlust bis zur Endernte war sehr gering.
- **Maple Arrow (RWA Torf und RWA flüssig):** Der Spross war kaum verzweigt, der Stängel war durchschnittlich (4 mm Durchmesser) ausgebildet. Die Hülsen waren 5-6 cm lang und gut gefüllt. In der Endphase war der Blattverlust groß.
- **Primus (RWA Torf und RWA flüssig):** Der Spross war stark verzweigt, der Stängel war relativ kräftig (5 mm Durchmesser) ausgebildet. Geringe Anzahl an Hülsen (Länge: 4 cm), welche nicht gut gefüllt waren. In der Endphase war der Blattverlust groß.

3.1.2. Biomasse, Stickstoffkonzentration und Stickstoffgehalte

Im Sortenvergleich war zu beobachten, dass Primus sowohl in den oberirdischen als auch in den unterirdischen Pflanzenteilen im Mittel die größte Biomasse aufzeigte. Die Sorte A besaß hingegen im Mittel die niedrigsten Werte und unterschied sich in allen Pflanzenorganen signifikant von Primus. Die Sorten Cardiff und Eссор besaßen in der Spross- und Wurzelbiomasse ebenfalls signifikant höhere Werte als die Sorte A, konnten sich aber von Primus nicht signifikant abheben. Die Sorte Maple Arrow befand sich sowohl

im Spross als auch in der Wurzel im Mittelfeld und unterschied sich nicht signifikant von den anderen untersuchten Sorten. In der Knöllchenanzahl zeigte keine Sorte signifikant unterschiedliche Werte. Zwar zeigte Primus im Mittel die größte Anzahl, konnte sich aber aufgrund der großen Streuung bei allen Sorten, nicht signifikant abheben. Bei der Knöllchenbiomasse besaß aber Primus signifikant das höchste Trockengewicht. Die niedrige Knöllchenbiomasse von der Sorte A war nur gegenüber Primus und Cardiff signifikant.

Sortenunterschiede bei den N Konzentrationen waren auch in den verschiedenen Pflanzenteilen zu beobachten. Im Mittel war die N Konzentration in den Knöllchen und Wurzeln bei Primus am höchsten und bei der Sorte A am geringsten. Hingegen im Spross zeigte die Sorte A signifikant die größte N Konzentration und Primus die geringste.

Der Gesamtstickstoffgehalt des Sprosses zeigte im Sortenvergleich dagegen keine signifikanten Unterschiede. Bei den Wurzeln traten aber wieder starke Sortenunterschiede auf. Im Gesamtstickstoffgehalt der Knöllchen unterschieden sich die Sorte A, Cardiff und Primus signifikant voneinander. Bei Betrachtung der Gesamtpflanze gab es ausschließlich nur einen signifikanten Unterschied von der Sorte A zur Sorte Primus.

Tabelle 3. Trockengewicht, N Konzentration, N Gehalt der verschiedenen Pflanzenorgane von Sojapflanzen der Sorten: Sorte A, Cardiff, Essor, Maple Arrow und Primus; inokuliert mit *Bradyrhizobium japonicum* (Impfpräparat: Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig). Alle Pflanzen wurden bei maximaler Körnerbildung im R6 Stadium geerntet.

Pflanzenorgan/ Sorte	Trockengewicht (g)	N Konzentration (%)	N Gehalt (mg N Topf ⁻¹)
Sorte A			
Spross	18,718 ± 0,92 a	3,939 ± 0,28 c	737,88 ± 71,9 a
Wurzel	1,607 ± 0,13 k	1,696 ± 0,16 k	27,29 ± 3,8 k
Knöllchen	0,758 ± 0,08 x	6,281 ± 0,19 x	47,65 ± 5,6 x
Gesamtpflanze			812,83 ± 7,8 s
Knöllchenanzahl	308,6 ± 67,55		
Saatgut TKG ^a	189,0 ± 7,05		
Cardiff			
Spross	24,754 ± 2,78 b	3,313 ± 0,24 ab	816,44 ± 71,7 a
Wurzel	3,488 ± 0,64 m	2,003 ± 0,21 m	70,69 ± 18,9 m
Knöllchen	0,998 ± 0,18 y	7,097 ± 0,20 z	70,74 ± 12,7 y
Gesamtpflanze			957,87 ± 10,1 st
Knöllchenanzahl	349,8 ± 72,81		
Saatgut TKG ^a	186,3 ± 9,59		
Essor			
Spross	23,028 ± 1,52 b	3,599 ± 0,31 b	827,18 ± 70,6 a
Wurzel	2,627 ± 0,24 l	1,924 ± 0,11 kl	50,56 ± 5,4 l
Knöllchen	0,923 ± 0,09 xy	6,399 ± 0,08 xy	59,01 ± 6,2 xy
Gesamtpflanze			936,75 ± 7,3 st
Knöllchenanzahl	353,2 ± 65,77		
Saatgut TKG ^a	189,1 ± 5,94		
Maple Arrow			
Spross	21,770 ± 2,71 ab	3,698 ± 0,37 b	799,53 ± 77,7 a
Wurzel	2,249 ± 0,20 l	1,866 ± 0,16 kl	42,10 ± 6,6 kl
Knöllchen	0,857 ± 0,13 xy	6,688 ± 0,17 y	57,41 ± 9,5 xy
Gesamtpflanze			899,05 ± 8,4 st
Knöllchenanzahl	323,4 ± 93,38		
Saatgut TKG ^a	201,0 ± 21,97		
Primus			
Spross	25,352 ± 1,07 b	3,040 ± 0,14 a	770,03 ± 32,7 a
Wurzel	4,637 ± 0,22 n	2,440 ± 0,11 n	113,10 ± 6,6 n
Knöllchen	1,279 ± 0,12 z	7,239 ± 0,42 z	92,68 ± 10,0 z
Gesamtpflanze			975,81 ± 3,1 t
Knöllchenanzahl	416,2 ± 40,78		
Saatgut TKG ^a	218,9 ± 8,63		

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungen
- TKG = Tausendkorngewicht (^a die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 2 Wiederholungen)
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten in den verschiedenen Pflanzenorganen bei P<0,05 (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Die Korrelationsanalyse von ober- zu unterirdischer Biomasse aller Sorten lieferte bei beiden Erntezeitpunkten (R2 und R6) hoch signifikante Beziehungen (p<0,01). Große

Knöllchenbiomasse ging mit Investition in große Sprossbiomasse und größerer Wurzelbiomasse einher. Die Knöllchenanzahl zeigte zum Zeitpunkt der maximalen Körnerbildung eine geringere Korrelation mit der Pflanzenbiomasse, als zum Zeitpunkt der Vollblüte, da die Variation der Knöllchengröße im ausgewachsenen Stadium größer war. Grundsätzlich war aber auch hier zu beobachten, dass die Biomasse mit steigender Knöllchenanzahl anstieg. Die Saatgutbiomasse zeigte eine hoch signifikante Beziehung mit der Sprossbiomasse ($p < 0,01$) und eine signifikante Beziehung mit der Wurzelbiomasse ($p < 0,05$). Der Gesamtstickstoff der Knöllchen korrelierte hoch signifikant ($p < 0,01$) mit dem Gesamtstickstoff der Wurzeln. Die Beziehung der beiden Parameter zum Gesamtstickstoff des Sprosses war zwar signifikant ($p < 0,05$), zeigte jedoch nur eine schwache Korrelation. Der Stickstoffgehalt des Saatgutes korrelierte ausschließlich mit dem N-Gehalt des Sprosses hoch signifikant ($p < 0,01$).

Tabelle 4. Korrelation der ermittelten Parameter bei der 1. Ernte nach 6 Wochen bei der Vollblüte im R2 Stadium und bei der 2. Ernte nach 11 Wochen bei maximaler Körnerbildung im R6 Stadium von der Sorte A (n=10) (P<0,01; *P<0,05; n.s. P ≥ 0,05)**

Ernte	Beschreibung	Korrelations-Koeffizient	P
1. Ernte im R2 Stadium	Sprossbiomasse x Wurzelbiomasse	0,880494	**
	Sprossbiomasse x Knöllchenbiomasse	0,978724	**
	Sprosslänge x Sprossbiomasse	0,871134	**
	Sprosslänge x Wurzelbiomasse	0,822049	**
	Sprosslänge x Knöllchenanzahl	0,884296	**
	Knöllchenbiomasse x Knöllchenanzahl	0,976995	**
	Wurzelbiomasse x Knöllchenanzahl	0,883426	**
	Wurzelbiomasse x Knöllchenbiomasse	0,932427	**
	Gesamtstickstoff Spross x Gesamtstickstoff Wurzel	0,994195	**
	Gesamtstickstoff Spross x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,992214	**
	Gesamtstickstoff Wurzel x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,985376	**
	Gesamtstickstoff Pflanze x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,993928	**
2. Ernte im R6 Stadium	Saatgutbiomasse x Sprossbiomasse	0,604376	**
	Saatgutbiomasse x Wurzelbiomasse	0,366093	*
	Sprossbiomasse x Wurzelbiomasse	0,862333	**
	Sprossbiomasse x Knöllchenbiomasse	0,887219	**
	Knöllchenbiomasse x Knöllchenanzahl	0,691048	**
	Wurzelbiomasse x Knöllchenbiomasse	0,892387	**
	Gesamtstickstoff Spross x Gesamtstickstoff Wurzel	0,370972	*
	Gesamtstickstoff Spross x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,434703	*
	Gesamtstickstoff Wurzel x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,924161	**
	Gesamtstickstoff Saatgut x Gesamtstickstoff Spross	0,610138	**
	Gesamtstickstoff Saatgut x Gesamtstickstoff Wurzel	0,310463	n.s.
	Gesamtstickstoff Pflanze x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,745096	*
Gesamtstickstoff Saatgut x Gesamtstickstoff Knöllchen	0,317170	n.s.	

3.1.3. $\delta^{15}\text{N}$

Die unterschiedlichen Pflanzenteile der Sojapflanze variierten stark in ihrer $\delta^{15}\text{N}$ Signatur. Im Zuge der gesamten Wachstumszeit bis zum angesetzten Erntetermin nach 11 Wochen fand, relativ zum Ausgangsverhältnis im Saatgut, eine starke ^{15}N Anreicherung in den Knöllchen und eine gleichzeitige Abreicherung im nicht nodulären Gewebe statt (Tabelle 6). Bereits frühe Studien von Shearer et al. (1989) zeigten eine ^{15}N Anreicherung in den Knöllchen, infolge der Isotopendiskriminierung bei der N Umsetzung im Knöllchen. Während die ^{15}N Anreicherung bis zur 11. Woche (R6 Stadium) in den Knöllchen noch stetig zunahm, erreichte die ^{15}N Abreicherung im Spross bereits nach 6 Wochen, im R2 Stadium, den Höhepunkt (Abb.1). Die ^{15}N Anreicherung in den Knöllchen zwischen den beiden Ernteterminen war von einer leichten Zunahme der Knöllchenanzahl und einer starken Zunahme der Knöllchenbiomasse begleitet.

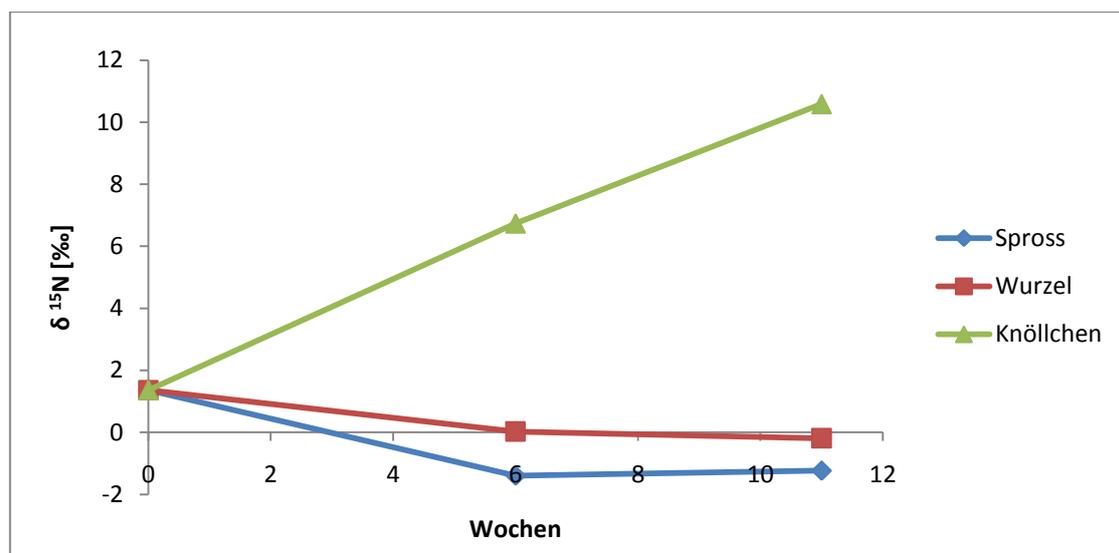


Abb.1: $\delta^{15}\text{N}$ Wert (‰) von Sorte A, inokuliert mit *Bradyrhizobium japonicum* (Impfpräparat: Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig), im Laufe der Wachstumszeit von insgesamt 11 Wochen. Die Werte stammten aus 2 gezielt gewählten Erntezeitpunkten im R2 und R6 Stadium der Sojabohne. Die Standardabweichungen der $\delta^{15}\text{N}$ Werte waren sehr gering und können in der Grafik nicht verdeutlicht werden. Aus diesem Grund sind die entsprechenden Werte in der folgenden Tabelle angeführt.

Tabelle 6. $\delta^{15}\text{N}$ Werte [‰] der Sorte A, inokuliert mit einer Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig, in den verschiedenen Pflanzenorganen im Zeitverlauf

Pflanzenorgan	Wachstumszeit (Wochen)		
	0 Wochen ^a	6 Wochen	11 Wochen
Saatgut	1,363 ± 0,30		
Spross	-	-1,397 ± 0,07	-1,238 ± 0,07
Wurzel	-	0,027 ± 0,25	-0,188 ± 0,49
Knöllchen	-	6,735 ± 0,20	10,582 ± 0,31
Knöllchenanzahl		279,0 ± 13,6	308,6 ± 67,6
Knöllchenbiomasse		0,359 ± 0,02	0,758 ± 0,08

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungen
- ^a $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis des Saatgutes

Die Daten in Tabelle 7 zeigen die Variation der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur zwischen unterschiedlichen Sorten der Sojabohne in den verschiedenen Pflanzenteilen bei Inokulation mit dem gleichem Impfpräparat. Bei allen Sorten war das $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis des Sprosses negativ und die $\delta^{15}\text{N}$ Signatur der dazugehörigen Knöllchen deutlich positiv. Die Wurzeln hingegen schwankten von leicht negativen zu leicht positiven $\delta^{15}\text{N}$ Werten. Die Werte der Gesamtpflanze lagen geschlossen im leicht negativen Bereich nahe 0 und zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Sorten. Die Unterschiede zwischen den Sorten bei Spross, Wurzeln und Knöllchen waren in unterschiedlichem Maße signifikant. Im Spross besaß Primus den niedrigsten $\delta^{15}\text{N}$ Wert und unterschied sich hiermit signifikant von allen anderen Sorten. Die Sorte A unterschied sich neben Primus hoch signifikant von Eссор und Maple Arrow. Im $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis der Wurzel waren die Sortenunterschiede wesentlich geringer. Nur Cardiff unterschied sich signifikant von Eссор. Bei den Knöllchen zeigten Primus und Cardiff das geringste $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis und unterschieden sich signifikant von der Sorte A, Eссор und Maple Arrow. Die Sorte A zeigte die stärkste ^{15}N Anreicherung in den Knöllchen und unterschied sich signifikant von allen anderen Sorten.

Tabelle 7. $\delta^{15}\text{N}$ Signatur von Spross, Wurzeln, Knöllchen, nodulierte Wurzel und Gesamt Pflanze von Sojapflanzen der Sorten: Sorte A, Cardiff, Essor, Maple Arrow und Primus; inokuliert mit *Bradyrhizobium japonicum* (Impfpräparat: Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig). Alle Pflanzen wurden bei maximaler Körnerbildung im R6 Stadium geerntet.

Sorte	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)				
	Spross	Wurzel	Knöllchen	Nodulierte Wurzel	Gesamte Pflanze + Knöllchen
Sorte A	-1,238 ± 0,07 bc	-0,188 ± 0,49 ab	10,582 ± 0,31 c	6,665 ± 0,61 c	-0,509 ± 0,06 a
Cardiff	-1,306 ± 0,09 b	-0,390 ± 0,22 a	8,202 ± 0,62 a	3,956 ± 0,46 a	-0,540 ± 0,11 a
Essor	-1,097 ± 0,10 d	0,258 ± 0,25 b	8,975 ± 0,20 b	4,951 ± 0,34 b	-0,388 ± 0,07 a
Maple Arrow	-1,142 ± 0,04 cd	0,200 ± 0,44 ab	9,105 ± 0,21 b	5,338 ± 0,23 b	-0,422 ± 0,12 a
Primus	-1,482 ± 0,10 a	0,108 ± 0,15 ab	7,516 ± 0,44 a	3,450 ± 1,21 a	-0,442 ± 0,13 a
p-Wert: Sig.	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,01	0,144

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten in den verschiedenen Pflanzenorganen bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Wie beschrieben, zeigten die Daten bei den verschiedenen Sorten zum Zeitpunkt der Ernte ein unterschiedliches Muster der ^{15}N Verteilung innerhalb der Pflanze, gleichzeitig unterschieden sich die $\delta^{15}\text{N}$ Werte der Gesamtpflanzen nicht signifikant voneinander (Tabelle 7).

