

## Kleinräumige Variabilität der symbiontischen N<sub>2</sub>-Fixierung

H. Heuwinkel, F. Locher und R. Gutser<sup>21</sup>

### Einleitung

Die symbiontische N<sub>2</sub>-Fixierung ist ein klassisches Beispiel für eine Interaktion zwischen Pflanze und Mikroorganismus, deren ökonomische Bedeutung unbestritten ist. Schon Theophrast (372-287 c. Chr.) wird dahingehend zitiert, dass Bohnen keine Last für den Boden seien, sondern ihn sogar düngten. Hellriegel & Wilfarth (1888) belegten mit ihrer Arbeit erstmalig die N<sub>2</sub>-Fixierung durch die Symbiose und erklärten so die düngende Wirkung von Leguminosen. Die Leistungsfähigkeit der symbiontischen N<sub>2</sub>-Fixierung läßt sich durch die Menge an fixiertem N pro Fläche (g N<sub>dfa</sub>/m<sup>2</sup>) und durch den Anteil des fixierten Stickstoffs im Leguminosen-N (% N<sub>dfa</sub>) beschreiben. Die Mengenangaben für die N<sub>2</sub>-Fixierung schwanken in der Literatur sehr stark (100 bis 500 kg N\*ha<sup>-1</sup>\*a<sup>-1</sup> (LaRue & Patterson 1981). Diese Spanne reflektiert nicht nur die unterschiedliche Leistungsfähigkeit der Arten bzw. Symbiosen, sondern auch Standortunterschiede.

Die Unsicherheit in der Bewertung betriebs- oder schlagbezogener N-Bilanzen, die die Einbeziehung der symbiotischen N<sub>2</sub>-Fixierung hervorruft, sowie derzeit sich entwickelnde Techniken des site-specific farming (standortangepasste Landbewirtschaftung), hat das Interesse an der kleinräumigen, d.h. teilschlagspezifischen, N<sub>2</sub>-Fixierung der Leguminosen verstärkt. Aufgrund solcher Kenntnisse kann die Auswirkung variabler N<sub>2</sub>-Fixierung auf die Fruchtfolge besser abgeschätzt werden. Ziel ist es die N<sub>2</sub>-Fixierung durch geeignete Bewirtschaftungsmaßnahmen zu optimieren und den fixierten N über Folgefrüchte optimal zu nutzen. Mehr als hundert Jahre sind die Steuerungsmechanismen der symbiontischen Aktivität untersucht und Methoden entwickelt worden, um die Leistung der Symbiose zuverlässig zu messen. Die Übertragung dieses Wissens aus Parzellenversuchen in real bewirtschaftete Flächen gestaltet sich aber weiterhin schwierig. Diese Schwierigkeit ist teilweise verursacht durch den Mangel an einer Meßmethode zur räumlich und zeitlich hoch aufgelösten Quantifizierung der N<sub>2</sub>-Fixierung. Tatsächlich kann unter Feldbedingungen bislang selbst im Parzellenversuch nur von einer semiquantitativen Messung der N<sub>2</sub>-Fixierung geredet werden (van Kessel & Hartley 2000).

In diesem Beitrag soll der aktuelle Wissensstand zur räumlichen Differenzierung der N<sub>2</sub>-Fixierung dargestellt und durch Daten eigener, aktuell laufender Projekte ergänzt werden. Bewußt wurde dabei eine Beschränkung auf Ackerkulturen vorgenommen, da die Einbeziehung von Grünland den Rahmen sprengen würde.

<sup>21</sup> Hauke Heuwinkel, Felix Locher und Reinhold Gutser, Lehrstuhl für Pflanzenernährung, Department für Pflanzenwissenschaften, TU München, Am Hochanger 2, D-85350 Freising, E-Mail: hauke@wzw.tum.de

