Bibliographische Angaben am Ende des Dokumentes
Das Dokument ist im Internet unter http://orgprints.org/00002147/ zu erreichen

Methodische Aspekte zur Bestimmung der symbiontischen N_2-Fixierungsleistung von Leguminosen

von

Ralf Loges, Kathrin Ingwersen und Friedhelm Taube

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
- Grünland und Futterbau - Ökologischer Landbau -
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Einleitung

Vor dem Hintergrund der langfristigen Verknappung fossiler Energieträger als Rohstoff für die energieaufwendige Produktion von mineralischem Stickstoffdünger hat das Interesse an der Nutzung der biologischen Stickstoffixierung der Leguminosen als Stickstoffquelle für die Landwirtschaft zugenommen. Bei gegebenen Standortverhältnissen wird die Stickstofffixierungsleistung von Leguminosengrasbeständen vor allen Dingen durch die Wahl der Leguminosenart sowie durch Bewirtschaftungsmaßnahmen wie N-Düngung, Nutzungsform und Saatmischungszusammensetzung bestimmt (HEICHEL und HENJUM, 1991; WACHENDORF et al., 1994; LOGES, 1998). Die N_2-Fixierungsleistung von Leguminosenbeständen ist eine wichtige Kenngröße in der Betriebs-N-Bilanz bzw. der Fruchtfolgeplanung landwirtschaftlicher Betriebe.
Die N-Fixierungsleistungen von Leguminosenbeständen lassen sich alternativ mit verschieden aufwendigen Methoden bestimmen. In Feldversuchen werden dazu meist folgende Techniken angewandt:

- Differenzmethode (HARDY und HOLSTEN, 1975)
- Natural-^{15}N-abundance- Methode (PEOPLES et al. 1991)
- ^{15}N-Anreicherungstechnik (HEICHEL und HENJUM, 1991).

Die Berechnung der N-Fixierungsleistung beruht in den meisten Fällen allein auf Basis der N-Mengen im TM-Ertrag. Der Stickstoff im nicht erntbaren Pflanzenmaterial bzw. die leicht pflanzenverfügbaren Boden-N-Fraktionen werden häufig, aufgrund des großen Aufwandes ihrer Bestimmung, nicht mit in die Berechnung der N-Fixierung einbezogen. Gerade bei ein- bzw. überjährigen Kleegrasbeständen findet parallel zur N-Ertragsbildung auch eine erhebliche Akkumulation von fixiertem Stickstoff im nicht erntbaren Pflanzenmaterial statt (LOGES, 1998), welche bei der Flächenbilanzierung auf Basis der oben genannten ertragsbasierten Methoden unberücksichtigt bleibt.
Ziel dieser Studie ist es zu klären, in wie weit die Quantifizierung der N-Fixierung von Leguminosengrasbestände abhängig ist von:

- der Bestimmungsmethode
- der Berücksichtigung der N-Mengen im nicht erntbaren Pflanzenmaterial bzw. im Boden
- bzw. Ertrags- bzw. Ernterückstands-N-Mengen beeinflussende Bewirtschaftungsfaktoren

Material und Methoden

Basis der Untersuchung ist ein mehrjähriger Feldversuch der auf dem Versuchsbetrieb Hohenschulen der Universität Kiel [Bodenart/-typ: sL / lessivierte Braunerde aus weichselglazialem Geschiebemergel / 50-55 BP; ∅-Jahresniederschlag: 716 mm; ∅-

Jahrestemperatur: 7,8 °C] in den Jahren 1997-99 im Rahmen des SFB 192 ohne zusätzliche N-Düngung mit folgenden Faktoren in vierfacher Wiederholung durchgeführt wurde:

1. Leguminosenart:	Rotklee (RK)	(Sorte: Maro)
	Weißklee (WK)	(Sorte: Milkanova)
	Luzerne (LZ)	(Sorte: Planet)
2. Saatmischungs-verhältnis:	Leguminosenreinsaat	
	Leguminosen/Gras-Gemenge (jeweils mit Dt. Weidelgras, Sorte: Mandat)	
3. Nutzungsform:	1-jähriger Ackerfutterbau	(4-Schnittnutzung)
	1-jährige Gründüngung (Grünbrache)	(2x Mulchen)