Die unterschiedliche ^{15}N Verteilung könnte aufgrund von Entwicklungsunterschieden bei den verschiedenen Sorten aufgetreten sein. Die geringere Anreicherung der Sorte Primus in den Knöllchen und der gleichzeitig abgereicherte Spross im Vergleich zur Sorte A (Tabelle 7) würden für Verteilungsunterschiede aufgrund von Entwicklungsunterschieden sprechen. Ebenfalls wäre aber auch eine unterschiedliche Diskriminierung bei den verschiedenen Sorten im N Export aus den Knöllchen möglich, die zu einer unterschiedlichen ^{15}N Signatur in den Pflanzenteilen führen würde.

Zur Beschreibung der Verteilung von $\delta^{15}\text{N}$ innerhalb der Pflanze wurde die Differenz von $\delta^{15}\text{N}$ zwischen Spross und nodulierte Wurzel ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) herangezogen. Signifikante Unterschiede im $\Delta\delta^{15}\text{N}$ traten bei den verschiedenen Sorten auf (Tabelle 8). Mit einer Differenz von rund 3 ‰ unterschied sich die Sorte A am stärksten von der Sorte Primus. Die Korrelation zwischen $\Delta\delta^{15}\text{N}$ und der Gesamtmenge an fixiertem N wies einen linearen

Zusammenhang auf ($r^2 = 0,55$). Bei höherer N_2 -Fixierung war die Differenz aus ober- und unterirdischer $\delta^{15}N$ Signatur niedriger, als bei geringeren Fixierungsmengen (Abb.2).

Tabelle 8: $\Delta\delta^{15}N$ (Differenz der $\delta^{15}N$ Signatur aus Spross und nodulierter Wurzel) im Sortenüberblick

	$\Delta\delta^{15}N$ (‰)
Sorte	Spross – nodulierte Wurzel
Sorte A	$-7,903 \pm 0,65$ a
Cardiff	$-5,262 \pm 0,42$ cd
Essor	$-6,048 \pm 0,35$ bc
Maple Arrow	$-6,480 \pm 0,26$ b
Primus	$-4,932 \pm 0,29$ d
p-Wert: Sig.	< 0,01

- Die Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung aus 5 Wiederholungen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten im $\Delta\delta^{15}N$ bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

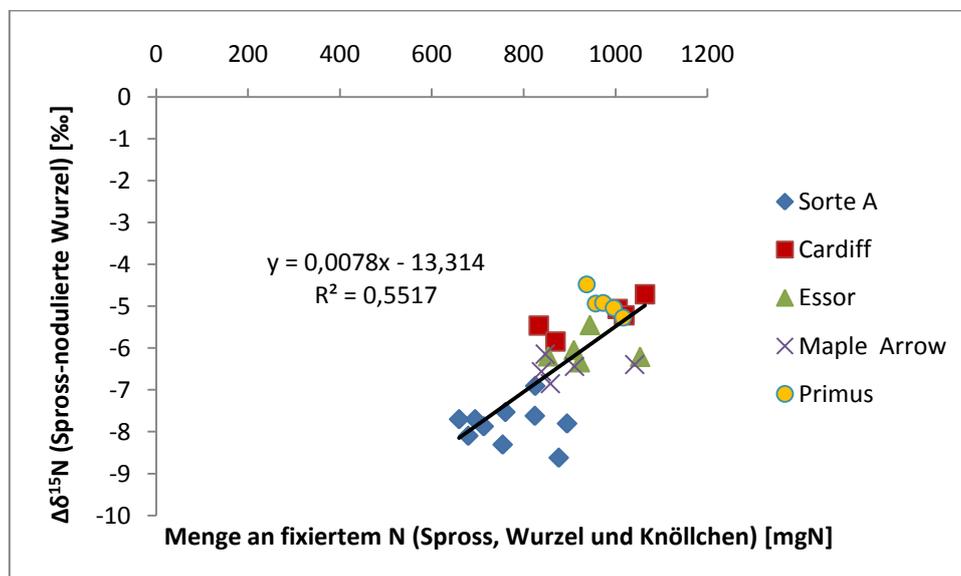


Abb.2: Korrelation zwischen der Menge an fixiertem Stickstoff und der Differenz in den $\delta^{15}N$ Werten von Spross und nodulierten Wurzel von Sojapflanzen, die den Stickstoff ausschließlich durch Stickstofffixierung beziehen.

Wie in Abb.3 ersichtlich, korrelierte die $\delta^{15}N$ Signatur der Knöllchen mit dem Anteil des N in den Knöllchen relativ zum Gesamtpflanzen N. Wie erwartet fand bei einem höheren N Anteil in den Knöllchen eine geringere ^{15}N Anreicherung in den Knöllchen statt. Die

unterschiedlichen Sorten transportierten unterschiedliche Mengen an N aus dem Knöllchen in den Spross. Die Korrelation zwischen dem $\Delta\delta^{15}\text{N}$ und dem Anteil des exportierten N zeigte den gleichen Zusammenhang auf (Abb.4).

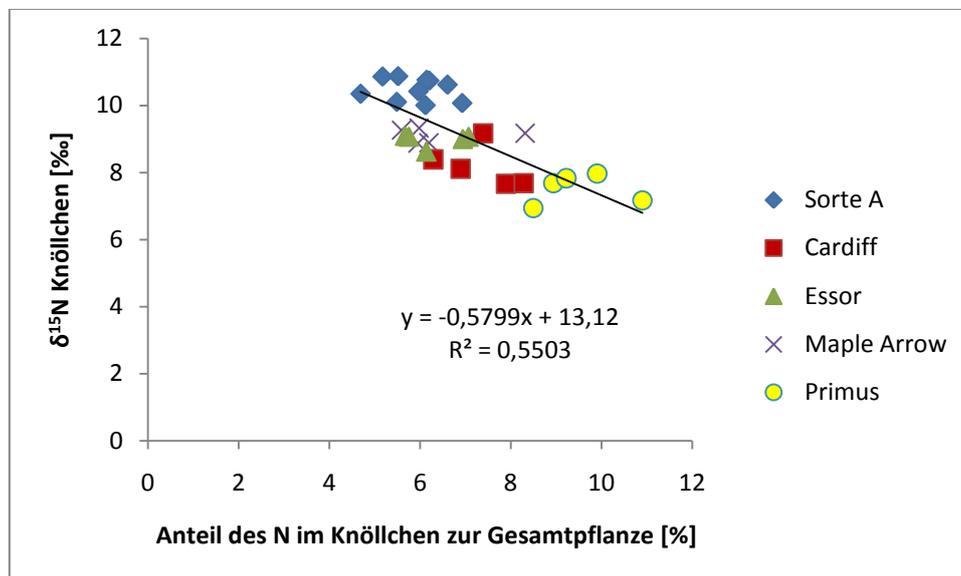


Abb. 3: Korrelation zwischen dem Anteil des Knöllchen N zur Gesamtpflanze und dem $\delta^{15}\text{N}$ der Knöllchen im Sortenvergleich. Eine Abhängigkeit zur Sorte ist ersichtlich.

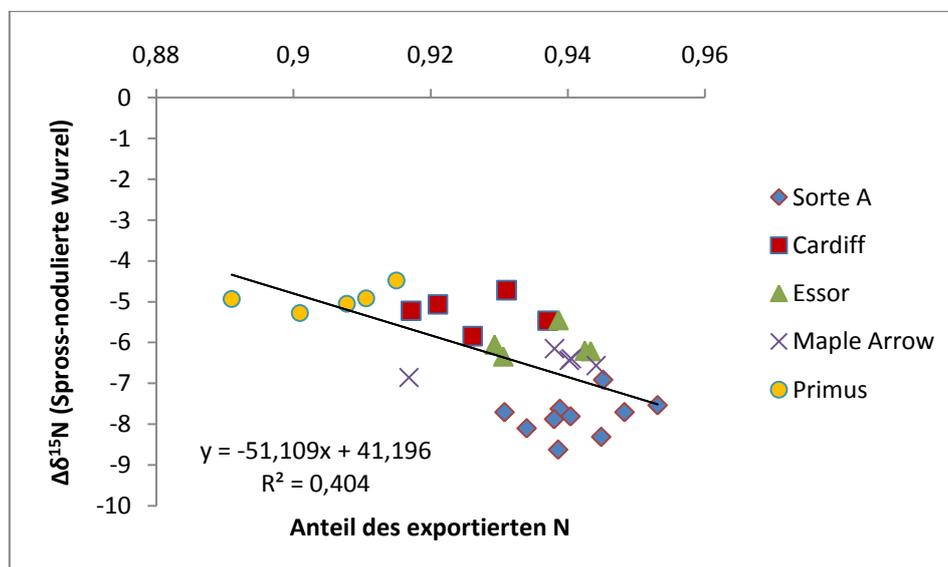


Abb.4: Korrelation zwischen dem Anteil des exportierten N und dem $\Delta\delta^{15}\text{N}$. Es ist zu erkennen, dass bei höherem Anteil des exportierten N, die Differenz zwischen ober- und unterirdischer $\delta^{15}\text{N}$ Signatur größer ist.

Da wie besprochen, die unterschiedliche ^{15}N Verteilung auch durch sortenbedingt unterschiedliche Diskriminierung von ^{15}N im Stickstoffexport verursacht worden sein könnte, wurde die $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des gesamten in die Sojapflanze exportierten N (Δ Export)

berechnet. Im Vergleich zum $\delta^{15}\text{N}$ Wert der Knöllchen (Δ Retention) waren geringere signifikante Sortenunterschiede im Δ Export zu finden (Tabelle 9).

Tabelle 9: $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des von den Knöllchen exportierten N (Δ Export (‰)) und die Signatur des im Knöllchen verbleibenden Stickstoffs (Δ Retention (‰))

Sorte	Anteil des exportierten N	Δ Export (‰)	Δ Retention (‰)
Sorte A	0,94 ± 0,003 a	-1,20 ± 0,05 a	10,582 ± 0,31 c
Cardiff	0,93 ± 0,008 a	-1,23 ± 0,08 a	8,202 ± 0,62 a
Essor	0,94 ± 0,007 a	-1,02 ± 0,03 b	8,975 ± 0,20 b
Maple Arrow	0,94 ± 0,011 a	-1,07 ± 0,04 b	9,105 ± 0,21 b
Primus	0,91 ± 0,010 b	-1,28 ± 0,08 a	7,516 ± 0,44 a
p-Wert: Sig.	< 0,01	< 0,01	< 0,01

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Nach der Annahme, dass der N Transport von den Knöllchen in die Sojapflanze ein geschlossenes unidirektionales Reaktionssystem ist, finden relative Änderungen im $\delta^{15}\text{N}$ in den Komponenten Substrat (N in den Knöllchen) und Produkt (N in Spross und Wurzel) nach dem Rayleigh Modell statt. Bei einem Anreicherungsfaktor ϵ von 3,5 ‰ fielen im Rayleigh Modell die Werte von Δ Export und Δ Retention der verschiedenen Sorten auf die Produkt bzw. Substrat Linien des Rayleigh Modells (Abb.5). Grund für die unterschiedlichen Signaturen bei den Sorten scheinen somit der zeitlich versetzte N Transport von den Knöllchen in Spross und Wurzel zu sein. Die nach den Fraktionierungsgesetzen ablaufende ^{15}N Anreicherung im Substrat, führte je nach Anteil des exportierten N bei den unterschiedlichen Sorten, zu stärker auftretenden Sortenunterschieden im $\delta^{15}\text{N}$ Wert der Knöllchen (Δ Retention) als im Δ Export (Tabelle 9).

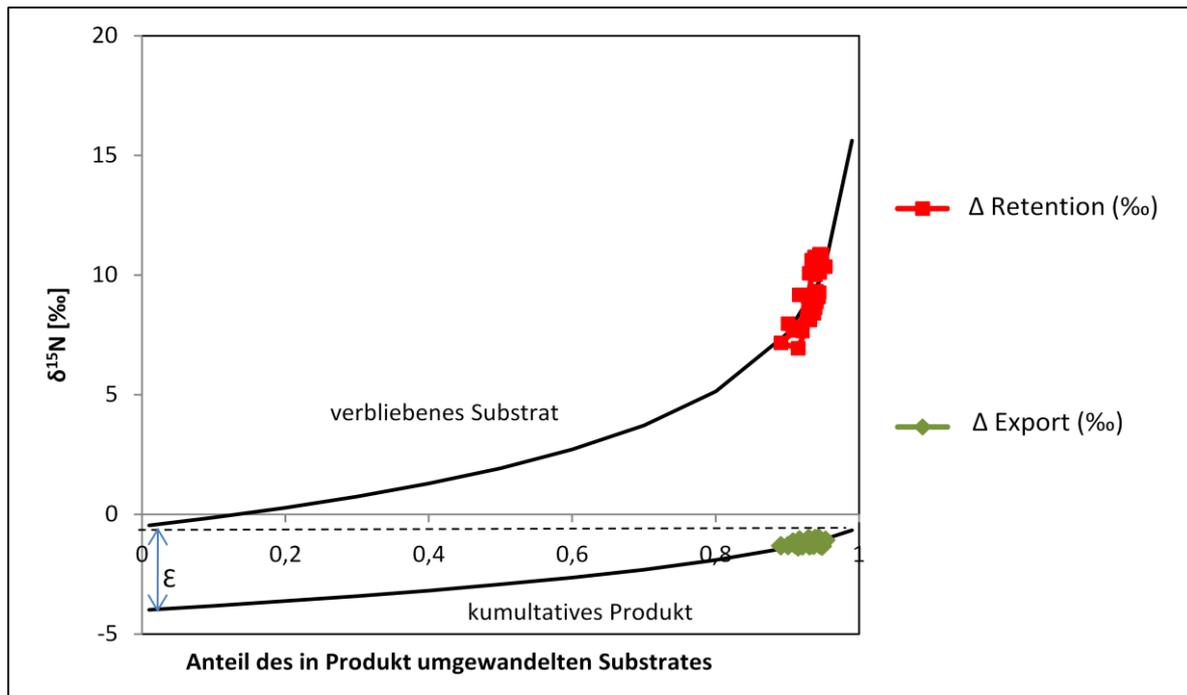


Abb.5: Die erwartete Variation im δ Wert als eine Funktion der Umwandlung des Substrates in das Produkt in einem geschlossenen System nach der Rayleigh Fraktionierungskinetik. Die berechnete Retention bzw. Export von ^{15}N in den Sojapflanzen bei den verschiedenen Sorten fällt bei einem Anreicherungsfaktor (ϵ) von 3,5 ‰ genau auf die entsprechenden Linien.

3.1.4. Eigenschaften des Saatgutes

Zwischen den Sorten zeigte das $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis des Saatgutes große Unterschiede (Abb.6). Die Sorte Eссор wies die höchsten $\delta^{15}\text{N}$ Werte auf und unterschied sich signifikant von allen anderen Sorten. Sorte A und Cardiff unterschied sich neben Eссор auch von Maple Arrow und Primus signifikant. Zur Überprüfung der Streuung der $\delta^{15}\text{N}$ Werte innerhalb einer Wiederholung einer Sorte, wurden von der Sorte A je Wiederholung zusätzlich 3 Stichproben entnommen. Aufgrund der sehr geringen Standardabweichung bei der Sorte A (Abb.8) waren keine signifikanten Differenzen innerhalb einer Wiederholung zu beobachten (Tabelle 10). Maple Arrow und Primus wiesen eine große Standardabweichung auf, wurden aber in dieser Untersuchung nicht näher analysiert.