## 1. Reinsaaten von Leguminosen - Beispiel Körnerleguminosen

In Reinsaaten sind zur quantitativen Darstellung der  $N_2$ -Fixierung N-Ertrag ( $g N/m^2$ ) und  $\% N_{dfa}$  entscheidend. Schon lange ist Konsens, dass die in den Körnern dieser Leguminosen enthaltene N-Menge einer direkten Beziehung zu der über den Sproß errechneten  $N_2$ -Fixierung steht. Hauser (1987) und Köpke (1987) verwendeten diesen Ansatz erstmalig bei Ackerbohne. Andere haben ihn dann für ihre speziellen Zwecke z.T. mit weiteren Parametern ergänzt (z.B. Hartmann 1992). Die Aussagekraft dieses Ansatzes baut auf stabile N-Harvest-Indices auf, die gerade bei Körnerleguminosen wenig gegeben sind (Beck et al. 1991). Evans et al. (1989) wies eine Abhängigkeit von  $\% N_{dfa}$  zum über den im Verlauf der Vegetation verfügbaren  $N_{min}$  kombiniert mit dem Saatzeitpunkt nach. Durch Berücksichtigung des Korn/Stroh Verhältnisses kann folglich der Variabilität der N-Retranslokation in der Pflanze Rechnung getragen werden. Diese Vorgehensweisen sind aber nur eingeschränkt übertragbar, da sie rein empirischer Natur und somit stark von den Versuchsbedingungen bestimmt sind. Damit ist die Beschreibung der räumlichen Differenzierung der  $N_2$ -Fixierung von Körnerleguminosen auch heute noch auf den Einsatz allgemein akzeptierter Meßmethoden angewiesen. Die wenigen Autoren, die die Methodik bisher großflächig angewandt haben (Androsoff et al. 1995, Stevenson et al. 1995, Walley et al. 2001, sowie Mahler et al. 1979 mit der heute nur eingeschränkt akzeptierten Acetylen-Reduktionsmethode) stellten eine hohe Variabilität der  $N_2$ -Fixierung fest. Walley et al. (2001) legen in ihrer Untersuchung erstmalig einen Wert für die räumliche Abhängigkeit von  $\% N_{dfa}$  fest. Für Kichererbse stellten sie mit 110 Messpunkten im Abstand von 30 cm fest, dass bei mehr als 3,2 m Abstand zwischen zwei Meßpunkten keine Abhängigkeit mehr zwischen den Meßwerten vorlag. Außerdem postulierten sie eine hohe, nicht vom Raum verursachte Variation, die 70% der Gesamtvariation bestimmte. Dies bestätigt Beobachtungen von Androsoff et al. (1995), die aus ihren Messungen auf eine Variation der  $N_2$ -Fixierung auf der Mikroscala schlossen und diese bedeutender als die großräumige Variation einschätzten. Auch eigene ähnliche Untersuchungen auf dem Versuchsgut des Forschungsverbundes Agrarökosysteme München (FAM) in Scheyern, unterstrichen die große Variation von  $N_{dfa}$  auf kurzer Distanz. Innerhalb von 80 m blieb der N-Ertrag im Sproß von Weißer Lupine gleich, während sich die Menge des gebundenen  $N_2$  um  $60 kg N/ha$  infolge sehr unterschiedlicher  $\% N_{dfa}$  veränderte (Tab. 1). Dieser Unterschied hat große Auswirkung auf die N-Bilanz.

Eine Kausalanalyse zur Erklärung der Beobachtungen fehlt bisher in allen vorgestellten Arbeiten. Welcher Anteil der Variabilität tatsächlich zufällig ist, welcher ein Produkt der Wechselwirkungen der Organismen der Symbiose ist und welcher ursächlich mit Unterschieden im Standort zu erklären ist, ist deshalb weiterhin offen. Grundlegende Untersuchungen hierzu müssen als ein entscheidendes Ergebnis die Mindestgröße von Beprobungsflächen zur Erarbeitung systematischer Effekte definieren.

Tabelle 1: N-Ertrag, symbiotische Bindeleistung und N-Bilanz von Weißer Lupine an zwei Messpunkten. (FAM, Scheyern, Schlag A12, 1994 nach Heuwinkel, & Gutser, unveröffentlicht).

Bodenart	N-Ertrag	N <sub>2</sub> -Fixierung	N-Bilanz	N <sub>dfa</sub>
			(Korn-N – N <sub>dfa</sub> )	
		[kg N/ha]		[%]
Ls <sup>1</sup>	189 / 42 <sup>#</sup>	176	+17	93
Lu <sup>2</sup>	173 / 49 <sup>##</sup>	113	-36	65

<sup>15</sup>N-Isotopenverdünnungsmethode, Markierung mit <sup>15</sup>NH<sub>4</sub><sup>15</sup>NO<sub>3</sub> (0,5 g N/m<sup>2</sup>)

Referenzpflanze Öllein, Mittelwert/Standardabweichung (n=6<sup>#</sup> bzw. n=5<sup>##</sup>)