Zu den Schnittzeitpunkten wurden jeweils der TM-Ertrag und zum letzten Schnitt im Oktober zusätzlich die Menge der Ernterückstände (Wurzeln und Stoppeln) sowie die leicht pflanzenverfügbaren Boden-N-Fraktionen ($CaCl_2$-extrahierbares N_{min}-N und N_{org}-N) erhoben. Am Pflanzenmaterial, welches parallel in mit ^{15}N-angereicherten bzw. nicht mit ^{15}N-angereicherten Unterparzellen gewonnen wurde, wurden N-Gehalte sowie die ^{15}N-Anreicherungsgrade bestimmt. Als Referenzfrucht für die Bestimmung der N-Fixierungsleistungen diente jeweils ein gleich bewirtschafteter, ebenfalls ungedüngter Dt. Weidelgrasreinbestand.Die Berechnung der Jahres-N_2-Fixierungsleistung erfolgte zum einen ertragsbasiert alternativ mit:

1. der einfachen Differenzmethode:

$$(\text{Fixierte N-Menge}_{(einf)} = \text{N-Menge}_{\text{Leguminosen/Gras(erntbar)}} - \text{N-Mengen}_{\text{ Referenzpflanze(erntbar)}})$$

2. der einfachen ^{15}N-Anreicherungstechnik
3. der einfachen natural-^{15}N-abundance-Methode.

Die Berechnungen mittels der ^{15}N-Techniken erfolgte nach LEDGARD et al., 1985).

In Ergänzung dazu wurden mit gleichen Techniken erweiterte Berechnungen beruhend auf den Stickstoffmengen in der Gesamtpflanze (Sproß, Stoppel und Wurzel) unter Berücksichtigung der im $CaCl_2$-Extrakt bestimmbaren mineralischen und organisch gebundenen Boden-N-Mengen:

4. erweiterte Differenzmethode:

$$(\text{Fixierte N-Menge}_{(einf)} = \text{N-Menge}_{\text{Leguminosen/Gras(Ganzpflanze)}} - \text{N-Menge}_{\text{Referenz(-Ganzpflanze)}} + (\text{Boden-N-Menge}_{\text{Leguminosen/Gras}} - \text{Boden-N-Menge}_{\text{Referenz}});$$

5. erweiterte Natural-^{15}N-Abundance-Methode
6. erweiterte ^{15}N-Anreicherungstechnik

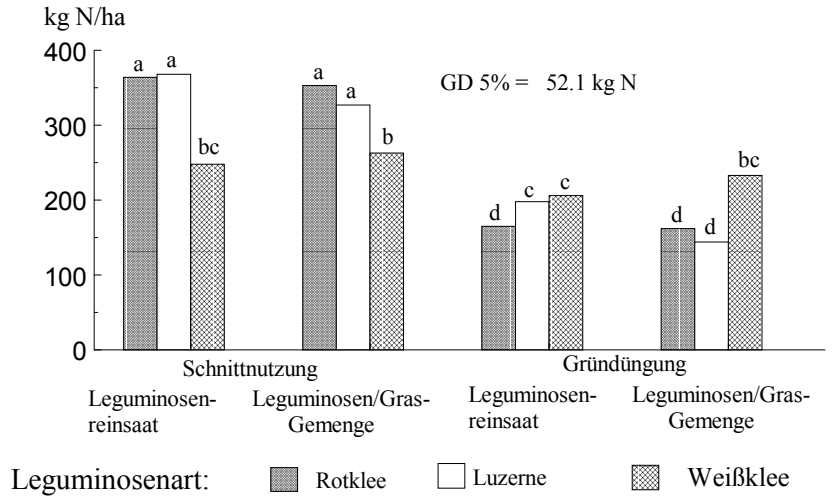
Die Berechnungen mittels der ^{15}N-Techniken erfolgte in Anlehnung an LEDGARD et al., 1985 bezogen im vergleich zum oben erwähnten einfachen Methodenansatz auf die Gesamtpflanze d.h. sowohl erntbare als auch nicht erntbare Pflanzenteile unter Berücksichtigung der im $CaCl_2$-Extrakt bestimmbaren mineralischen und organisch gebundenen Boden-N-Mengen:

$$\text{Fixierte N-Menge}_{(15N\text{-}erw)} = \text{Fixierte N-Menge}_{(15N\text{-Ganzpflanze})} + (\text{Boden-N-Menge}_{\text{Leguminosen/Gras}} - \text{Boden-N-Menge}_{\text{Referenz}});$$