Tabelle 10. $\delta^{15}\text{N}$ Signatur und N Konzentration im Sortenvergleich des Saatgutes und die Variation des $\delta^{15}\text{N}$ Wertes innerhalb einer Wiederholung

Sorte	Saatgut		Sorte A ^a	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	N Konzentration (%)		
Sorte A	1,363 ± 0,34 a	5,950 ± 0,17 a	Wiederholung 1	1,701 ± 0,05 a
Cardiff	1,200 ± 0,29 a	6,713 ± 0,38 a	Wiederholung 2	1,372 ± 0,06 b
Essor	6,888 ± 0,38 c	6,528 ± 0,27 a	Wiederholung 3	1,014 ± 0,04 c
Maple Arrow	3,564 ± 1,00 b	6,188 ± 0,42 a		
Primus	3,392 ± 0,79 b	6,157 ± 0,24 a		
p-Wert: Sig.	< 0,01	< 0,01	p-Wert: Sig.	0,982

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 3 Wiederholungen
- ^a aus den 3 Wiederholungen der Sorte A, wurden zusätzlich jeweils 3 Stichproben gezogen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bzw. den Wiederholungen bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

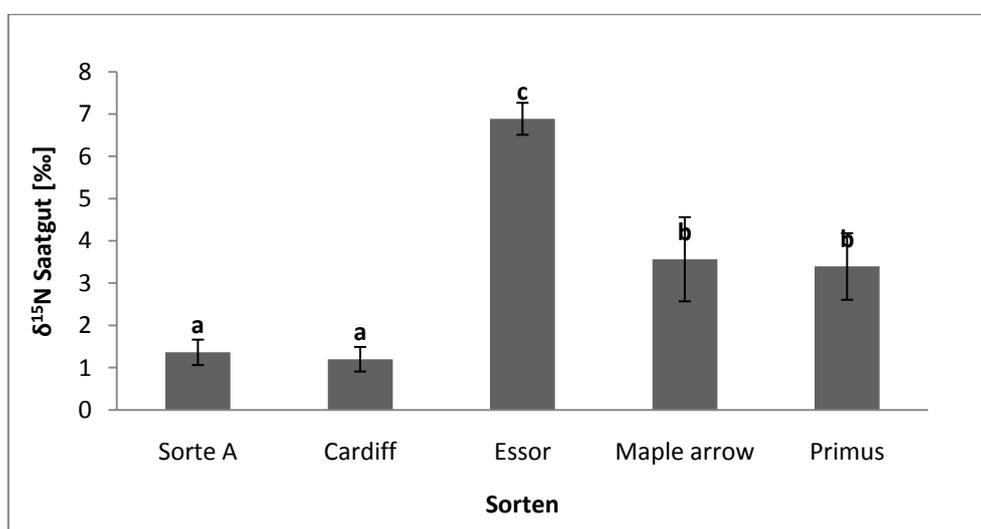


Abb.6: $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des Saatgutes [‰] im Sortenvergleich. Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

3.1.5. Beeinflussung der Messwerte durch das Saatgut und B-Wert

Das Saatgut kann bei manchen Leguminosenarten aufgrund seiner Größe und dem hohen N Gehalt einen großen Anteil des insgesamt akkumulierten Stickstoffes in der Pflanze ausmachen (Okito et al., 2004). Der N Gehalt im Saatgut, der im Versuch verwendeten Sorten, lag im Mittel bei 11,81 mg N/Samen und machte mindestens 2,5% bei Primus bis maximal 3,1% bei Cardiff vom Gesamtstickstoff der Pflanze ohne Knöllchen aus. Im Sortenvergleich traten keine signifikanten Unterschiede auf. Somit herrschten bezüglich des Stickstoffhaushaltes für alle Sorten die gleichen Startbedingungen. Wie bereits besprochen, waren zum Zeitpunkt maximaler Körnerbildung auch keine Sortenunterschiede bezüglich der Stickstoffmenge im Spross vorhanden. Wurzeln und Knöllchen der Sorte Primus besaßen jedoch einen signifikant höheren Stickstoffgehalt als die Sorte A und verursachten dadurch einen ebenfalls höheren N Gesamtgehalt. Die Sorten Cardiff, Eссор und Maple Arrow lagen bei Betrachtung der Stickstoffmenge der Gesamtpflanze genau im Mittel.

Tabelle 11: Stickstoffgehalt des Saatgutes im Vergleich zum Gesamtstickstoffgehalt in der Gesamtpflanze ohne Knöllchen. Zusätzlich die Angabe des Anteils des Saatgutstickstoffes zum Gesamtpflanzenstickstoff in %. Die Werte sind angegeben in mgN/Topf, welches jeweils 2 Pflanzen bzw. 2 Samen entspricht.

Sorte	Gesamt Stickstoffgehalt (mg N Topf ⁻¹)		
	Pflanze ohne Knöllchen	Saatgut ^a	Anteil Saatgut von Pflanzen [%]
Sorte A	765,17 ± 73,1 a	20,71 ± 1,23 a	2,73 ± 0,27 ab
Cardiff	887,14 ± 90,1 a	27,02 ± 2,49 a	3,07 ± 0,32 b
Essor	877,74 ± 71,4 a	26,28 ± 1,32 a	3,01 ± 0,23 ab
Maple arrow	841,64 ± 82,1 a	24,40 ± 2,77 a	2,91 ± 0,26 ab
Primus	883,13 ± 27,8 a	22,73 ± 4,04 a	2,57 ± 0,08 a
p-Wert: Sig.	0,074	< 0,01	< 0,05

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungseinheiten
- ^a die Werte sind Mittelwerte aus 3 Wiederholungen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bei P<0,05 (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Zur Ermittlung eines korrekten B-Wertes von Sojapflanzen, ist es notwendig die ¹⁵N Abundanz des Stickstoffs aus dem Saatgut in die Berechnung mit einzubeziehen. Zur Unterscheidung zwischen Saatgut korrigierten Werten, und Werten bei denen das Saatgut nicht mit einbezogen wurde, wurden die korrigierten δ¹⁵N Werte von mir fortan als B-Wert

bezeichnet. Bei allen Werten die bisher und in Nachfolge nur mit $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis angegeben sind, ist die Beeinflussung durch den Samen ignoriert worden.

Der B-Wert ist die allgemein eingeführte Bezeichnung für das $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis einer Leguminose, bei ausschließlicher Stickstoffaufnahme durch symbiotische Stickstofffixierung.

Die ermittelten Spross B-Werte lagen im Bereich von -1,27 ‰ bis -1,61 ‰. (Abb.7) Diese bewegten sich also deutlich über dem in der Literatur, für die Sojabohne zur Berechnung empfohlenen Wert von -1,83. Bei diesem Literaturwert handelt es sich um einen Mittelwert aus einer Mehrzahl an Experimenten, bei denen die Sojabohnen mit ein oder mehreren Rhizobien Stämmen inokuliert wurden (Unkovich et al., 2008). Dieser B-Wert sollte in der Berechnung für %Ndfa herangezogen werden, wenn kein lokal für die Region bekannter B-Wert bereits publiziert wurde (Unkovich et al., 2008).

Die in diesem Versuch ermittelten sortenspezifischen Spross B-Werte konnten mit von (Bergersen et al., 1988) in Australien ermittelten $\delta^{15}\text{N}$ Werten, die im Bereich von -1,40‰ bis -1,15‰ lagen, verglichen werden.

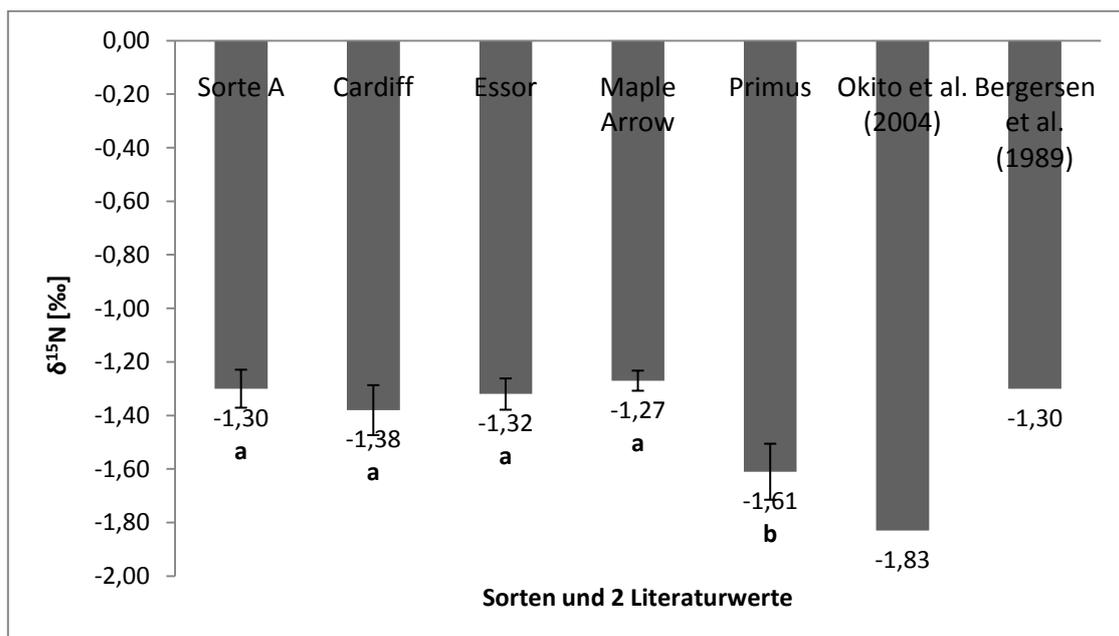


Abb.7: B- Werte der untersuchten Sorten im Vergleich mit 2 Literaturwerten: -1,83:(Okito et al., Brazil (2004); Mariotti, France (1980)); -1,30: (Bergersen et al., Australia (1989)). Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bei $P < 0,05$ (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Beim paarweisen Vergleich der Mittelwerte durch den Tukey-Test stellte sich heraus, dass sich nach der Saatgutkorrektur nur mehr Primus im Spross B-Wert signifikant von allen anderen Sorten unterschied (Tabelle 12). Die Sorten Cardiff, Essor, Maple Arrow und Sorte A unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Im $\delta^{15}\text{N}$ Wert auf Basis der

Gesamtpflanze unterschied sich aber Primus nicht von den anderen Sorten (Tabelle 12). Die $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des Sprosses, vor der Saatgutkorrektur, zeigte deutlich größere signifikante Sortenunterschiede. Dies zeigte den Einfluss des Saatgutes auf den B- Wert und unterstrich die Notwendigkeit der Saatgutkorrektur bei der Berechnung.

Tabelle 12: Gegenüberstellung der nicht saatgutkorrigierten $\delta^{15}\text{N}$ (‰)- Werte für Spross und Gesamt Pflanze zu den entsprechenden B-Werten für die untersuchten Sorten: Sorte A, Cardiff, Eссор, Maple Arrow und Primus; inokuliert mit *Bradyrhizobium japonicum* (Impfpräparat: Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig).

Sorte	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		B-Wert (‰)	
	Spross	Gesamte Pflanze + Knöllchen	Spross ^a	Gesamte Pflanze + Knöllchen ^a
Sorte A	-1,238 ± 0,07 bc	-0,509 ± 0,06 a	-1,304 ± 0,07 a	-0,559 ± 0,06 a
Cardiff	-1,306 ± 0,09 b	-0,540 ± 0,11 a	-1,381 ± 0,09 a	-0,591 ± 0,11 a
Eссор	-1,097 ± 0,10 d	-0,388 ± 0,07 a	-1,325 ± 0,06 a	-0,599 ± 0,08 a
Maple arrow	-1,142 ± 0,04 cd	-0,422 ± 0,12 a	-1,271 ± 0,04 a	-0,533 ± 0,12 a
Primus	-1,482 ± 0,10 a	-0,442 ± 0,13 a	-1,611 ± 0,10 b	-0,534 ± 0,13 a
p-Wert: Sig.	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,78

- Die Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 5 Wiederholungseinheiten
- ^a saatgutkorrigiert; Berechnung nach anteilmäßiger Verteilung des Gesamt N in das Sprossgewebe (87%)
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Sorten bei P<0,05 (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

Abb.8 verdeutlicht die durch die Saatgutkorrektur bedingten Unterschiede in der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur. Der mittlere Unterschied von vor und nach der Saatgutkorrektur war bei der Sorte Eссор am größten (0,23 ‰). Bei den anderen Sorten war das Ausmaß der Saatgutkorrektur relativ gering.

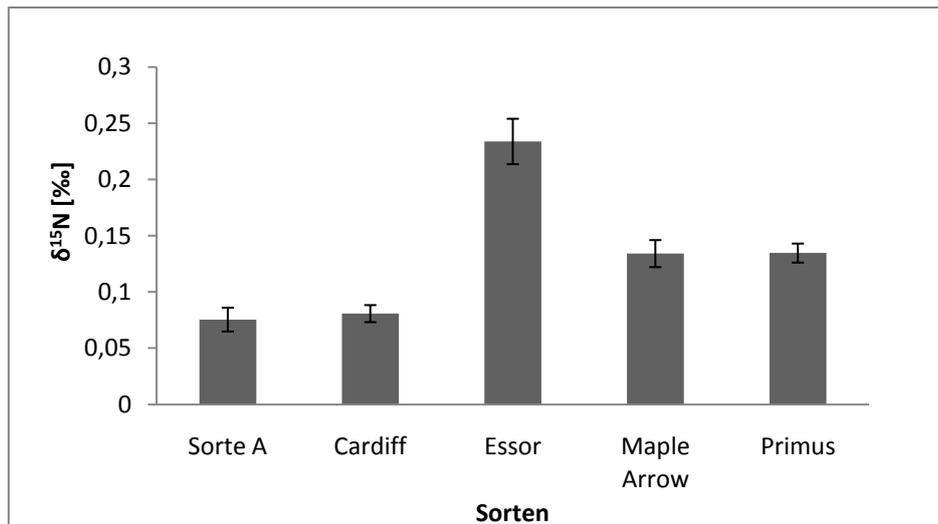


Abb.8: Mittlerer Unterschied des $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnisses im Spross von vor und nach der Saatgutkorrektur im Sortenvergleich.

Die Inokulation der Sorte A mit dem Präparat Radicin und mit den Inkrustierungslösungen von Cardiff und Essor führte zu keinem Erfolg. Die Bakterienstämme waren aus nicht nachvollziehbaren Ursachen nicht aktiv. Dadurch beschränkt sich die Datenaufarbeitung ausschließlich auf die Impfpräparate RWA Torf und RWA flüssig. Signifikante Unterschiede in den Spross B-Werten zwischen den beiden Applikationsvarianten: flüssig bzw. die Kombination aus Torf und flüssig, des Impfpräparates RWA konnten nicht ermittelt werden. Sowohl vor als auch nach der Saatgutkorrektur unterschieden sich die $\delta^{15}\text{N}$ Werte nicht (Abb. 9)

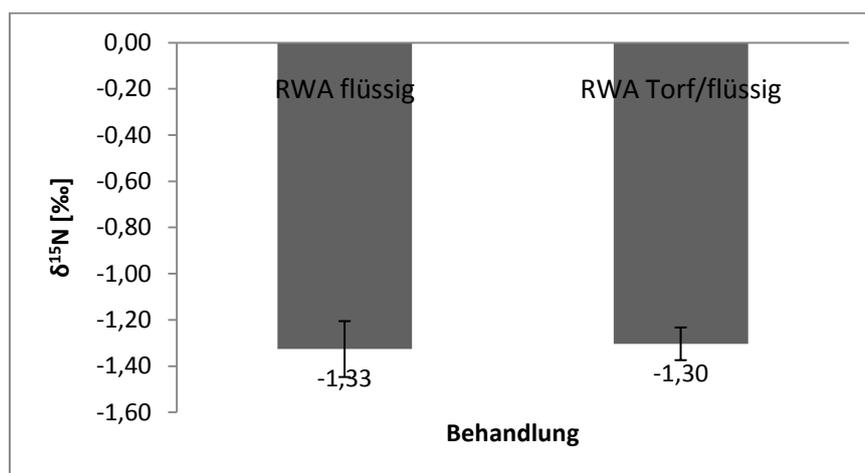


Abb.9: Vergleich der B-Werte der Sorte A bei gleichem Bakterienstamm (*B. japonicum*) aber unterschiedlichen Inokulum- Applikationsvarianten (RWA flüssig; Mischung aus RWA Torf und RWA flüssig).

Da sich die Sorte Primus in den gemessenen Parametern am stärksten von den anderen Sorten unterschied, wurde auch in Betracht gezogen, dass sich die Sorte Primus trotz des gleichen Erntetermins in einem jüngeren Entwicklungsstadium befand. Diese Annahme stützt darauf, dass bei Primus im Vergleich noch wesentlich mehr N in den Wurzeln vorhanden war und die Knöllchen in einem geringeren Ausmaß angereichert waren (Tabellen 3 & 7). Um dieser Vermutung nachzugehen, wurden die Daten mit den Ergebnissen der 8 Erntetermine während der Vegetationsperiode in der Freilanduntersuchung verglichen. Der Vergleich in Abb.10 zeigt, dass die Änderung der $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werte in Bezug auf den Anteil des N im Knöllchen zur Gesamtpflanze im Freiland (ausschließlich Sorte A) während der gesamten Wachstumszeit von 148 Tagen in eine andere Richtung weist, als die $\Delta\delta^{15}\text{N}$ des Topfversuches. Somit unterstützten die Freilanddaten nicht die oben formulierte Hypothese. Die Datenpunkte der Sorte A im Freiland schienen aber mit den entsprechenden Datenpunkten im Topfversuch in Verbindung zu liegen (Abb. 10).