<sup>1</sup> Rasterpunkt 335240

<sup>2</sup> Rasterpunkt 340220

## 2. Gemengekulturen – Beispiel Klee-Luzerne-Gras

Unter Gemengen wird hier die Mischung von Leguminosen mit Nicht-Leguminosen verstanden. Der Gemengepartner garantiert dann unter sonst eher N-limitierten Bedingungen einen direkten Zusammenhang zwischen Leguminosen N-Ertrag und N<sub>2</sub>-Fixierung, da % N<sub>dfa</sub> beständig größer als 90 ist (Weißbach 1995, Locher et al. 2001). In solchen Versuchen genügt die Bestimmung des Anteiles der Leguminosen am Gesamtertrag, um Aussagen über Unterschiede in der Bindeleistung festzuhalten (Weißbach 1995 und Zitate darin). Sowohl visuelle Schätzungen des Leguminosenanteiles, als auch das Gleichsetzen hoher Gesamterträge mit hohen Leguminosenerträge können zu beachtlichen Fehleinschätzungen führen. Einerseits erfordert die Schätzung ein 'geübtes Auge', um reproduzierbar zu sein, andererseits können geringe Erträge ebenso durch hohe Leguminosenanteile, wie hohe Erträge durch geringe Leguminosenanteile geprägt sein. Deshalb sind Darstellungen, die auf solche Parameter aufbauen nur begrenzt interpretierbar. Um zu objektivieren hat unsere Arbeitsgruppe die Ermittlung dieser Größe mit Nah-Infrarot-Reflektions-Spektroskopie (NIRS) weiter entwickelt (Locher et al. 2001).

Erstmalig wurde damit für Kleegrasschläge zu jeder Nutzung räumlich hoch aufgeschlossen die Differenzierung von Ertrag, Leguminosenanteil und N<sub>2</sub>-Fixierung dargestellt. Die Messungen, ebenfalls am FAM-Versuchsgut in Scheyern durchgeführt, belegten über die Nutzungstermine hinweg eine räumliche Stabilität der Ertragsmuster und des Leguminosenanteils (Abb. 1). An drei standörtlich deutlich differenzierten Messpunkten im selben Schlag bestätigte sich, dass durchwegs über 90% von dem in Leguminosen enthaltenen N aus der Symbiose stammte, sieht man von der letzten Nutzung, ab, wo an einem Messpunkt infolge Wassermangels nur 77% N<sub>dfa</sub> erreicht wurde (Locher et al. 2001). Anders als im Beispiel der Körnerleguminose (Tab. 1) führte unterschiedliche Verfügbarkeit von Boden-N nicht zu einer veränderten % N<sub>dfa</sub>. So wirkte sich im nördlichen Drittel des Ackers ein durch frühere Grünlandnutzung (vor 1993) bedingtes höheres N-Potential des Bodens, das bis

heute an erhöhten  $C_{org}$  und  $N_f$ -Gehalten sowie höheren Erträgen von ungedüngtem Getreide erkennbar ist, nicht auf einen Rückgang dieses Parameters aus.