Ergebnisse

In Abb. 1 ist der Einfluß von Leguminosenart, Saatmischung und Nutzungsform auf die Höhe der N-Fixierungsleistung von Leguminosengrasbeständen am Versuchstandort Hohenschulen im Jahr 1997, ermittelt mit der erweiterten Differenzmethode, dargestellt. Betrachtet man zunächst den Einfluß der Nutzungsform, so stellt man fest, das bei Schnittnutzung im Vergleich zum zweimaligen Mulchen der Gründüngungsbestände höhere N_2-Fixierungsleistungen erreicht werden. Leguminosengrasgemenge erzielen im Mittel der

Leguminosenarten ähnliche N_2-Fixierungen wie Leguminosenreinsaaten. Während unter Schnittnutzung Bestände mit Weißklee geringere N_2-Mengen fixieren als solche mit Rotklee oder Luzerne, zeigt sich Weißklee im Mittel seiner Saatmischungen bei Gründüngungsnutzung gegenüber Rotklee und Luzerne hinsichtlich der N_2-Fixierung überlegen.



(Werte mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant. Student-Newman-Keuls-Test, a = 0,05)

Abb. 1: Mit der erweiterten Differenzmethode ermittelte N_2- Fixierungsleistungen verschiedener Leguminosen/Gras-Bestände (Versuchsstandort Hohenschulen 1997)

Die Abbildungen 2. und 3. zeigen auf der Basis gleichen Pflanzenmaterials einen Methodenvergleich in Bezug auf N_2-Fixierungsleistungen zwischen einfacher Differenzmethode und ^{15}N-basierten Techniken.

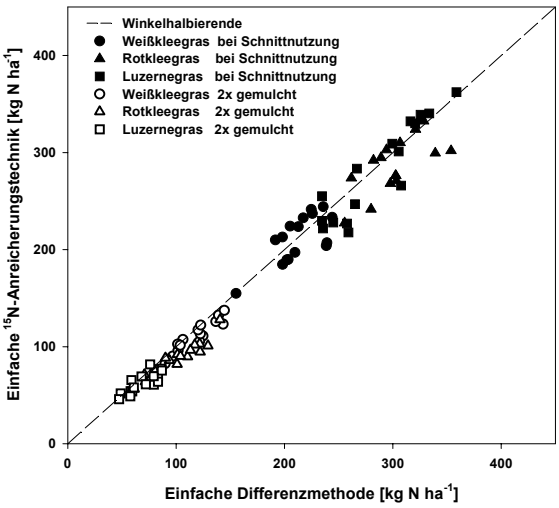


Abb. 2: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung:
Einfache Differenzmethode vs.
Einfache ^{15}N-Anreicherungstechnik

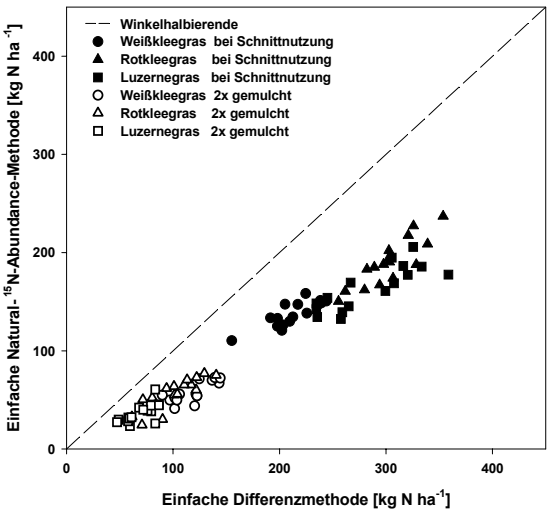


Abb. 3: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung:
Einfache Differenzmethode vs
Einf. Natural-^{15}N-abundance-Methode

Während mit der einfachen ^{15}N-Anreicherungstechnik, abgesehen von einer leichten Streuung, praktisch eine Übereinstimmung zu den mit der einfachen Differenzmethode erzielten Ergebnissen gefunden wurde (Abb.2), wichen die Ergebnisse der einfachen Natural-^{15}N-abundance-Methode deutlich von denen der einfachen Differenzmethode ab

(Abb.3). Unabhängig von Leguminosenart und Nutzungsform lagen die mit der einfachen Natural-^{15}N-abundance-Methode ermittelten N_2-Fixierungsleistungen nur bei ca. 55% der Messwerte der einfachen Differenzmethode.