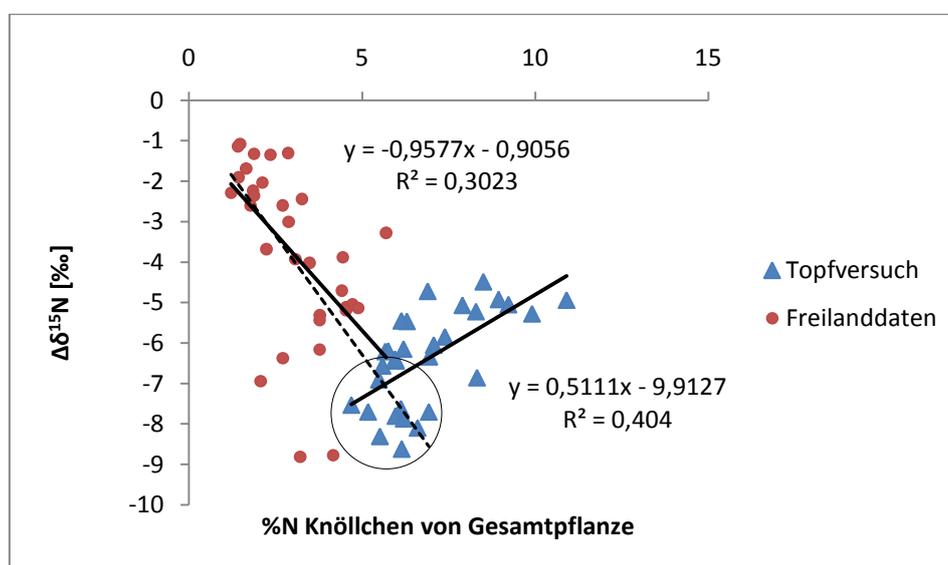


Abb.10: Die Variation zwischen $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werten im Topfversuch bei den unterschiedlichen Sorten im Vergleich zu den Daten im Freiland (ausschließlich Sorte A), die zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten gemessen wurden. Die eingekreisten Datenpunkte zeigen die Sorte A im Topfversuch. Die strichlierte Trendlinie verbindet die Freilanddaten mit der Sorte A im Topfversuch ($r^2 = 0,599$)

3.2. Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa

3.2.1. Allgemeine Parameter

Die Analyse der Einzelpflanzen an den 8 Ernteterminen entlang der Vegetationsperiode zeigte deutliche Unterschiede zwischen nicht nodulierter und nodulierter Soja. Hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) traten in fast allen gemessenen Parametern auf (Tabelle 13 & 15). Ausschließlich das Trockengewicht des Sprosses, sowie der N Gehalt der Wurzeln

unterschieden sich nicht signifikant. Das Trockengewicht der Wurzeln zeigte bei den beiden Varianten nur signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede, wobei die Wurzelmasse bei der nicht nodulierten Soja größer war als bei der nodulierten. Durch die fehlenden Knöllchen versuchte die Sojapflanze durch Vergrößerung der Wurzeloberfläche den Stickstoffbedarf zu decken. Der aufgenommene Bodenstickstoff reichte aber für die Sojapflanze nicht aus, um die Unterschiede in den N Gehalten der Sprosse niedrig zu halten. Mit zunehmendem Alter der Pflanze erhöhte sich die Differenz zwischen den N Gehalten der Sprosse zugunsten der nodulierten Soja signifikant. Die nicht nodulierte Soja konnte demnach weniger effektiv den Stickstoff in den Spross transportieren, während sich der N Gehalt in den Wurzeln kaum unterschied.

In der ^{15}N Signatur unterschieden sich die beiden Varianten in allen Pflanzenorganen als auch in der Gesamtpflanze hoch signifikant (Tabelle 14 & 15). Dies zeigte, dass die nodulierte Soja zu einem großen Anteil durch die Knöllchenbakterien mit Stickstoff versorgt wurde.

Die unterschiedliche Stickstoffversorgung der Pflanze hatte auch Auswirkungen auf die für die Landwirtschaft relevanten Parameter (Tabelle 16). Bei der Biomasseproduktion zeigte die nodulierte Variante bei der m^2 Ernte im Gegensatz zur Einzelpflanzenanalyse (Tabelle 13) tendenziell höhere Werte als die nicht nodulierte Variante. Wobei die nicht nodulierte Variante viel größere Schwankungen in der Biomasseproduktion zeigte und dadurch kein signifikanter Unterschied erhoben werden konnte. Der Parameter Kornertrag widerspiegelte die Biomasseergebnisse. Die nodulierte Soja zeigte auch hier nur tendenziell höhere Erträge, wobei sich auch hier kein signifikanter Unterschied ergab. Das Tausendkorngewicht war bei der nodulierten Soja höher als bei der nicht nodulierten Soja (Tabelle 16). Die Qualitätsparameter Proteingehalt (mg/g) und Ölgehalt (mg/g) waren bei der nicht nodulierten Soja wieder größeren Schwankungen unterworfen als in der nodulierten Variante. Der Proteingehalt war dabei bei der nodulierten Soja signifikant höher ($p < 0,05$) und der Ölgehalt signifikant niedriger ($p < 0,05$) als bei der nicht nodulierten Soja. Die N-Fracht (kgN/ha) im Erntegut gibt an, wieviel N durch das Erntegut vom Feld abtransportiert wurde. Trotz der geringen Unterschiede im Kornertrag wies die nodulierte Variante eine signifikant höhere N Fracht auf. Dies lässt sich durch die deutlich höheren Proteingehalte erklären.

Tabelle 13. Trockengewicht, N- Konzentration und N-Gehalt von jeweils 3 Einzelpflanzen der Sorte A der beiden Varianten: nicht nodulierte Soja, nodulierte Soja an 8 Ernteterminen (Obersiebenbrunn 2008):

Erntetermin/ Pflanzen- organ	Nicht nodulierte Soja			Nodulierte Soja		
	Trocken- gewicht (g)	N Konzentration (%)	N Gehalt (mg N part ⁻¹)	Trocken- gewicht (g)	N Konzentration (%)	N Gehalt (mg N part ⁻¹)
11.06.2008						
Spross	5,04±2,11 ^(**)	4,36±0,30 ^(**)	223,13±106,99 ^(**)	6,88±0,86	4,22±0,20	290,18±35,00
Wurzel	1,03±0,45 ^(**)	2,20±0,27 ^(**)	23,61±12,87 ^(**)	1,08±0,07	2,33±0,10	24,98±0,84
Knöllchen	-	-	-	0,12±0,03	5,55±0,15	6,79±1,54
23.06.2008						
Spross	20,76±3,35 ^(*)	4,18±0,30 ^(*)	860,96±80,43 ^(*)	19,97±3,84	3,99±0,23	802,78±188,42
Wurzel	2,33±0,92 ^(*)	1,60±0,02 ^(*)	37,28±14,29 ^(*)	2,08±0,39	1,58±0,12	33,11±7,61
Knöllchen	-	-	-	0,33±0,16	5,85±0,18	19,70±10,20
08.07.2008						
Spross	49,12±6,77 ^(**)	2,37±0,83 ^(**)	1137,30±248,70 ^(**)	44,60±17,44	3,23±0,19	1442,26±578,29
Wurzel	4,94±0,71 ^(**)	1,02±0,05 ^(**)	50,01±4,66 ^(**)	4,32±2,11	1,42±0,13	61,41±30,08
Knöllchen	-	-	-	0,52±0,14	5,85±0,11	30,68±8,54
16.07.2008						
Spross	63,18±12,28	2,58±0,05	1632,17±317,72	58,789±13,70	3,10±0,20	1807,35±372,96
Wurzel	5,85±1,33	0,98±0,06	56,78±10,87	4,70±0,85	1,25±0,11	59,47±15,02
Knöllchen	-	-	-	0,97±0,46	5,57±0,35	53,59±23,77
28.07.2008						
Spross	80,73±28,14	2,09±0,63	1701,77±889,71	70,96±7,23	2,87±0,32	2025,33±126,08
Wurzel	6,94±2,86	0,93±0,22	63,42±28,78	5,27±0,52	1,13±0,13	59,69±10,00
Knöllchen	-	-	-	1,29±0,49	5,94±0,17	77,27±30,64
06.08.2008						
Spross	84,45±10,07	1,40±0,69	1214,34±693,05	100,18±15,58	3,02±0,10	3026,06±503,59
Wurzel	6,84±1,50	0,94±0,27	66,01±28,30	6,52±0,96	1,15±0,24	73,32±9,82
Knöllchen	-	-	-	1,84±0,71	6,43±0,24	118,53±46,92
18.08.2008						
Spross	107,71±41,45	1,67±0,18	1844,48±680,04	98,39±15,31	3,01±0,28	2954,79±409,75
Wurzel	7,53±1,95	0,76±0,11	57,34±18,23	5,49±1,08	1,42±0,15	79,02±21,74
Knöllchen	-	-	-	2,06±0,28	6,32±0,18	130,42±20,94
03.09.2008						
Spross	65,16±19,25 ^(*)	1,67±0,22 ^(*)	1091,37±382,44 ^(*)	66,94±23,79	3,01±0,09	1958,12±810,39
Wurzel	5,06±1,14 ^(*)	0,64±0,09 ^(*)	33,28±12,59 ^(*)	4,09±0,90	0,83±0,08	33,82±6,25
Knöllchen	-	-	-	1,17±0,59	5,45±0,56	65,86±38,31

- Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 4 Wiederholungen; (*) bzw. (**) Mittelwert ± Standardabweichung aus 3 bzw. 2 Wiederholungen

Tabelle 14. $\delta^{15}\text{N}$ von jeweils 3 Einzelpflanzen der Sorte A der beiden Varianten: nicht nodulierte Soja, nodulierte Soja an 8 Ernteterminen (Obersiebenbrunn 2008):

Erntetermin	Nicht nodulierte Soja				Nodulierte Soja			
	$\delta^{15}\text{N}$ Spross (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Wurzel (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Knöllchen (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Gesamtpflanze (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Spross (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Wurzel (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Knöllchen (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Gesamtpflanze (‰)
11.06.2008	4,50±0,28 ^(**)	5,27±0,44 ^(**)	-	4,57±0,30 ^(**)	3,66±0,31	4,58±0,37	6,12±0,51	3,79±0,30
23.06.2008	4,19±0,20 ^(*)	5,12±0,18 ^(*)	-	4,23±0,21 ^(*)	3,88±0,23	4,67±0,54	8,93±0,38	4,04±0,15
08.07.2008	4,92±0,88 ^(**)	5,10±0,66 ^(**)	-	4,93±0,87 ^(**)	3,79±0,54	3,84±0,69	9,43±0,66	3,91±0,49
16.07.2008	5,11±0,30	5,06±0,69	-	5,11±0,31	3,35±0,70	4,05±0,43	8,63±0,29	3,53±0,60
28.07.2008	4,68±0,34	4,37±0,39	-	4,67±0,34	2,95±1,08	3,52±0,78	9,90±0,17	3,22±0,95
06.08.2008	4,42±0,37	4,04±0,63	-	4,38±0,39	2,87±0,56	3,77±0,67	9,87±0,31	3,14±0,49
18.08.2008	4,53±0,34	4,43±0,33	-	4,53±0,34	1,99±0,45	2,86±0,12	10,03±0,54	2,34±0,44
03.09.2008	4,27±0,21 ^(*)	4,50±0,15 ^(*)	-	4,28±0,20 ^(*)	1,80±0,70	4,04±0,48	12,77±0,83	2,17±0,62

- Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 4 Wiederholungen; Mittelwert ± Standardabweichung aus 2 (**) oder 3(*) Wiederholungen

Tabelle 15. Signifikanzniveau der Einflussfaktoren Variante und Erntetermin auf die untersuchten Parameter bei der Einzelpflanzenernte der Sorte A (Obersiebenbrunn 2008) [p<0,01; * p<0,05; n.s. nicht signifikant]**

	TG (g) Spross	TG (g) Wurzel	TG (g) Knöllchen	%N Spross	%N Wurzel	%N Knöllchen	N Gehalt (mg) Spross	N Gehalt (mg) Wurzel	N Gehalt (mg) Knöllchen
Variante	ns.	*	**	**	**	**	**	ns.	**
Erntetermin	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Variante* Erntetermin	ns.	ns.	**	**	**	**	*	ns.	**

	$\delta^{15}\text{N}$ Spross (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Wurzel (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Knöllchen (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ Gesamtpflanze (‰)	$\Delta\delta^{15}\text{N}$ (Spross-nodulierte Wurzel)	%Ndfa
Variante	**	**	**	**	**	**
Erntetermin	**	**	**	**	**	**
Variante*Erntetermin	**	ns.	**	**	**	**

Tabelle 16. Ergebnisse der landwirtschaftlich relevanten Parameter bei einer m² Ernte (Erntetermin: 02.10.2008 Obersiebenbrunn)

Variante	Biomasse (kg/ha)	Pflanzenanzahl/ha	Kornertrag (kg/ha)	TKG (g)	Öl (mg/g)	Protein (mg/g)	N-Fracht (kgN/ha)
Nicht nodulierte Soja	7513 ± 832 a	413.333 ± 43.205 a	2554 ± 283 a	172 ± 6 a	193 ± 16 a	396 ± 19 a	161,6 ± 17,9 a
Nodulierte Soja	7951 ± 334 a	430.000 ± 40.915 a	2793 ± 146 a	195 ± 5 b	158 ± 6 b	453 ± 4 b	202,44 ± 11,0 b
p-Wert:	0,348	0,648	0,139	0,046	0,011	0,017	0,024

- Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 4 Wiederholungen
- TKG = Tausendkorngewicht
- Biomasse: oberirdische Trockenbiomasse
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Behandlungen bei P<0,05 (einfaktorielle ANOVA, Tukey-HSD Test)

3.2.2. Berechnung des Prozentanteils des fixierten N₂ aus der Atmosphäre, zur Gesamtstickstoffaufnahme der Soja (%Ndfa)

Durch das Einsetzen unterschiedlicher Werte für die Variablen B-Wert und Referenzpflanze in die Berechnung für den Anteil des fixierten N (%Ndfa) wurden unterschiedlich Ergebnisse erhalten (Abb. 11 & Tabelle 17).

Der unabhängige t-Test ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den 4 Berechnungsvarianten des Prozentanteils des fixierten Stickstoffes zur Gesamtstickstoffaufnahme der Leguminose. Bei Verwendung von *Amaranthus retroflexus* als Referenzpflanze wurde ein um 3,9 - 4,0% höherer Wert erreicht, als bei Verwendung einer nicht nodulierten Soja. Der Einsatz des allgemein üblichen Literaturwertes von -1,83 bei der Berechnung wirkte sich bei diesem Versuchsansatz im ähnlichen Größenverhältnis in der %Ndfa Berechnung (3,7 - 3,8%) aus. Durch die Summe beider Faktoren: Referenzpflanze und B-Wert, können somit Unterschiede von 7,6% - 7,8% in der %Ndfa Berechnung auftreten.

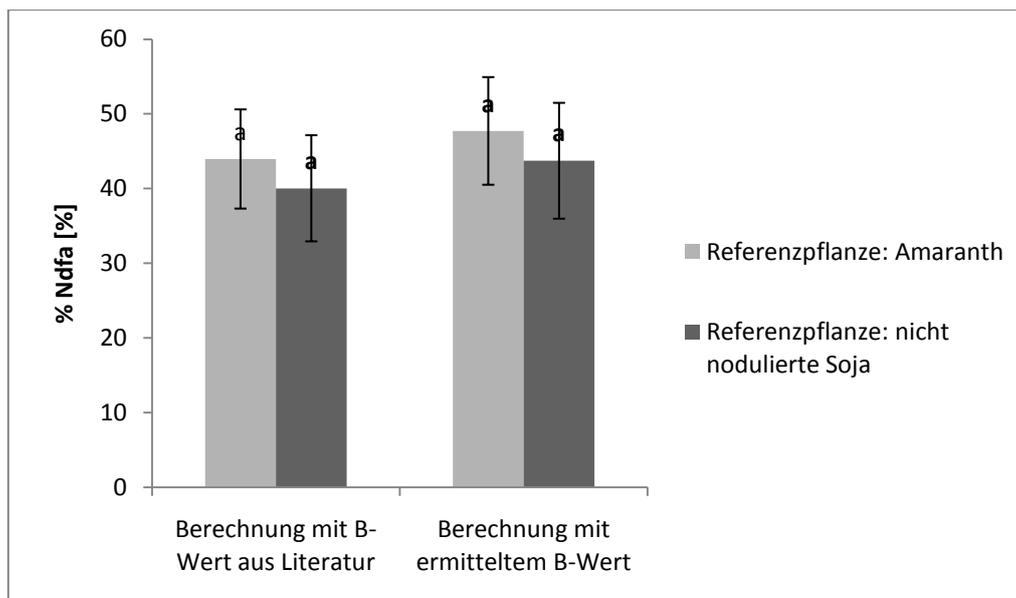


Abb.11: Berechnung des %Ndfa bei Verwendung unterschiedlicher B-Werte bzw. Referenzpflanzen. Literatur B-Wert: -1,83 (Mariotti et al., (1980); Okito et al., (2004); Guimaraes et al., (2008)); ermittelter B-Wert für Apache (Inokulation: RWA Torf und RWA flüssig) : -1,304. Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Berechnungsvarianten bei $P < 0,05$ (unabhängiger t-Test)

Tabelle 17. Paarweiser Vergleich der Mittelwertsunterschiede der unterschiedlichen %Ndfa Berechnungsvarianten mittels t-Test:

%Ndfa			
Berechnungsvariablen für B-Wert und Referenzpflanze		Berechnungsvariablen für B-Wert und Referenzpflanze	
B-Wert: ermittelter Wert RPf: Amaranth	47,6 ± 7,2 a	B-Wert: Literatur RPf: Amaranth	44,0 ± 6,6 a
B-Wert: ermittelter Wert RPf: nicht nodulierte Soja	43,6 ± 7,7 a	B-Wert: Literatur RPf: nicht nodulierte Soja	40,0 ± 7,1 a

- Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 4 Wiederholungen
- RPf=Referenzpflanze
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Berechnungsvarianten bei $P < 0,05$ (unabhängiger t-Test)

Bei hohen Fixierungsraten (%Ndfa) zeigte die Differenz aus ober- und unterirdischer Signatur ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) stärker negative Werte als bei niedrigen Fixierungsraten (Tabelle 18; Abb.12). Das Auftragen des Anteils der Stickstofffixierung an der Gesamtstickstoffaufnahme bei Sojabohnen gegen die Differenz aus ober- und unterirdischer Signatur ergab einen linearen Zusammenhang, der hoch signifikant korreliert ($r^2 = 0,82$). Im Vergleich dazu ist auch die Trendlinie aus den Untersuchungen von Wanek und Arndt (2002), die zu einer ähnlichen Regression führte aufgetragen. Die Differenz in der Steigung zwischen den beiden Trendlinien ist relativ gering (-6,7 gegen -8,9). Der Schnittpunkt mit der y-Achse

unterschied sich dagegen zwischen dieser Studie und der von Wanek und Arndt (2002) sehr stark ($-0,004$ gegen $19,8$) (Abb.12).