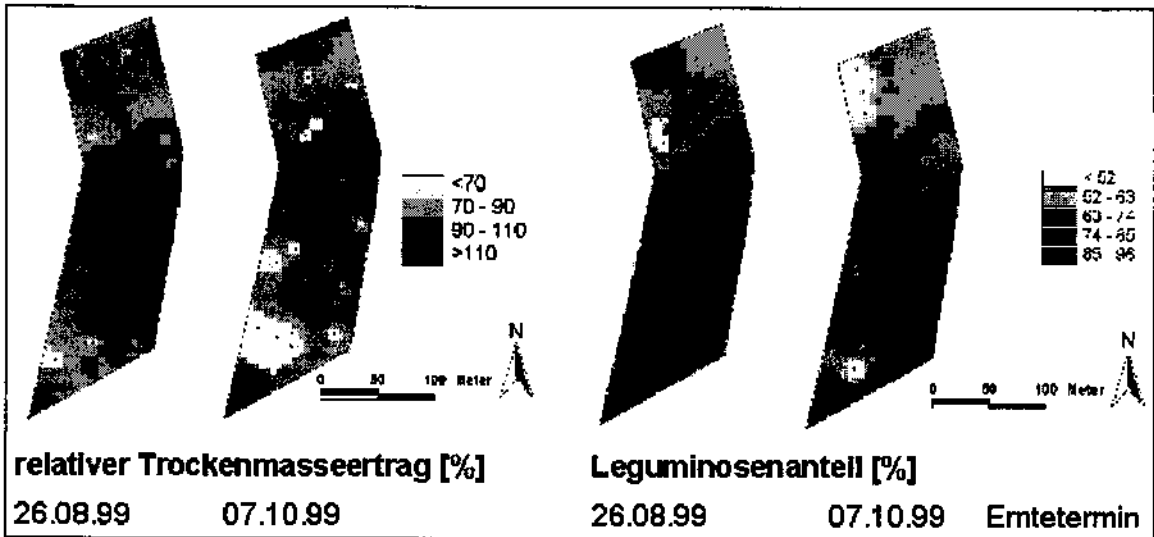


Abbildung 1: Variabilität der Erträge und Leguminosenanteile von Klee-Luzerne-Gras (FAM, Scheyern, Schlag A09, 1999). Interpolierte Daten auf Basis von 88 Messpunkten in der Fläche von 2,35 ha (nach Locher et al. 2001).

Allerdings ruft auch in Klee gras eine erhöhte N-Verfügbarkeit geringere Werte bei %  $N_{dfa}$  hervor, wie der Vergleich von Mulch bzw. Schnittnutzung bei Klee gras unter ansonsten gleichen Bedingungen zeigt (Tab. 2). Der über die Nutzungen hinweg immer stärkere Rückgang von %  $N_{dfa}$  unter Mulch- gegenüber Schnittnutzung, wies deutlich auf eine Zunahme des  $N_{min}$ -Angebotes in gemulchten Flächen hin. Die Abnahme des Leguminosenanteils am Ertrag dürfte dagegen zusätzlich auch eine Wirkung der Bedeckung der Pflanzen nach dem Mulchen gewesen sein. Dies trat auf, obwohl der Versuch unter den N-limitierten Bedingungen des Ökologischen Landbaus erfolgte. Infolgedessen war die Bindeleistung des Bestandes innerhalb einer Vegetation im Vergleich zur Schnittnutzung um 1/3 niedriger.

Tabelle 2: Veränderung des Leguminosenanteils, von % N<sub>dfa</sub> und N<sub>2</sub>-Fixierung von Klee gras infolge unterschiedlicher Nutzungsweisen. (Parzellenversuch LBP, Viehhausen, 2000, nach Heuwinkel 2001)

Termin	Variante	Leguminosenanteil [% der TM]	Anteil fixierter N [% am Leguminosen-N]	N <sub>2</sub> -Fixierung [g N/m <sup>2</sup> ]
08.05.00	Schnitt	58	95	7,9
	Mulch	50	95	6,8
27.06.00	Schnitt	68	97	10,6
	Mulch	58	91	6,7
14.08.00	Schnitt	78	92	11,5
	Mulch	61	86	7,2
09.10.00	Schnitt	64	>90*	4,3
	Mulch	64	61	2,8
<b>Gesamt</b>	<b>Schnitt</b>	<b>68</b>	<b>94</b>	<b>34,4</b>
	<b>Mulch</b>	<b>57</b>	<b>85</b>	<b>23,6</b>

Mittelwerte (n=3) \* aus anderen Versuchen abgeleitet, da Analyse noch aussteht

Auch ohne Nutzungseinfluss kann die Differenzierung der N<sub>2</sub>-Fixierung innerhalb eines Schlages sehr hoch ausfallen (Abb. 2). Zur dritten von vier Ernten lagen die Werte zwischen 30 und 110 kg N/ha. Selbst auf kurze Distanz wurden Unterschiede von mehr als 40 kg N/ha gefunden (s. Hervorhebung in Abb. 2). Da die Parameter Ertrag und Leguminosenanteil eine Konstanz der Variabilität zeigten, entsteht diese auch aus der daraus abgeleiteten Größe der N<sub>2</sub>-Fixierung, deren dargestellte Verteilung auch für die hier nicht gezeigten Ernten zutrif.

Ob sich stabile Verteilungsmuster dieser Art, die in diesem Beispiel mit Wasser und N-Verfügbarkeit zu erklären waren, erkennbar auch in den Folgefrüchten auswirken, ist schwer zu beurteilen. Das erfordert die Trennung von Einflüssen des Standortes an sich und den Verteilungsmustern der Parametern der Leguminose als Vorfrucht. Diese Muster sind aber wiederum nicht losgelöst von Standorteigenschaften zu sehen.