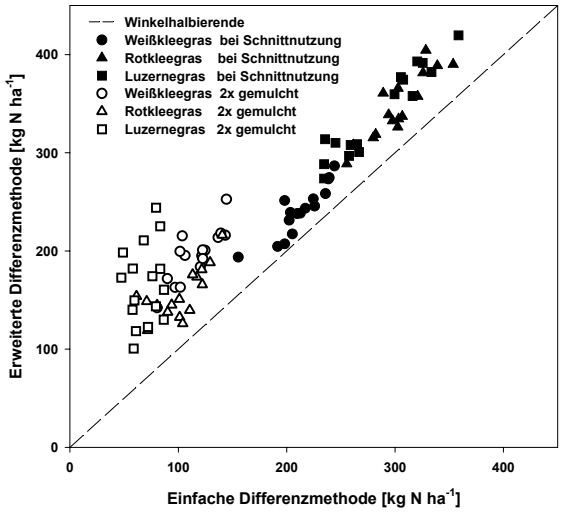


Abb. 4: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung:
Einfache Differenzmethode vs.
Erweiterte Differenzmethode

In Abb. 4 sind die Fixierungsleistungen nach einfacher Differenzmethode denen gegenübergestellt, die mit der erweiterten Differenzmethode unter Berücksichtigung von N_{min}-N und N_{org}-N sowie der N-Mengen in den nichterntbaren Pflanzenteilen ermittelt wurden. Hierbei führt die einfache Differenzmethode im Vergleich zur erweiterten zu einer Unterschätzung der Fixierungsleistungen von 60 kg N /ha. Dieser Unterschied ist im wesentlichen auf die größeren N-Mengen in den Stoppeln und Wurzeln bzw. die leicht höheren Bodengehalte an N_{min}-N und N_{org}-N der Leguminosengrasbestände im Vergleich zur jeweils gleich bewirtschafteten Referenzfrucht Dt. Weidelgras zurückzuführen.

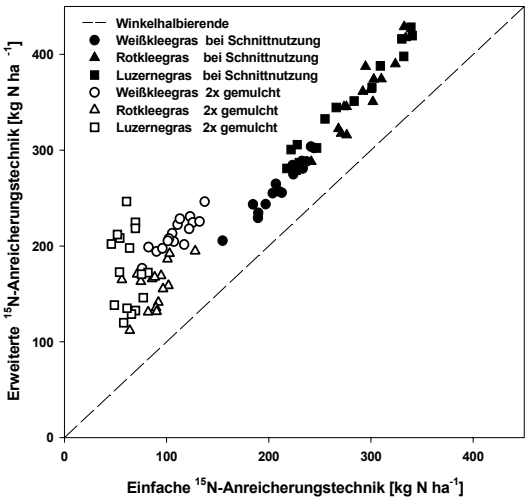


Abb. 5: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung:
Einfache ^{15}N-Anreicherungstechnik vs.
Erweiterte ^{15}N-Anreicherungstechnik

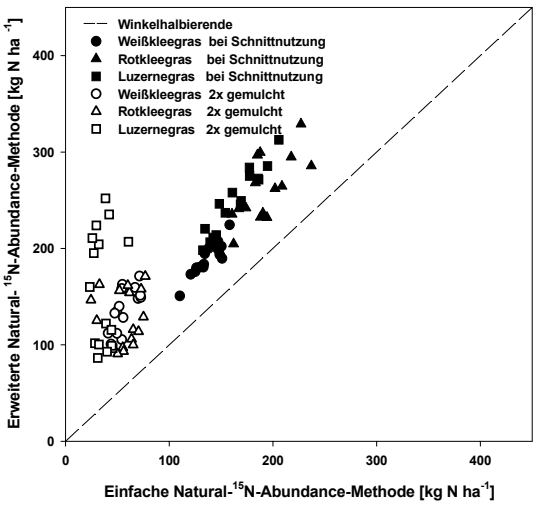


Abb. 6: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung:
Einf. Nat.-^{15}N-abundance-Methode vs.
Erw. Nat.-^{15}N-abundance-Methode

Die Gegenüberstellung der mit den erweiterten Formen der ^{15}N-basierten Meßmethoden ermittelten Ergebnissen mit den Resultaten ihrer nur auf erntbarem N basierten einfachen Berechnung (Abb. 5 bzw. 6) zeigt ein dem Vergleich der Differenzmethoden ähnliches Bild. Die einfache ^{15}N-Anreicherungstechnik führt im Mittel verglichen zu ihrer erweiterten Form zu 78 kg N/ha niedrigeren N-Fixierungsleistungen. Die Ergebnisse der einfachen Natural-^{15}N-abundance-Methode liegen im Vergleich zu ihrer erweiterten Form

um 70 kg N/ha niedriger. Aufgrund der schwierig repräsentativ zu ermittelnden Wurzel- und Stoppel-N-Mengen sowie N_{min}-N bzw. N_{org}-N-Gehalte ist weiterhin festzustellen, dass die Einbeziehung dieser Fraktionen die Streuung der Messwerte erheblich erhöht.