Tabelle 18. $\Delta\delta^{15}\text{N}$ (Differenz der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur aus Spross und nodulierter Wurzel) der beiden Varianten nicht nodulierte – nodulierte Soja, sowie %Ndfa der nodulierten Variante bei der Einzelpflanzenernte an 8 Ernteterminen (Obersiebenbrunn 2008)

Erntetermin	Nicht nodulierte Soja	Nodulierte Soja	
	$\Delta\delta^{15}\text{N}$ (Spross-Wurzel)	$\Delta\delta^{15}\text{N}$ (Spross-nodulierte Wurzel)	%Ndfa
11.06.2008	$-0,77 \pm 0,16^{(**)}$	$-1,26 \pm 0,12$	$14,9 \pm 5,4$
23.06.2008	$-0,93 \pm 0,02^{(*)}$	$-2,37 \pm 0,66$	$11,1 \pm 3,9$
08.07.2008	$-0,17 \pm 0,22^{(**)}$	$-2,05 \pm 0,65$	$12,8 \pm 9,2$
16.07.2008	$0,05 \pm 0,46$	$-2,85 \pm 0,83$	$20,2 \pm 11,8$
28.07.2008	$0,31 \pm 0,13$	$-4,11 \pm 1,29$	$27,1 \pm 18,4$
06.08.2008	$0,38 \pm 0,49$	$-4,54 \pm 0,81$	$28,4 \pm 9,6$
18.08.2008	$0,10 \pm 0,27$	$-5,37 \pm 0,61$	$43,5 \pm 7,7$
03.09.2008	$-0,22 \pm 0,18^{(*)}$	$-7,73 \pm 1,26$	$46,9 \pm 12,0$

- Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung aus 4 Wiederholungen; Mittelwert \pm Standardabweichung aus 2 (**) oder 3(*) Wiederholungen

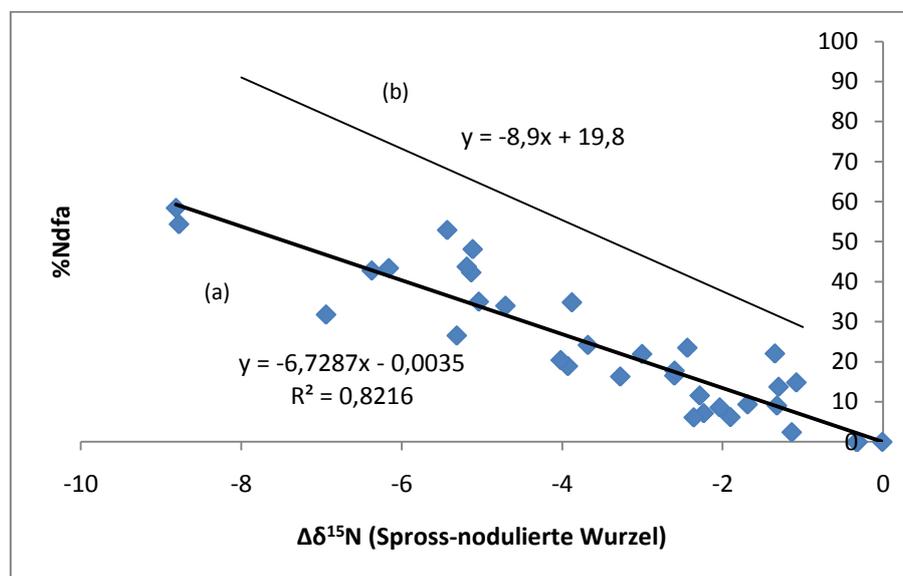


Abb.12: Beziehung zwischen der Differenz der $\delta^{15}\text{N}$ Werte von Spross und nodulierten Wurzeln und dem %Ndfa von in Freiland wachsenden Sojapflanzen. (a) Datenpunkte aus diesem Versuchsansatz. Zum Vergleich (b) die Trendlinie mit der ermittelten Steigung $\%Ndfa = 19,8 - 8,9 \times \Delta\delta^{15}\text{N}$ von (Wanek und Arndt, 2002)

3.3. Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wert von *Amaranthus retroflexus* durch die Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.)

Amaranth, der in unmittelbarer Nähe zur nodulierten Soja stand, besaß höhere $\delta^{15}\text{N}$ Werte bzw. Stickstoffkonzentrationswerte als der Amaranth in der Referenzparzelle (Abb. 13 & 14). Die Streuung der N Konzentrationswerte des Amaranthes in der nodulierten Sojaparzelle war relativ hoch, der Mittelwert unterschied sich aber trotzdem noch signifikant vom Amaranth in der Referenzparzelle (Tabelle 19).

Nach paarweisem Vergleich der Mittelwerte durch den t-Test stellte sich heraus, dass der $\delta^{15}\text{N}$ Wert des Amaranthes in den Parzellen mit nodulierter Soja sich signifikant ($p < 0,05$) vom $\delta^{15}\text{N}$ Wert des Amaranthes, welcher außerhalb der Sojaparzellen in den Referenzparzelle wuchs, unterschied. Jedoch unterschied sich dieser nicht signifikant von Amaranthpflanzen, die innerhalb von nicht nodulierten Soja-Parzellen stand. Die N Konzentration der Amaranthspresse bei den verschiedenen Varianten verhielt sich genau gleich (Tabelle 19).

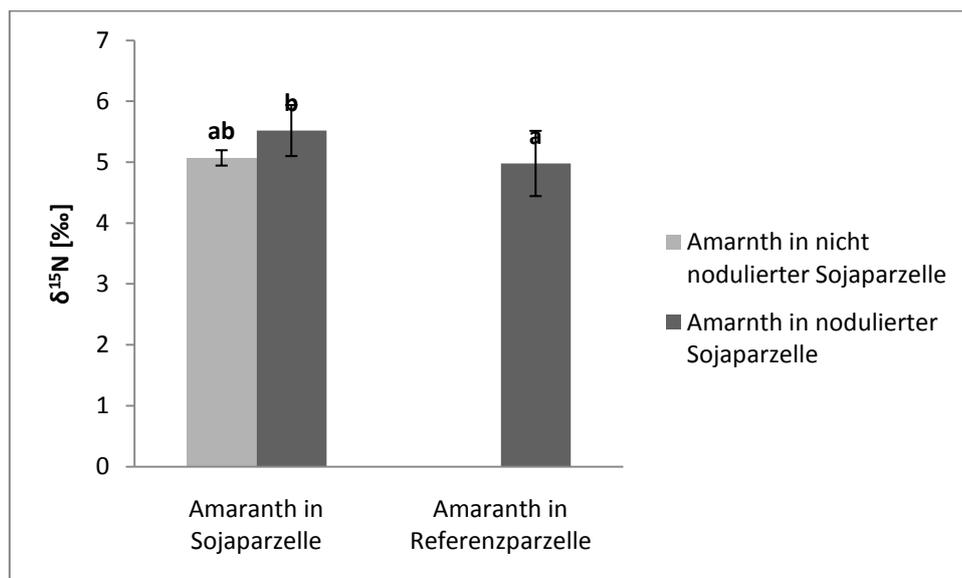


Abb.13: $\delta^{15}\text{N}$ Wert von *Amaranthus retroflexus*, der in unterschiedlicher Entfernung zur Sojapflanze stand. Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten bei $P < 0,05$ (t-Test).

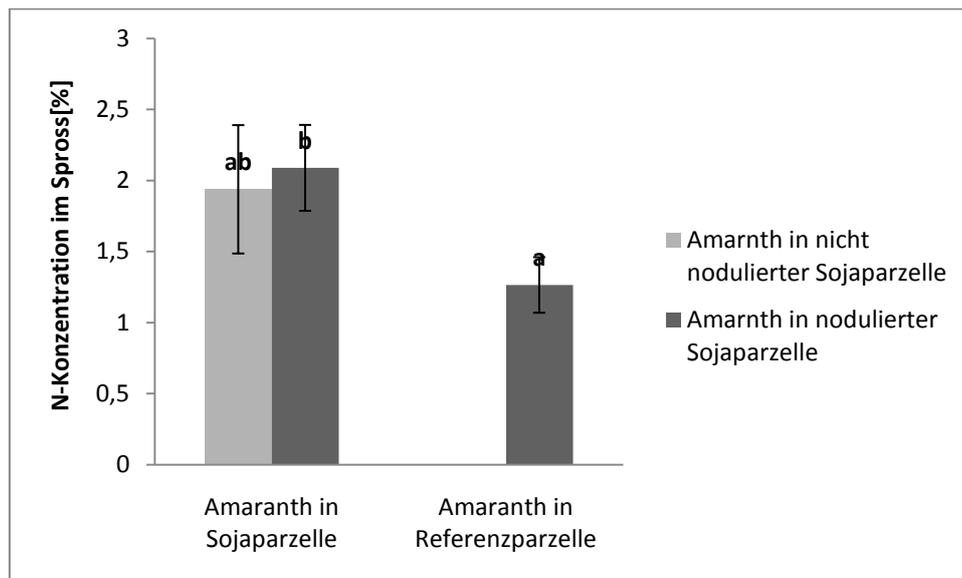


Abb.14: N Konzentration von Amaranthsprosse in der Sojaparzelle bzw. in der Referenzparzelle. Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten bei $P < 0,05$ (t-Test)

Tabelle 19. N Konzentrationen und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Verhältnis von Amaranth in der Sojaparzelle bzw. in der Referenzparzelle

Variante	N Konzentration (% TG)	$\delta^{15}\text{N}$ Wert (‰)
Referenzparzelle	1,27 ± 0,20 a	4,98 ± 0,54 a
Nicht Nodulierte Sojaparzelle	1,94 ± 0,45 ab	5,07 ± 0,13 ab
Nodulierte Soja Parzelle	2,09 ± 0,30 b	5,52 ± 0,42 b

- Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung aus 4 Wiederholungen
- Die verschiedenen Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Varianten bei $P < 0,05$ (t-Test)

4. Diskussion

4.1. Topfversuch - Ermittlung der B- Werte

4.1.1. Biomasse, Stickstoffkonzentration und Stickstoffgehalte

Die Akkumulierung des N im Sprossgewebe lag bei der Ernte im R6 Stadium im Durchschnitt bei den untersuchten Sorten im Bereich von 369 bis 414 mg N pro Pflanze (Tabelle 3) und kann sehr gut mit Ergebnissen aus der Literatur verglichen werden: Okito et al. (2004) 290 bis 305 mg N/Pflanze, Schipanski et al. (2009) 307 mg N/Pflanze. Beim Vergleich mit den Daten aus dem Feldversuch im R6 Stadium (Erntetermin 6.8.2008) sind die Topfpflanzen den Freilandpflanzen, mit im Durchschnitt 1g N/Pflanze weit unterlegen.

Im Sortenvergleich verhielt sich die Sorte Primus sowohl in der Biomasse als auch im N-Gehalt unterschiedlich zu allen anderen ausgewählten Sorten. Primus war bei dieser Sortenauswahl die einzige Hoch- Protein Sorte, die auch relativ neu in das Sortenregister in Österreich eingetragen ist (seit 2006 (Sortenliste 2010)). Primus zeigte zwar im N Gehalt vom Spross keinen signifikanten Unterschied im Sortenranking, jedoch waren in Wurzel und Knöllchen im R6 Stadium noch wesentlich mehr N enthalten als bei den anderen Sorten (Tabelle 3). Untersuchungen haben gezeigt, dass neuere Sorten mit höheren Erträgen nicht mehr N aus dem vegetativen Gewebe remobilisieren, als ältere Sorten mit geringeren Erträgen (Kumudini et al., 2002). Die neueren Sorten unterscheiden sich in ihrem N Haushalt hauptsächlich durch die Fähigkeit, mehr N nach dem R4 Stadium (SFP: seed filling period) aufzunehmen. Auch wenn der remobilisierte N aus der Biomasse den größeren Beitrag für den N im Korn liefert, macht der Anteil des N im Korn, der während der SFP aufgenommen wurde, bei neueren Sorten signifikant mehr aus. Während bei älteren Sorten nur 5-6% des N im Korn aus der SFP stammt, sind es bei neueren Sorten bereits 23-25% (Kumudini et al., 2002). Japanische Studien zeigten ebenfalls, dass die N- Fixierung nach dem R4 Stadium stetig abnahm, dass aber bei älteren Sorten die Abnahme viel rasanter stattfand als bei neueren Sorten (Shiraiwa et al., 1994). Durch die Ergebnisse dieser Untersuchungen könnte man in Betracht ziehen, dass Primus als Hoch- Protein und als „neue“ Sorte eine solche Strategie in der N- Aufnahme, Remobilisierung und Verteilung verfolgt und deshalb zum Erntezeitpunkt mehr N in den Wurzeln und den Knöllchen aufweist als die restlichen Sorten.

Wie bereits geschildert besaß Primus im Sortenvergleich im R6 Stadium die höchste Biomasseproduktion bzw. investierte mehr Energie in den vegetativen Teil als in die Bildung von Hülsen (Tabelle 3). Untersuchungen haben gezeigt, dass neue Sorten mehr

Oberirdische Biomasse ab dem R4 Stadium akkumulieren, als alte Sorten. Die höhere Biomasseproduktion korreliert dabei stark mit einem höheren Blattflächenindex um die photosynthetische Kapazität zu erhöhen (Kumudini et al., 2001). Bei Freilandversuchen der Bio Forschung Austria an 4 verschiedenen Versuchsstandorten im Jahr 2008 zeigte Primus keine besonders hohen Biomassewerte. Im Gegenteil, sie lagen wie die ebenfalls untersuchte Sorte Maple Arrow stets im Mittelfeld mit 6.100 kg/ha bis 8.800 kg/ha. Gleichzeitig konnte die alte Sorte A an diesen Versuchsstandorten sogar eine wesentlich höhere Biomasseproduktion mit bis zu 11.000 kg/ha aufweisen (Hofer et al., 2008). Warum also vor allem Primus dieses starke vegetative Wachstum im Glashaus zeigte, kann nicht nur durch den genetischen Fortschritt neuer Sojasorten im Gegensatz zu älteren Sorten erklärt werden.

4.1.2. $\delta^{15}\text{N}$

Innerhalb der Sojapflanzen war eine bei symbiontischer N_2 -Fixierung erwartete ^{15}N Verteilung zu beobachten (Abb.1, Tabellen 6 und 7). Während die Knöllchen aufgrund von Isotopendiskriminierung stark ^{15}N angereichert wurden, fand im Spross eine ^{15}N Abreicherung statt. Die Anreicherung im Knöllchen stieg mit zunehmender Knöllchenbiomasse und Alter. Dies hängt mit der Diskriminierung beim N-Stoffwechsel im Knöllchen zusammen (Shearer et al., 1984). Bei der Sojabohne findet die Hauptakkumulation von ^{15}N im Bakteroiden selbst statt (Yoneyama, 1987). Als verantwortliche Prozesse werden von Yoneyama (1984) der diffuse Transport von Ammonium aus dem Bakteroiden in das Cytosol durch die Peribakteroid- und Bakteroidmembran und die aktive Transamination und/oder Deamination im Bakteroiden, sowie der Polyaminstoffwechsel genannt. Eine weitere Anreicherung findet wahrscheinlich auch bei der Exkretion der Transportmetaboliten aus den Knöllchen in das Xylem statt (Werner und Schmidt, 2002).