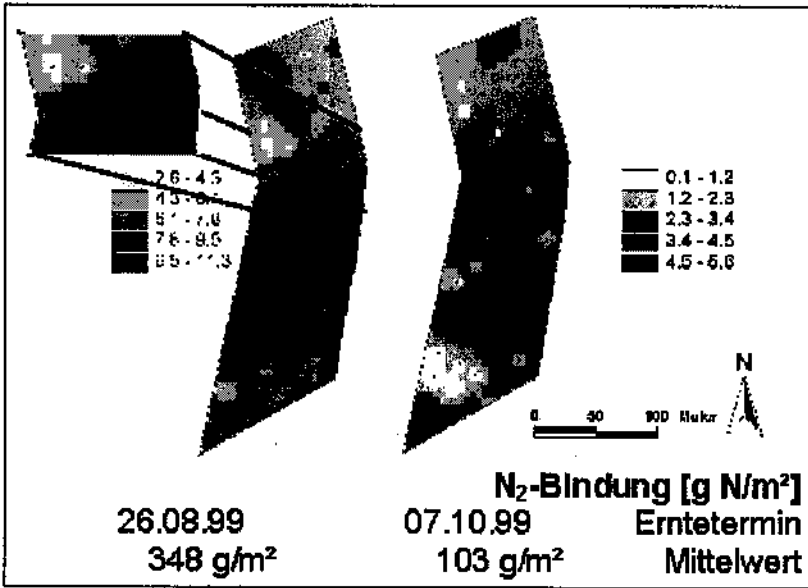


Abbildung 2: Variabilität der N<sub>2</sub>-Fixierung von Klee-Luzerne-Gras (FAM, Scheyern, Schlag A09, 1999). Interpolierte Daten auf Basis von 88 Messpunkten auf einer Fläche von 2,35 ha (nach Locher et al. 2001).

### Schlußfolgerung

Die Differenzierung der Leistung der Leguminosen-Rhizobium-Symbiose innerhalb einer Fläche ist deutlich ausgeprägt. Die Unterschiede können so groß sein, daß sie N-Bilanzen deutlich beeinflussen. Erklärungsansätze für diese Variation waren in den eigenen Untersuchungen in der N-Freisetzung im Boden, d.h. einer Interaktion mit Bodenorganismen, und im Wasserangebot zu finden. Für die zitierten Arbeiten kann eine zusätzliche Interaktion mit bodenchemischen Kenngrößen (pH und Nährstoffversorgung) nicht ausgeschlossen werden. Der N-Versorgung wird vermutlich aber auch in diesen Versuchen eine größere Bedeutung zugekommen. Die räumliche Abhängigkeit der N<sub>2</sub>-Fixierung beträgt wahrscheinlich einige Meter oder wenige Dezimeter. Zu ihrer Abschätzung bedarf es weiterer Untersuchungen, um den hohen Anteil zufälliger, d.h. nicht standortgebundener Variabilität von gerichteter Variabilität zu trennen. Dabei ist zu beachten, dass die Variabilität der N<sub>2</sub>-Fixierung immer durch zwei Messgrößen beschrieben wird: % N<sub>dfa</sub> wie z.B. bei Walley et al. (2001) oder g N<sub>dfa</sub>/m<sup>2</sup> wie in der Mehrzahl der hier vorgestellten Arbeiten. Beide Größen werden teilweise von denselben, teilweise aber auch von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst. Die Betrachtung nur einer von beiden Größen kann deshalb zu Fehleinschätzungen führen.

Dagegen ist die Bedeutung der Variabilität der N<sub>2</sub>-Fixierung für die Fruchtfolgewardung primär an den Mengen gebundenen N<sub>2</sub>-N festzumachen. Hier

wurden Arbeiten vorgestellt, die nur Differenzen im Sprosswachstum darstellten. Ob diese in ähnlicher quantitativer Abstufung auch im Bereich Wurzel/Stoppel und Rhizodeposition vorlagen, wie meistens vorausgesetzt (Unkovich & Pate 2000), wird bezweifelt. So zeigten Steingrobe et al. (2001), dass Weizen auf stark sandigen Böden einen deutlich höheren Anteil seiner C-Assimilationsleistung an den Boden abgibt als auf lehmigen Böden. Bezüglich der in der Rhizodeposition von Leguminosen enthaltenen N-Menge weisen u.a. die Arbeiten von Høgh-Jensen & Schjoerring (2001) und Russel & Fillery (1996) auf ein hohes Potential hin. Daraus sollten sich sowohl kurzfristig (Vegetationsdauer), als auch langfristig (Fruchtfolge) Wirkungen auf den N-Umsatz und der N-Verfügbarkeit in Böden ableiten.