Die $\delta^{15}\text{N}$ Werte der gesamten Pflanze inklusive der Knöllchen lagen in dieser Untersuchung, bei allen Sorten im leicht negativen Bereich zwischen -0,388 ‰ bis -0,540 ‰. Signifikante Unterschiede zwischen den Sorten waren nicht gegeben (Tabelle 7). Bisher konnte gezeigt werden, dass die isotopische Diskriminierung Δ bei der symbiontischen N_2 -Fixierung im Vergleich zu anderen N Prozessen relativ gering ist und zwischen +2 ‰ und -2 ‰ liegt (Högberg, 1997). Dadurch sind generell $\delta^{15}\text{N}$ Wert der Gesamtpflanze, mit Ausnahme von *B. elkanii* Bakterienstämmen, dem $\delta^{15}\text{N}$ Wert des atmosphärischen N_2 (0‰) sehr nahe (Unkovich et al., 2008). Die Ergebnisse dieser Untersuchung konnten mit Literaturwerten von Versuchen mit *B. japonicum* Stämmen (-0,32 ‰ bis -0,69 ‰) (Guimarães et al., 2008; Unkovich et al., 2008) gut verglichen werden. Die Interpretation der Ergebnisse war in der

Literatur jedoch verschieden. Unkovich et al. (2008) beurteilten die Diskriminierung bei der Gesamtpflanze, außer bei den Brasilianischen Stämmen von *B. elkanii*, als sehr gering. Im Gegensatz dazu beurteilten Guimarães et al. (2008) hingegen bei ihren B- Wert Ermittlungen und denen von Okito et al. (2004), die Diskriminierung auf Basis der Gesamtpflanze bei einer intakten Symbiose von Sojabohne mit *Bradyrhizobium* Stämmen als signifikant.

Obwohl sich die $\delta^{15}\text{N}$ Werte der Gesamtpflanze zwischen den verschiedenen Sorten nicht signifikant unterschieden, traten bei der getrennten Beobachtung von Spross, Wurzel und Knöllchen, teilweise signifikante Sortenunterschiede in den $\delta^{15}\text{N}$ Signaturen der verschiedenen Organe auf (Tabelle 7). Diese konnten aufgrund von entwicklungsbedingten Verteilungsunterschieden oder durch unterschiedliche Diskriminierung im N Export aus den Knöllchen entstanden sein.

Zur Beschreibung der Verteilung des $\delta^{15}\text{N}$ innerhalb der Pflanze wurde die Differenz des $\delta^{15}\text{N}$ zwischen Spross und nodulierter Wurzel ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) herangezogen. In Studien bei denen der $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Wert erfolgreich zur Bestimmung der %Ndfa Messung verwendet wurde, konnte gezeigt werden, dass das Verteilungsmuster von $\delta^{15}\text{N}$ zwischen Pflanzenorganen artspezifisch ist (Wanek und Arndt, 2002; Khadka und Tatsumi, 2006). Ob ebenfalls eine Abhängigkeit der Sorte besteht, wurde bisher nicht geklärt.

Die Korrelation zwischen dem $\delta^{15}\text{N}$ des Knöllchens und dem Anteil des im Knöllchen befindlichen N in Bezug zur Gesamtpflanze (Abb.3) zeigte, dass eine geringere ^{15}N Anreicherung im Knöllchen bei einem höheren N Anteil im Knöllchen stattfand.

Die Korrelation des $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Wertes mit dem Anteil des exportierten N zeigte ebenfalls einen Zusammenhang der Signaturdifferenzen bei den verschiedenen Sorten mit dem Anteil des exportierten N an. Bei einem geringeren Anteil des exportierten N war der $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Wert höher als bei einem höherem Exportanteil (Abb.4; Tabelle 8).

Bergersen et al. (1988) zeigten bereits in frühen Studien, dass die negativen $\delta^{15}\text{N}$ Werte des Sprosses eine Folge von ^{15}N Rückhaltung in den Knöllchen ist. Somit könnten die Signaturunterschiede zwischen den unterschiedlichen Organen bei den verschiedenen Sorten durch entwicklungsbedingte oder sortenbedingte N Verteilungsunterschiede entstanden sein. Die Anwendung des Rayleigh Modells zur Erklärung der isotopischen Fraktionierungsprozesse (Mariotti et al., 1981) beim N Export konnte diese Vermutung stützen. Bei einer isotopischen Diskriminierung (Δ) von 3,5 ‰ konnte eine Übereinstimmung des Rayleigh Modells mit den Ergebnissen dieser Untersuchung gefunden werden (Abb.5). Es wurde ersichtlich, dass vor allem die Sorte Primus zum Erntezeitpunkt einen etwas geringeren N Anteil exportiert hatte und dadurch in den Knöllchen geringer angereichert und

im Spross stärker angereichert war. Genauso zeigte die Sorte A den am weitesten fortgeschrittenen N Export aus den Knöllchen (Tabelle 9).

Somit konnte die Vermutung eines Unterschiedes in den Diskriminierungsprozessen im N Export an sich zwischen den verschiedenen Sorten eher ausgeschlossen werden. Ob die unterschiedliche Exportmenge ausschließlich entwicklungsbedingter Ursache ist, oder doch auf Sortenunterschiede zurückzuführen ist, müsste in weiteren Versuchen geklärt werden.

4.1.3. Eigenschaften des Saatgutes

Das Saatgut zeigte zwischen den Sorten eine breite Variation in der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur (Abb.6 & Tabelle 8). Dadurch war eine Beeinflussung der Spross $\delta^{15}\text{N}$ Werte durch die Saatgutkorrektur in einem unterschiedlichen Maß gegeben. Wahrscheinlich sind die Variationen im Saatgut $\delta^{15}\text{N}$, auf Unterschiede zwischen den Vermehrungsstandorten zurückzuführen. Die großen Differenzen sind vermutlich auf die unterschiedliche Bewirtschaftungsweise der entsprechenden Flächen zurückzuführen. So führt organische Düngung mit Mist oder Gülle generell zu einer erheblichen Anreicherung von ^{15}N im Boden. Pflanzen mit höheren $\delta^{15}\text{N}$ -Werten sind somit bei organischer Düngung möglich (Minagawa et al., 1984; Yoneyama, 1987; Rahmann, 2006).

Der Versuch von Yoneyama et al. (1986) eine spezifische Relation zwischen $\delta^{15}\text{N}$ Werten von verschiedenen Böden und Soja Körner zu finden, misslang. Die Variation der $\delta^{15}\text{N}$ Werte zwischen verschiedenen Böden war signifikant niedriger, als die Variation bei den entsprechenden Körnern (Yoneyama et al., 1986). Somit kann mit Hilfe des Saatgutes nicht auf die Signatur des Bodens geschlossen werden.

Die Signatur der Früchte (Hülse + Korn) unterschied sich nur im geringen Ausmaß von den restlichen Pflanzenorganen (Yoneyama, 1987). Nach Bergersen et al. (1988) ist die Signatur der Früchte zwischen dem R5 und R6 Stadium gleich der Signatur der Gesamtpflanze. Yoneyama versuchte sogar in einer seiner Untersuchungen die Sojakörner in der frühen Kornfüllungsperiode (ab R4 Stadium) zur %Ndfa Abschätzung zu verwenden. Dabei konnte er eine hohe Korrelation mit der Acetylen Reduktionsaktivität und mit dem Knöllchentrockengewicht erzielen (Yoneyama et al., 1986). Weitere Untersuchungen, ob die Sojakörner zur %Ndfa Abschätzung geeignet sind, wurden bisher nicht durchgeführt. Für die praktische Handhabung, wäre dieser Ansatz sicherlich von Interesse. Weitere Versuche wären aber erforderlich.

Aufgrund der Ähnlichkeit der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur des Kornes zur Gesamtpflanze, konnte angenommen werden, dass die eher niedrigen $\delta^{15}\text{N}$ Werte der Sorte A und Cardiff darauf

hinweisen, dass die Vermehrungspflanzen einen größeren Teil ihres N Bedarfes durch N Fixierung gedeckt hatten. Verantwortlich für das stark angereicherte Saatgut von Essor ($6,89 \pm 0,38 \text{ ‰}$) war wahrscheinlich die Nutzung organischer Dünger im Anbau.

4.1.4. Beeinflussung der Messwerte durch das Saatgut und Spross B-Wert

Bei diesen Versuchsergebnissen war ein leichter Einfluss des Saatgutes auf den $\delta^{15}\text{N}$ Wert des Sprosses auch im R6 Stadium zu beobachten. Besonders bei der Sorte Essor, die wie bereits beschrieben, im Vergleich zu den anderen Sorten durch relativ hohe $\delta^{15}\text{N}$ Werte im Saatgut gekennzeichnet war unterschied sich der korrigierte und der nichtkorrigierte Wert im Mittel um $0,23 \text{ ‰}$ (Abb.8). Aufgrund der noch geringeren N Akkumulation im R2 Stadium, ist der Einfluss des im Saatgut gespeicherten N auf die ^{15}N Signatur zu dem Zeitpunkt größer, als etwa im R6 Stadium. Die Saatgutkorrektur führte beim Spross zu unterschiedlichen Signifikanzen zwischen den Sorten (Tabelle 12). Aber es ist zu beachten, dass außer bei der Sorte Essor das Ausmaß der Saatgutkorrektur innerhalb der Messungenauigkeit der Massenspektrometeranalyse von $\pm 0,15 \text{ ‰}$ (Wania et al., 2002) lag. Auf Basis der Gesamtpflanze verlor die Saatgutkorrektur, wie von Bergersen et al. (1988) beschrieben, an Wichtigkeit.

Die ermittelten B- Werte für die Spross Biomasse lagen geschlossen im negativen Bereich, die nodulierte Wurzelbiomasse dagegen blieb stark ^{15}N angereichert. Dies stimmt generell mit früheren Studien über Sojabohne und andere Leguminosen überein (z.B. Bergersen et al. 1988; Shearer und Kohl, 1989, Unkovich et al.,1994).

Die im Versuch ermittelten B-Werte lagen im Bereich von $-1,28\text{‰}$ bis $-1,62\text{‰}$ (Abb.7 & Tabelle 12) und lagen deutlich über dem in der Literatur zur Berechnung empfohlenen Mittelwert von $-1,83$. Bei diesem Literaturwert handelt es sich um einen Mittelwert aus einer Mehrzahl an Experimenten, bei denen die Sojabohnen mit ein oder mehreren Rhizobien Stämmen inokuliert wurden (Unkovich et al., 2008). Es ist darauf hinzuweisen, dass bei der Ermittlung dieses Mittelwertes auch B-Werte von Okito et al. (2004) und Guimarães et al. (2008) mit einbezogen wurden, die ihre Sojabohnen auch mit *B. elkanii* Stämmen beimpften. Bei beiden Studien ergibt die B- Wert Ermittlung von Sojabohnen mit *B. elkanii* Stämmen eine viel stärkere Diskriminierung gegen ^{15}N als bei Infektion mit *B. japonicum* Stämmen. Genau diese „Ausreißer“ ($-3,61\text{‰}$; $-2,5\text{‰}$) senkten den empfohlenen Mittelwert.

Die B-Werte von Bergersen et al. (1989) und Peoples (unpublished data zitiert aus (Unkovich et al., 2008)) lagen im selben Bereich, wie die in diesem Versuchsansatz ermittelten Daten. Eine Bestätigung der Ergebnisse lieferten auch die B-Wert Daten von Oberson et al. (2007). In deren Untersuchungen wurde ebenfalls die Sorte Maple Arrow angebaut. Das verwendete

Inokulum war der *B. japonicum* Stamm G49. Beim Vergleich der Ergebnisse von Oberson et al. (2007) und den B- Werten in diesem Versuchsansatz war zu beachten, dass sich der Zeitpunkt der Ernte unterschied, und dass Oberson et al. (2007) in ihren Berechnungen keine Saatgutkorrektur durchführten. Oberson et al. (2007) ernteten den Spross zur B- Wert Ermittlung an 2 Zeitpunkten: zur „späten Blüte“ und zur Vollreife (R8). Der B- Wert zur „späten Blüte“ war $-1,172\text{ ‰} \pm 0,118$ und unterschied sich von diesen Untersuchungen ($-1,142\text{ ‰} \pm 0,04$), wenn keine Saatgutkorrektur durchgeführt wird, nur um $0,03\text{ ‰}$.

Die B-Werte von Oberson et al. (2007) zur Vollreife lagen je nach Inokulum zwischen $-0,876\text{ ‰} \pm 0,069$ und $-0,492\text{ ‰} \pm 0,060$ und konnten mit diesen Daten in keiner Weise verglichen werden. Zur Vollreife hat bereits ein großer Blattverlust stattgefunden. Auch wenn ein großer Prozentsatz des N der oberirdischen Biomasse in den Körnern verlagert wurde, geht ein Teil des N durch den großen Blattverlust verloren. In dieser Untersuchung wurden die Erntetermine so gewählt, dass zur Ernte noch kein Biomasseverlust stattgefunden hat.

4.2. Freilandversuche – Berechnung des %Ndfa

4.2.1. Allgemeine Parameter

Die Sorte A zeigte, wie in langjährigen Praxiserfahrungen, unter diesen Umweltbedingungen in Obersiebenbrunn, stets gute Kornerträge. Die N₂-Fixierleistung betrug bei der nodulierten Variante maximal 47 % (Tabelle 18) und lag unter den Erwartungen. Bei der Annahme, dass der Gesamt N Gehalt der Strohbiomasse und der unterirdischen Organe durchschnittlich bei 85 kgN/ha liegt (Hofer et al., 2010), entsprach der Netto Entzug der Soja bei mit Einberechnung von 47% N₂-Fixierung von 68 kgN/ha den Ergebnissen der Bodenanalysen. Die Ergebnisse können zwar mit Literaturdaten von biologisch angebaute Sojabohne in der Schweiz von Oberson et al. (2007) verglichen werden, jedoch zeigten andere Untersuchungen, dass auch %Ndfa Werte über 70 % bei nicht gedüngten Böden erreicht werden können (Alves et al., 2003). Da der Bodenstickstoffvorrat im Frühjahr relativ hoch war, konnte dies zu einer verstärkten Aufnahme von mineralischem Bodenstickstoff geführt haben. Andere Untersuchungen zeigten, dass bei hohem Bodenstickstoffgehalt die potentielle N₂-Fixierleistung nicht erreicht werden kann, da die Fixierungsrate der Knöllchen reduziert bleibt (Graham und Vance, 2000). Auch wenn die Aufnahme von mineralischem N relativ groß war, lieferte die nodulierte Soja höhere Qualitätseigenschaften als die nicht nodulierte Soja (Tabelle 16). Allein der Ölgehalt war bei der nicht nodulierten Soja signifikant höher. Wie aus der Literatur bekannt, divergierten Protein und Ölgehalt (Gretzmacher et al., 1994). Da der Produktionsschwerpunkt in Europa aufgrund des geringen Ölgehaltes der

Samen und der ungünstigen Fetteigenschaften beim Proteingehalt liegt, ist ein geringer Ölgehalt erwünscht (Vollmann, 2005). Somit beeinflusste die Knöllchenbildung und die damit zusammenhängende N_2 -Fixierung die Qualitätsparameter positiv. Hohe Proteingehalte und Kornerträge werden nur ermöglicht, wenn eine hohe N_2 -Fixierleistung erbracht wird und zusätzlich ein Teil des N durch die Aufnahme von mineralischem Bodenstickstoff gedeckt wird (Gretzmacher et al., 1994; Fabre und Planchon., 2000).

4.2.2. Berechnung des Prozentanteils des fixierten N_2 aus der Atmosphäre, zur Gesamtstickstoffaufnahme der Soja (%Ndfa)

In der Literatur wurde die Wichtigkeit der Ermittlung eines Sorten- bzw. Bakterienstamm-spezifischen B- Wertes bei Ermittlung des %Ndfa mittels der natural abundance Methode mehrfach aufgezeigt. Die Miteinbeziehung der isotopischen Diskriminierung und Fraktionierung von ^{15}N innerhalb der Pflanze ist vor allem bei hohen Fixierungsraten unerlässlich (Peoples et al., 2002; Unkovich et al., 2008). Kleine Unterschiede im B- Wert haben relativ wenig Bedeutung in Bezug auf die %Ndfa Berechnung (Unkovich et al., 2008). In diesem Versuchsansatz lag der Unterschied zwischen der Berechnung des %Ndfa mit dem allgemein üblichen Literaturwert (-1,83 ‰) und dem für die Sorte A ermittelten B- Wert (-1,304 ‰) bei 3,6% (Tabelle 17). Zum Zeitpunkt der Ernte änderte sich somit der Anteil des fixierten N_2 um 2,7 - 2,8 kg N/ha, wobei der Gesamt-N Gehalt der oberirdischen Strohbiomasse 74 kg N/ha betrug. Der Effekt der unterschiedlichen B- Werte auf die Abschätzung des %Ndfa war somit bei dieser Studie relativ gering. Denn bezieht man in diese Berechnung auch noch die Messungenauigkeit der Analyse von $\pm 0,15$ ‰ und die Fehlerquelle durch die biologische Variabilität mit ein, verringert sich die Differenz zwischen den Berechnungsvarianten noch mehr (Unkovich et al., 1994). Keine signifikanten Unterschiede waren festzustellen, da der Anteil der N_2 -Fixierung unter 50% lag (Tabelle 17). Bei hohen %Ndfa Werten führen bereits geringe Veränderungen im B- Wert zu signifikanten Unterschieden in den Fixierungswerten. (Unkovich et al., 2008). In der biologischen Landwirtschaft wird ein hoher Fixierungsanteil angestrebt, signifikante Fehleinschätzungen durch einen nicht exakten B- Wert wären die Folge.

Eine weitere Fehlerquelle bei der Berechnung des %Ndfa mit der natural abundance Methode ist wie beschrieben, die Einschätzung des $^{14}N/^{15}N$ Verhältnisses des pflanzenverfügbaren Bodenstickstoffs (Peoples et al., 2002). Da die Beziehung zwischen %Ndfa und Leguminosen $\delta^{15}N$ bei einem gegebenen Referenzpflanzen $\delta^{15}N$ als linear angesehen werden kann, ist die Empfindlichkeit der %Ndfa Abschätzung, der Höhe des $\delta^{15}N$ der Referenzpflanze direkt proportional (Unkovich et al., 1994). . Daher, je höher der ^{15}N Gehalt der Referenzpflanze, desto genauer ist die Abschätzung bei geringen %Ndfa Anteil.

Auf die praktische Anwendung bezogen bedeutet dies, dass die Auswirkung auf die Genauigkeit einer geeigneten Referenzpflanze zunimmt, wenn das %Ndfa geringer als 30% ist oder der $\delta^{15}\text{N}$ Wert der Referenzpflanze geringer als 4‰ ist. Diese Eigenschaften trafen zwar auf diesen Versuch nicht zu, jedoch lagen die Signaturen nicht weit über den 4‰. Erst ab einem $\delta^{15}\text{N}$ der Referenzpflanze über 6‰ verringert sich der Einfluss auf die %Ndfa Berechnung (Unkovich et al., 2008).

Da auf den zur Analyse verwendeten Versuchsfeldern vorher noch nie Soja angebaut wurde, war es möglich, Soja anzubauen, die keine Knöllchen aufwies. So eine nicht nodulierte Soja ist die beste Variante als Referenzpflanze, da sie das ähnlichste N-Aufnahmemuster wie eine nodulierte Soja besitzt. *Amaranthus retroflexus*, der ebenfalls als Referenzpflanze angebaut wurde, zeigte eine etwas höhere $\delta^{15}\text{N}$ Signatur (4,98‰) als die nicht nodulierte Soja (4,53‰). Bei der %Ndfa Abschätzung führte dies zu einer Differenz von 3,9 - 4% (Tabelle 17). Unter diesen Versuchsbedingungen waren der Einfluss auf die %Ndfa Abschätzung, durch die verschiedenen Berechnungsvarianten (B- Wert; Referenzpflanze) relativ gering (Abb.11; Tabelle 17). Der Einfluss auf die %Ndfa Berechnung würde steigen, wenn die Differenz zwischen $\delta^{15}\text{N}$ der Referenzpflanze und dem B- Wert klein ist. (Peoples et al., 2002) Daher darf die Wichtigkeit eines akkuraten B-Wertes bzw. Referenzpflanze bei %Ndfa Ermittlung nicht unterschätzt werden.

In der Literatur wurde gezeigt, dass die Differenz der $\delta^{15}\text{N}$ Signatur aus ober- und unterirdischer Biomasse ($\Delta\delta^{15}\text{N} = \delta^{15}\text{N}_{\text{Spross}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{nodulierte Wurzel}}$) eine hohe Aussagekraft in Bezug auf den Anteil der N_2 -Fixierung an der Gesamtstickstoffaufnahme (%Ndfa) bei symbiontisch fixierenden Leguminosen hat (Wanek und Arndt, 2002). Die $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werte der 8 Erntetermine entlang der Vegetationsperiode korrelierten hoch signifikant mit der entsprechenden %Ndfa Abschätzung durch die natural abundance Methode ($r^2 = 0,82$; Abb.12). Der Vergleich der Regressionsanalyse von $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werten und %Ndfa (NA) dieser Arbeit, mit der Arbeit von Wanek und Arndt (2002) führte zu vergleichbaren Steigungen (-6,7 gegen -8,9). Der Schnittpunkt mit der y- Achse unterschied sich aber sehr stark (-0,004 gegen 19,8) (Abb.12_a b)). Ähnliches beobachteten Wanek und Arndt (2002) beim Vergleich ihrer Daten mit Literaturwerten von Kohl und Shearer (1980) (5,8 gegen 19,8). Auch bei diesen Literaturdaten handelte es sich um Sojapflanzen, die sich in den Vegetationsstadien und Anbaubedingungen unterschieden (Hydrokultur- Boden; Glashaus-Feld). Wanek und Arndt (2002) führten die positiven $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werte bei der maximalen Nitratversorgung auf eine Isotopendiskriminierungsänderung, aufgrund des Wechsels in der N Versorgung von Knöllchenmetabolismus zu mineralischer N Aufnahme zurück. Verschiedene Prozesse in der N Aufnahme können dafür verantwortlich sein. In der Literatur ist bekannt, dass sowohl die N Aufnahmeform als auch die Konzentration eine Änderung in der Isotopenverteilung innerhalb

der Pflanze hervorrufen kann (Högberg, 1997). So zeigte Evans et al. (1996), dass bei Nitrat versorgten Tomaten die Blätter um mehr als 5 ‰ im Vergleich zur Wurzel angereichert sein können, während bei Ammoniumversorgung kein Unterschied im $\delta^{15}\text{N}$ zwischen Blätter und Wurzel auftrat. Bei Betrachtung von Konzentrationsunterschieden in der Nitrat Versorgung von Leguminosen konnte Andrews et al. (1984) bei Leguminosen temperater Herkunft einen erhöhten Anteil von der Gesamt Pflanzen Nitratreduktase Aktivität im Spross im Vergleich zur Wurzel erkennen. Jedoch blieben in seinen Untersuchungen bei der Sojabohne der Anteil der Nitratreduktase Aktivität in Wurzel und Spross, bei unterschiedlichen Nitrat Konzentrationen, relativ konstant.

Auch Untersuchungen von Khadka und Tatsumi (2006) führten bei der Prüfung der Korrelation zwischen $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werten und %Ndfa (NA) bei Sojabohne zu einer ähnlichen Steigung und im Vergleich zu Wanek und Arndt (2002) zu einem stark abweichenden Schnittpunkt mit der y-Achse. Diese Arbeitsgruppe verwendete jedoch zur $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Berechnung, nur den $\delta^{15}\text{N}$ Wert der Wurzel und erklärte hiermit ihre starke Abweichung im Schnittpunkt der y- Achse.

Die Unterschiede in der Steigung waren zwar in allen Untersuchungen gering, würden aber auch die Genauigkeit dieser Methode zur %Ndfa Abschätzung einschränken. Die abweichenden Steigungen könnte durch eine Sortenabhängigkeit in der N Allokation, und die damit verbundene ^{15}N Verteilung innerhalb der Pflanze, bei zunehmender N_2 -Fixierleistung bedingt worden sein. Da die Prozesse, die für die ^{15}N Verteilung innerhalb der Pflanze verantwortlich sind, sehr komplex sind, ist es schwierig eine einzige Erklärung für die die stark abweichenden Schnittpunkte mit der y- Achse und die Abweichungen in der Steigung zu finden. Weitere Untersuchungen sind notwendig um diesen Sachverhalt klären zu können.

4.3. Untersuchung der Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ Wertes von *Amaranthus retroflexus* durch die Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.)

Der N-Transfer zwischen benachbarten Pflanzen wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben (Høgh-Jensen und Schjoerring, 2000; Paynel et al., 2001; Xiao et al., 2004; Rasmussen et al., 2007). Vor allem der N-Transfer zwischen einer Leguminose und einer nicht fixierenden Nachbarpflanze ist in landwirtschaftlichen Systemen von besonderer Bedeutung (Xiao et al., 2004; Rasmussen et al., 2007). Beachtliche Mengen von N können aus der Leguminosenwurzel als niedermolekulare Substanzen wie lösliche Wurzelexsudate, Aminosäuren, Hormone und Enzyme oder als höher molekulare

Substanzen, wie Schleime, Wurzelysate und totes Wurzel- und Knöllchengewebe in die Rhizosphäre herausgelöst werden (Mayer et al., 2003). Bei einer Mischkultur von Ackerbohne (*Vicia faba*) und Weizen (*Triticum aestivum*) konnten mit unterschiedlichen Messmethoden ein N Transfer von der Ackerbohne zum Weizen von ca. 2,4 -15,2 % vom Gesamt N im Weizen beobachtet werden (Xiao et al., 2004). Bei in Lösung wachsenden Sojapflanzen wurden ab dem R4 Stadium quantitativ die höchsten Exsudationen gemessen. Hauptsächlich wurden Ureide, Ammonium, lösliche Proteine und Aminosäuren detektiert (Ofosu-Budu et al., 1990).

Wenn ein solcher Transfer auch zwischen Referenzpflanze und Leguminose stattfindet, sollte man dies auch anhand der isotopischen Signatur in der Referenzpflanze erkennen können (Unkovich et al., 2008). In diesem Fall könnte die Referenzpflanze eine geringere ^{15}N Anreicherung aufweisen, als die tatsächliche Signatur des für die Leguminose verfügbaren Boden N ist. Allerdings konnte bisher kein signifikanter Einfluss auf die Messung des %Ndfa gefunden werden (Chalk, 1996 zitiert aus (Unkovich et al., 2008)).

In dieser Untersuchung konnte keine signifikante Abreicherung des Amaranthes neben einer nodulierten Soja ermittelt werden, eindeutige Ergebnisse blieben aus. Die Abschätzung des %Ndfa wurde dadurch nicht beeinflusst. Eine Beeinflussung des $\delta^{15}\text{N}$ von *Amaranthus retroflexus* durch die Sojabohne fand nur in einem sehr geringen Maße statt. Die $\delta^{15}\text{N}$ Werte in der Referenzparzelle waren zwar signifikant geringer als jene in der nodulierten Sojaparzelle. Jedoch konnten vom Amaranth in der nicht nodulierten Sojaparzelle keine signifikanten Unterschiede zu den beiden anderen Varianten gezeigt werden (Tabelle 19). Die Unterschiede waren kaum höher als die Messungenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,15 \text{ ‰}$). Die dennoch etwas höheren $\delta^{15}\text{N}$ Werte des Amaranthes in den Sojaparzellen könnten auf den intensiveren Pflanzenbewuchs in diesen Parzellen (Sojapflanzen + Amaranth) hinweisen. Durch die verstärkte N-Aufnahme in diesen Parzellen könnte es zu einer ^{15}N Anreicherung des verbliebenen Bodenstickstoffs gekommen sein, welche in den etwas höheren $\delta^{15}\text{N}$ Werten des Amaranthsprosses zu erkennen waren.

Bei der Interpretation der N Konzentrationen im Amaranth musste unbedingt berücksichtigt werden, dass die Amaranthpflanzen in den Referenzparzellen großwüchsiger waren, also mehr Biomasse aufgebaut hatten, und dadurch ein Verdünnungseffekt aufgetreten war. Der Biomasseunterschied war durch Konkurrenz und durch aktive Unterdrückung des Amaranthbewuchses beim Sojaanbau selbst entstanden.

Da die N Konzentrationen keine eindeutigen Ergebnisse lieferten und die Auswirkung auf die ^{15}N Signatur im Amaranth gering war, konnte nicht festgestellt werden in wie weit ein N Transfer zwischen den Arten stattgefunden hat und ob sie davon profitieren haben können.

Der N Transfer war zudem wahrscheinlich durch die gute N Versorgung, von 131-62 kg/ha $\text{NO}_3\text{-N}$ des Bodens der Versuchsfläche verringert. Denn Untersuchungen mit Klee und Lolium konnten zeigen, dass ein Transfer bei steigenden Boden N Vorkommen abnahm (Høgh-Jensen und Schjoerring, 2000).

Es kann angenommen werden, dass ein N- Transfer von der Sojapflanze zum Amaranth stattgefunden hatte, wenn eine kurze Distanz zwischen den Wurzeln der beiden Arten vorausgesetzt wird (Xiao et al., 2004). Die alleinige Messung des $\delta^{15}\text{N}$ Wertes im Amaranth reichte aber nicht aus, um Aussagen diesbezüglich zu treffen, da der Einfluss der Soja auf den $\delta^{15}\text{N}$ Wert und der N Konzentration des Amaranthes zu gering war. Genauere Abschätzung des N Transfers liefern Methoden wie die direkte oder indirekte „ ^{15}N dilution“ Technik, wobei auch diese Schwächen in der Genauigkeit aufweisen können (Høgh-Jensen und Schjoerring, 2000).

5. Schlussfolgerung

Bei der Ermittlung der B-Werte im Glashaus wurde gezeigt, dass sich die Spross B- Werte der untersuchten Sorten von dem in der Literatur für die Sojabohne empfohlenen B-Wert signifikant unterschieden. In diesem Versuch unterschied sich die Hoch-Protein Sorte Primus am stärksten von den anderen Sorten. Sie wies ein unterschiedliches N Verteilungsmuster innerhalb der Pflanzen auf, das möglicherweise auf Differenzen im N Haushalt bei neuen Sorten zurückzuführen ist. Die Sorte Primus zeigte auch ein deutlich unterschiedliches Muster in der ^{15}N Verteilung innerhalb der Pflanze. Dies stand mit dem unterschiedlichen N Export Anteil aus den Knöllchen in Verbindung. Ob die unterschiedliche N Verteilung und die damit zusammenhängende ^{15}N Verteilung entwicklungsbedingt verursacht wurden oder mit Sortenunterschieden zu erklären sind, müssten noch zusätzliche Untersuchungen durchgeführt werden. Bei der Berechnung des %Ndfa mit dem $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Ansatz würden sortenbedingte Verteilungsunterschiede von Bedeutung sein.

Die Ergebnisse der %Ndfa Berechnung mit der NA Methode bei Verwendung unterschiedlicher B- Werte (neu ermittelter B- Wert zu allgemeinen Literaturwert) und unterschiedlicher Referenzpflanzen (*Amaranthus retroflexus* zu nicht nodulierter Soja) ergaben in dieser Untersuchung keine signifikanten Unterschiede. Es wurde aber darauf hingewiesen, dass die Wichtigkeit von spezifischen B- Werten bei höheren N_2 - Fixierungsanteilen als in diesem Freilandversuch gegeben steigt. Um genaue %Ndfa Ergebnisse liefern zu können, sollte auch die B-Wert Ermittlung für die angewendeten Bakterienstämme vorgenommen werden. Die Ergebnisse aus der Korrelation der $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Werte mit der %Ndfa aus der NA Methode waren vielversprechend und deuteten auf eine

gute Möglichkeit der %Ndfa Messung ohne den Gebrauch einer Referenzpflanze hin. Worauf die Unterschiede in der Steigung und im Schnittpunkt der y- Achse beim Vergleich mit der Literatur zurückzuführen sind, müssten weitere Versuche klären. Auch die im Topfversuch erwähnte eventuelle Sortenabhängigkeit des $\Delta\delta^{15}\text{N}$ Wertes sollte in diesem Zusammenhang mit einbezogen werden.

6. Zusammenfassung

Im biologischen Anbau von Sojabohne (*Glycine max(L.) Merrill.*) ist ein hoher Anteil der N_2 -Fixierung an der Gesamtstickstoffaufnahme (%Ndfa) essentiell. Für die Messung des %Ndfa kann die natural abundance Methode herangezogen werden. Für exakte Abschätzungen mittels dieser Methode, ist die Ermittlung eines Sorten- und Bakterienstammspezifischen B- Wertes notwendig. Das Ziel dieser Arbeit war es, die B- Werte für 5 verschiedene Sojasorten und für 3 verschiedene Rhizobium Stämme in einem Topfversuch zu ermitteln. Die Spross B- Werte für die verschiedenen Sorten lagen zwischen -1,28 ‰ und -1,62 ‰. Bakterienstammunterschiede im B- Wert konnten nicht gezeigt werden, da nur eines der verwendeten Impfpräparate aktive Stämme (*Bradyrhizobium japonicum*) enthielt. Bei den unterschiedlichen Sorten konnte auf ^{15}N Verteilungsunterschiede innerhalb der Pflanze bei 100%Ndfa hingewiesen werden. Die Hoch-Protein Sorte Primus unterschied sich dabei am signifikantesten von den anderen Sorten. Mit Hilfe des Rayleigh Modells konnte gezeigt werden, dass die unterschiedliche ^{15}N Verteilung mit einem unterschiedlichen N Exportanteil aus den Knöllchen in Verbindung stand. Ob dieses Auftreten mit einer unterschiedlichen N- Aufnahme, Remobilisierung und Verteilung bei „neuen“ Sorten im Vergleich zu „alten“ Sorten in Zusammenhang stehen könnte wurde diskutiert. Die ermittelten Spross B- Werte wurden anschließend bei der Berechnung des %Ndfa in einem Feldversuch angewandt. Als Referenzpflanzen dienten nicht nodulierte Sojabohnen und *Amaranthus retroflexus*. Die Ergebnisse der %Ndfa Berechnung mit der Verwendung unterschiedlicher B- Werte (neu ermittelter B- Wert zu allgemeinem Literaturwert) und unterschiedlicher Referenzpflanzen (*Amaranthus retroflexus* zu nicht nodulierter Soja) wurden miteinander verglichen. Da der Anteil der Stickstofffixierung maximal 47 % betrug, waren die Unterschiede bei der Berechnung relativ gering. Auch die Differenz zwischen $\delta^{15}\text{N}$ Spross und nodulierter Wurzel der Sojabohne ($\Delta\delta^{15}\text{N}$) wurde berechnet. Eine starke Korrelation zwischen %Ndfa der natural abundance Methode und $\Delta\delta^{15}\text{N}$ konnte gezeigt werden. Die Robustheit des $\Delta\delta^{15}\text{N}$ zur Quantifizierung der N_2 -Fixierung konnte bestätigt werden, die abweichende Steigung und der abweichende Schnittpunkt mit der y-Achse im Vergleich zur Literatur wurden diskutiert. Abschließend wurde der Einfluss benachbarter Sojapflanzen auf den $\delta^{15}\text{N}$ von *Amaranthus retroflexus* untersucht. Ein N Transfer zwischen benachbarten Pflanzen wurde mittels

Literatur diskutiert, eindeutige Ergebnisse konnten bei dieser Arbeit aber nicht geliefert werden.