### Danksagung

Die Autoren möchten allen an den Arbeiten Beteiligten danken. Die Arbeiten aus dem FAM werden durch das Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF 0339370) unterstützt. Die Pacht- und Betriebskosten des FAM-Versuchsgutes Kloostergut Scheyern trägt das Bayerische Staatsministerium für Unterricht und Kultus, Wissenschaft und Kunst.

### Literatur

- Androsoff, G.L., C. Van Kessel und D.J. Pennock (1995). Landscape-scale estimates of dinitrogen fixation by *Pisum sativum* by nitrogen-15 natural abundance and enriched isotope dilution. *Biology and Fertility of Soils* 20, 33-40.
- Beck, D.P., J. Wery, M.C. Saxena und A. Ayadi (1991). Dinitrogen fixation and nitrogen balance in cool-season food legumes. *Agronomy Journal*, 83 334-341.
- Evans, J., G.E. O'Connor, G.L. Turner, D.R. Coventry, N. Fettell, J. Mahoney, E.L. Armstrong und D.N. Walsgott (1989). N<sub>2</sub> fixation and its value to soil N increase in lupin, field pea and other legumes in South-Eastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research* 40, 791-805.
- Hartmann, C. (1992). Die Ertragsbildung und Stickstofffixierung der Weißen Süßlupine (*Lupinus albus* L.) in Abhängigkeit von Genotyp, Standort und Anbaumaßnahmen. Dissertation Universität Bayreuth, 182 S.
- Hauser, S. (1987). Schätzung der symbiontisch fixierten Stickstoffmenge von Ackerbohnen (*Vicia faba* L.) mit erweiterten Differenzmethoden. Dissertation, Universität Göttingen. 175p.
- Hellriegel, H. und H. Wilfarth (1888). Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. Beilageheft Zeitschrift der Vereinigung der Rübenzucker-Industrie des Deutschen Reichs, 234 p.
- Heuwinkel, H. (2001). N<sub>2</sub>-Bindung in gemulchtem Klee gras: Messmethodik und Fixierleistung. In: H.J. Reents (Hrsg.) Beiträge zur 6. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbaus, Freising-Weißenstephan, 183-186.

- Høgh-Jensen, H. und J.K. Schjoerring (2001). Rhizodeposition of nitrogen by red clover, white clover and ryegrass leys. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 439-448.
- Köpke, U. (1987). Symbiotische Stickstoff-Fixierung und Vorfruchtwirkung von Ackerbohnen (*Vicia faba* L.). Habilitationsschrift, Universität Göttingen.
- LaRue, T.A. und T.G. Patterson (1981). How much nitrogen do legumes fix? *Advances in Agronomy* 34, 15-38.
- Locher, F., H. Heuwinkel, R. Gutser und U. Schmidhalter (2001). Field scale variability of N<sub>2</sub>-fixation in legume and grass mixtures. In: W.J. Horst et al. (Eds.): *Food security and sustainability of agro-ecosystems*, 732-733.
- Mahler, R.L., D.F. Bezdicek und R.E. Witters (1979). Influence of slope position on nitrogen fixation and yield of dry peas. *Agronomy Journal*, 71, 348-351.
- Russell, C.A. und I.R.P. Fillery (1996). Estimates of lupin below-ground biomass nitrogen, dry matter and nitrogen turnover to wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 47, 1047-1059.
- Steingrobe, B., H. Schmid, R. Gutser und N. Classen (2001). Root production and root mortality of winter wheat grown on sandy and loamy soils in different farming systems. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 331-339.
- Stevenson, F.C., J.D. Knight und C. Van Kessel (1995). Dinitrogen fixation in pea - controls at the landscape-scale and microscale. *Soil Science Society of America Journal*, 59 (6), 1601-1611.
- Unkovich, M.J., J.S. Pate (2000). An appraisal of recent field measurements of symbiotic N<sub>2</sub> fixation by annual legumes. *Field Crops Research*, 65, 211-228.
- Van Kessel, C. und C. Hartley (2000). Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crops Research*, 65, 165-181.
- Walley, F., G. Fu, J.W. van Groenigen und C. van Kessel (2001). Nitrogen fixation and precision agriculture: constraints to predicting variability. In G. Grenier und S. Blackmore (Eds.): *Proceedings of the 3rd European Conference on Precision Agriculture*, Montpellier, France, 965-970.
- Weißbach, F. (1995). Über die Schätzung des Beitrags der symbiontischen N<sub>2</sub>-Fixierung durch Weißklee zur Stickstoffbilanz von Grünlandflächen. *Landbauforschung Völkenrode* 45(2), 67-74.