7. Summary

A high contribution of atmospheric nitrogen fixation to overall plant N uptake (expressed as %nitrogen derived from atmosphere (%Ndfa)) is essential in organically cropped soybeans (*Glycine max(L.) Merrill.*). The natural abundance (NA) method can be used to measure N₂ fixation. Specific B-values for each cultivar and rhizobial strain (*Bradyrhizobium japonicum*) are required to obtain estimates for %Ndfa with high precision. The aim of this study was to determine B-values for 5 different soybean cultivars and 3 different rhizobial strains in a glasshouse study. The B-values for the different cultivars ranged between -1,28 ‰ and -1,62 ‰. Differences between rhizobial strains could not be shown, because only one of the used inoculants contained active bacteria, which induced nodulation. Cultivars which differed in the pattern of ¹⁵N distribution at 100% Ndfa on different cultivars were shown. The high-protein cultivar Primus being significantly differed compared to the other cultivars. By using the Rayleigh model, it was shown, that the variation in the ¹⁵N distribution was due to differences in the proportion of nitrogen exported from the nodules. This pattern may have been caused by differences in the occurrence of N uptake, remobilization and distribution between new and old cultivars. The obtained shoot B-values were used to calculate the %Ndfa in a field experiment. Non nodulated soybean and *Amaranthus retroflexus* were used as reference plants. The contribution of N₂-fixation to plant N uptake was only 47%, which may explaining the absence of any significant effect of reference plant (non nodulated soybean to *Amaranthus retroflexus*) or source of B-value (literature to determined B-value) or calculated %Ndfa. Also the applicability of the difference between δ¹⁵N of shoot and nodulated root (Δδ¹⁵N) for measurement of %Ndfa were examined. A high correlation between %Ndfa estimates by the natural abundance method and the Δδ¹⁵N was shown. The robustness of Δδ¹⁵N for quantifying the N₂-fixation was confirmed. The differences in the intercept with the y-axis and the slope of the regression line with literature data were discussed. Additionally, the influence of neighboring soybean plants on the δ¹⁵N of *Amaranthus retroflexus* was investigated. A potential nitrogen transfer between neighboring plants was discussed by literature, however this study could not provided definitive results.

8. Danksagung

Ich möchte mich bei allen, die mich beim Erstellen der vorliegenden Arbeit unterstützt haben, herzlich bedanken. Da ich aus Umfanggründen nicht alle namentlich erwähnen kann, werde ich mich auf einige wenige beschränken.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. Wilfried Hartl für das Ermöglichen der Diplomarbeit bei der Bio Forschung Austria.

Für die wissenschaftliche Betreuung und die unermüdliche Unterstützung zur Verwirklichung dieser Arbeit möchte ich mich im Besonderen bei Herrn Dr. Peter Schweiger bedanken.

Bei allen Mitarbeitern der Bio Forschung Austria für ihre zahlreichen Hilfestellungen.

Ass. Prof. Dr. Wolfgang Wanek für die wissenschaftliche Betreuung und fachliche Diskussion.

Den Gärtnern Andreas Schröfl und Thomas Joch, die mir in den praktischen Tätigkeiten im Glashaus zu Hilfe kamen.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder Philipp die mir mein Studium ermöglichten und mich bis zum Schluss stets immer unterstützten.

Meinen Schwiegereltern und meiner Schwägerin Jordanka für ihre tatkräftige Hilfe.

Auch meinen Freunden, in Besonderen Karina und Marko, die bei der Kinderbetreuung stets immer Zeit gefunden haben und mir halfen.

Bei meinem Freund Rusi für seine liebevolle und geduldige unermüdliche Unterstützung.

Meiner Tochter Anna, dafür dass sie meine Kraftquelle und mein Glücksbringer ist.

9. Literaturnachweis

- Alves B. J. R., Boddey R.M., Urquiaga S. (2003). "The success of BNF in soybean in Brazil." *Plant and Soil* 252: 1-9.
- Andrews M., Sutherland J.M., Thomas R.J. and Sprent J.I. (1984). "Distribution of nitratereductase activity in six legumes: the importance of the stem." *New Phytol.* 98:301-310
- Bergersen F. J., Peoples M.B. , Turner G.L. (1988). "Isotopic discrimination during the accumulation of nitrogen by soybeans." *Aust.J.Pl.Physiology*(15): 407- 420.
- Cepuder P., Tuller M., Sagerer A. und Suda J. (1998). "Grundwasserschonender Ackerbau im Marchfeld. Stickstoffanalyse bei unterschiedlichen Fruchtfolgen am Standort Fuchsenbigl. BMLF/WWK; Wien. zit. in UBA 2000. Biologische Landwirtschaft im Marchfeld: Potenziale zur Entlastung des Natur- und Landschaftshaushaltes." (Wien. M-127).
- eBOD. "http://gis.lebensministerium.at/eBOD/frames/index.php?&gui_id=eBOD ". Retrieved 10.11.2009 9:55 Uhr.
- Fabre F., Planchon C. (2000). "Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean." *Plant Science* 152: 51-58.
- FAOSTAT (2007). "<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>." Retrieved 11.8.2009 18:54 Uhr.
- Graham P., and Vance, Cp. (2000). "Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs." *Field Crops Research* 65: 93-106.
- Gretzmacher R., Schahbazian N., und Pourdavai H. (1994). "Einfluss von symbiontischem, organischem und anorganischem Stickstoff auf Ertrag und Qualität von Sojabohnen." Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität für Bodenkultur, Wien 45(heft-1).
- Größ C., Schmidt J. (2007). "BIO AUSTRIA Kulturblatt Soja 2007 http://www.bio-austria.at/biobauern/beratung/fach_broschueren/beratungsblaetter/ackerbau/kulturblatt_sojabohne." 10.11.2009 12:23 Uhr.
- Gruber H. (1986). Die Auswirkung unterschiedlicher Kunstlichtquellen auf das Längenwachstum der Internodien von Sojabohnen (*Glycine max. (L.) Merr.*). Diplomarbeit, BOKU Wien.
- GrünerBericht(2010). "http://www.gruenerbericht.at/cm2/index.php?option=com_docman&task=cat_view&Itemid=27&gid=82&orderby=dmdate_published" Lebensministerium Österreich. Retrieved 10.10.2010 13:44 Uhr

- Guimarães A. P., de Morais R. F., Urquiaga S., Boddey R.M., Alves B.J.R. (2008). "Bradyrhizobium strain and the ^{15}N natural abundance quantification of biological N_2 fixation in soybean " Sci.Agric. (Piracicaba, Brazil) 65(5): 516-524.
- Hofer M., Hartl W., Berger E., Breuer H. (2008). "Qualitätsspeisesoja aus österreichischer, biologischer Landwirtschaft - Projektbericht 2008 Niederösterreich und Wien, Bio Forschung Austria, BIO AUSTRIA."
- Hofer M., Schweiger P., Hartl W. (2010). "Pflanze mit Zukunft." Bio Austria 01/2010 http://www.bioforschung.at/uploads/media/Pflanze_mit_Zukunft.pdf 10.10.2010 16:09 Uhr
- Högberg P. (1997). "Transley Review No.95: ^{15}N natural abundance in soil-plant systems." New Phytol.(137): 179-203.
- Høgh-Jensen H. and Schjoerring J. K. (2000). "Below-ground nitrogen transfer between different grassland species: Direct quantification by ^{15}N leaf feeding compared with indirect dilution of soil ^{15}N ." Plant and Soil 227: 171-183.
- Hungria M., Franchini J.C., Campo R.J., Crispino C.C., Moraes J.Z., Sibaldelli R.N.R., Mendes I.C. and Arihara J. (2006). "Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N_2 fixation and fertilizer to grain yield." Can. J. Plant Science 86: 927-939.
- Huss-Danell K. and Chaia. E. (2005). "Use of different plant parts to study N_2 fixation with ^{15}N techniques in field-grown red clover (*Trifolium pratense*)." Physiologia Plantarum 125: 21-30.
- Khadka, J., Tatsumi J. (2006). "Alteration in Intra-plant Distribution of $\delta^{15}\text{N}$ in Response to Shading in Legumes." Plant Prod. Sci. 9(3): 219-227.
- Khadka J., Tatsumi J. (2006). "Difference in $\delta^{15}\text{N}$ Signatures among Plant Parts of Perennial Species Subjected to Drought Stress with Special Reference to the Contribution of Symbiotic N_2 -fixation to Plant N." Plant Prod. Sci. 9(2): 115-122.
- Klatt S. (2008). Der Beitrag heimischer Leguminosen zur Stickstoffversorgung artenreicher Wiesen im westlichen Hunsrück (Rheinland-Pfalz) Göttingen, Cuvillier Verlag.
- Kumudini S., Hume D.J. and Chu G. (2001). "Genetic Improvement in Short Season Soybeans: I. Dry Matter Accumulation, Partitioning, and Leaf Area Duration." Crop Science 41: 391-398.
- Kumudini S., Hume D.J. and Chu G. (2002). "Genetic Improvement in Short-Season Soybeans: II. Nitrogen Accumulation, Remobilization, and Partitioning." Crop Science 42: 141-145.
- Mariotti A., Germon J.C., Hubert P., Kaiser P., Letolle R., Tardieux A. and Tardieux P. (1981), "Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: some principles: illustration for the denitrification and nitrification processes." Plant Soil 62: 413-430
- Mayer J., Buegger F., Jensen E.S., Schloter M. und Heß J. (2003). "Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a ^{15}N in situ stem labeling method." Soil Biology & Biochemistry 35: 21-28.

- Minagawa M., Wada E. (1984). "Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between delta ^{15}N and animal age." *Geochim Cosmochim Acta* 48: 1135-1140.
- Oberson A., Nanzer S., Bosshard C., Dubois D., Mäder P., Frossard E. (2007). "Symbiotic N_2 fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by ^{15}N dilution and ^{15}N natural abundance." *Plant Soil* 290: 69-83.
- Ofosu-Budu K. G., Fujita K., Ogata S. (1990). "Excretion of ureide and other nitrogenous compounds by the root system of soybean at different growth stages." *Plant and Soil* 128: 135-142.
- Okito A., Alves B.R.J., Urquiaga S., Boddey R.M. (2004). "Isotopic fractionation during N_2 fixation by four tropical legumes." *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1179-1190.
- Paynel F., Murray Ph. J, Cliquet J.B. (2001). "Root exudates: a pathway for short-term N transfer from clover and ryegrass." *Plant and Soil* 229: 235-243.
- Peoples M. B., Boddey R.M., Herridge D.F. (2002). "Quantification of Nitrogen Fixation." Elsevier Science B.V.(13): 357 - 389.
- Rahmann G., (Hrsg.) (2006). "Ressortforschung für den Ökologischen Landbau 2006." Sonderheft der Landbauforschung Völkenrode SH 298: 160 S.
- Rasmussen J., Eriksen J., Jensen E.S., Esbensen K.H., Høgh-Jensen H. (2007). "In situ carbon and nitrogen dynamics in ryegrass-clover mixtures: Transfers, deposition and leaching." *Soil Biology & Biochemistry* 39: 804-815.
- Robinson D. (2001). " $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle". *Trends in Ecology & Evolution* 16(3):153 -162
- Shearer G., Bryan B.A., Kohl D.H. (1984). "Increase of Natural ^{15}N Enrichment of Soybean Nodules with Mean Nodule Mass." *Plant Physiology* 76: 743-746.
- Shearer G. H., Kohl D.H. (1986). " N_2 fixation in field settings: estimates based on natural ^{15}N abundance." *Aust. J. Plant Physiology* 13: 699-756.
- Shearer G. H., Kohl D.H. (1989). "Natural ^{15}N enrichment of amide-exporting legume nodules." *Physiol.Plant* 76: 586 - 590.
- Shiraiwa T., Sinclair T., and Hashikawa U. (1994). "Variability in nitrogen fixation activity among soybean cultivars grown under field conditions." *Jpn.J.Crop. Science* 63: 111-117.
- Sortenliste (2010). "http://www.baes.gv.at/uploads/media/Sortenliste_2010.pdf." Retrieved 13.04.2010; 10:12 Uhr
- Taiz T., Zeiger E., (2000). *Physiologie der Pflanzen.* aus dem Engl. übers. von Dreßen U. et al. Heidelberg Berlin, Spektrum Akademischer Verlag.
- Umweltbundesamt (2000). "Biologische Landwirtschaft im Marchfeld:Potenziale zur Entlastung des Natur- und Landschaftshaushaltes." Wien.M-127.

- Unkovich M. J., Pate J. S., Sanford P. and Armstrong E. L. (1994). "Potential Precision of the $\delta^{15}\text{N}$ Natural Abundance Method in Field Estimates of Nitrogen Fixation by Crop and Pasture Legumes in South-west Australia." *Aust. J. Agric. Res.*(45): 119-132.
- Unkovich M. J., Pate J.S. (2000). "An appraisal of recent field measurements of symbiotic N_2 fixation by annual legumes." *Field Crops Research*(65): 211-228.
- Unkovich M. J., Herridge D., Peoples M., Cadisch G., Boddey, B., Giller K., Alves B. and Chalk P. (2008). *Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems*. Canberra, Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Vollmann (2002). "http://ipp.boku.ac.at/pz/uebungen/Qual_op_1.htm." Retrieved 10.11.2009,11:17 Uhr.
- Vollmann, J., Wagenristl H., Pokeprasert A., Schally H., Grausgruber H. (2005). *Anpassung der Sojabohne an besondere Qualitätsanforderungen*. Bericht über 56. Tagung 2005 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, HBLFA Raumberg - Gumpenstein.
- Wanek W., Arndt S.K. (2002). "Difference in $\delta^{15}\text{N}$ signatures between nodulated roots and shoots of soybean is indicative of the contribution of symbiotic N_2 fixation to plant N." *Journal of Experimental Botany* 53(371): 1109-1118.
- Wania R., Hietz P., Wanek W. (2002). "Natural ^{15}N abundance of epiphytes depends on the position within the forest canopy: source signals and isotope fractionation." *Plant, Cell and Environment* 25: 581-589.
- Werner R. A., Schmidt H. (2002). "The in vivo nitrogen isotop discrimination among organic plant compounds." *Phytochemistry* 61: 465-484.
- Xiao Y., Li L., Zhang F. (2004). "Effect of root contact on interspecific competition and N transfer between wheat and fababean using direct and indirect ^{15}N techniques." *Plant and Soil* 262: 45-54.
- Yoneyama T., Nakano H., Kuwahara M., Takahashi T., Kamabyashi I. and Ishizuka J. (1986). "Natural ^{15}N abundance of field grown soybean grains harvested in various locations in Japan and estimate of the fractional contribution of nitrogen fixation." *Soil Science Plant Nutr.* 32(3): 443-449.
- Yoneyama T. (1987). " N_2 fixation and natural ^{15}N abundance of leguminous plants and Azolla." *Bull. Natl. Inst. Agrobiol.* 3: 59-87.
- ZAMG (2009). "http://www.zamg.ac.at/fix/klima/oe71-00/klima2000/klimadaten_oesterreich_1971_frame1.htm." Retrieved 09.11.2009.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name	Marion Bonell
Geburtsdatum	28.07.1980
Geburtsort	Bozen/Bolzano (Italien)
Staatsbürgerschaft	Italien

Ausbildung:

2003 – 2010	Studium der Biologie an der Universität Wien (Österreich)
1999 – 2003	Studium der Medizin an der Universität Wien (Österreich)
1994 – 1999	Deutschsprachige Frauenoberschule „Marie Curie“ Fachrichtung Biologie in Meran/Merano (Italien)
1986 – 1994	Pflichtschule in Kaltern/Caldaro (Italien)

Berufliche Praxis – Praktikum:

Seit 2008	Wissenschaftliche Mitarbeiterin bei Bio Forschung Austria (Österreich)
2008	Praktikum im land- und forstwirtschaftlichen Versuchszentrum Laimburg/Vadena (Italien)
2001	Praktikum im Kaiser- Franz -Josef Spital der Stadt Wien (Österreich)