Diskussion, Methodenbewertung und Schlussfolgerungen

Die Höhe der symbiontischen N_2-Fixierungsleistung läßt sich durch verschiedene Kombinationen der Faktoren Leguminosenart und Nutzungsform in weiten Bereichen variieren. Die Wahl der Messtechnik hat deutlichen Einfluss auf die Höhe der ermittelten N_2- Fixierung. Dieser Fakt muss beim Vergleich von unterschiedlichen Studien berücksichtigt werden. Eine Nichtberücksichtigung der N-Akkumulation im nicht erntbaren Pflanzenmaterial bzw. im Boden, führt bei der Bestimmung der N_2-Fixierung im Falle überjähriger Leguminosengrasgemenge zu einer deutlichen Unterschätzung ihrer Fixierungsleistung.

In zahlreichen Literaturübersichten werden Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden erörtert (HARDY und HOLSTEN, 1977; HØGH-JENSEN, 1997; NEUENDORFF, 1996; LOGES, 1998). Hieraus geht hervor, dass die Differenzmethode mit Abstand die kostengünstigste, ohne größeren apparativen Aufwand an praktisch jedem Versuchsstandort durchführbare Methode ist, während sowohl die ^{15}N-Anreicherungstechnik als auch die natural-^{15}N-abundance-Methode den kostenintensiven Einsatz eines Massenspektrometers voraussetzen. Als Nachteile der ^{15}N-Anreicherungstechnik kommen zum einen die hohen Zusatzkosten für die Markierung des Bodens mit hoch an ^{15}N angereicherten Stickstoffverbindungen hinzu. Zum anderen besteht bei der Markierung das Problem einer möglichst gleichmäßigen Anreicherung aller als kurz- bis mittelfristig pflanzenverfügbar anzusprechenden N-Fraktionen des Wurzelraumes (CHALK, 1985).

Als bedeutender Nachteil der natural-^{15}N-abundance-Methode muss gewertet werden, dass sie nicht an jedem Standort durchführbar ist, da der erforderliche erforderliche δ^{15}N-Wert des pflanzenverfügbaren Bodenstickstoffs von mindestens 6 δ^{15}N ‰ nach Untersuchungen von PEOPLES et al. (1991) nicht an jedem Standort gegeben ist. Problematisch kann auch der Einsatz dieser Methode auf Standorten mit kleinräumig variierenden Bodentypen sein, da hier der oftmals geringe Unterschied zwischen dem durchschnittlichen ^{15}N-Gehalt des pflanzenverfügbaren Bodenstickstoffs und des Luftstickstoffs durch die Variationen der ^{15}N-Gehalte im Boden-N überlagert sein kann. Diese kleinräumigen Variationen können zur Folge haben, dass Unterschiede zwischen geprüften Varianten infolge großer Streuung nur schwer statistisch abgesichert werden können. Diesem Nachteil kann durch geringe räumliche Distanz zwischen Leguminosen- und Referenzpflanzenbestand begegnet werden (PEOPLES et al., 1991). Eine solche Maßnahme bedeutet jedoch erhöhten Aufwand bzw. kann nicht in allen Versuchsanlagen sichergestellt werden. Als Beispiele für solche Versuchsanstellungen können Beweidungs- oder Fruchtfolgeversuche mit Großparzellen unter an der landwirtschaftlichen Praxis ausgerichteter Bewirtschaftung genannt werden. Sowohl die kleinräumig variierenden Bodentypen als auch die nur sehr geringe natürlich Anreicherung des Bodens mit ^{15}N lassen den Einsatz der natural-^{15}N-abundance-Methode für das östliche Hügelland Schleswig-Holsteins ungeeignet erscheinen. Die deutliche negative Abweichung der mit der natural-^{15}N-abundance-Methode ermittelten N_2-Fixierungsleistungen ist darauf zurückzuführen, dass sehr häufig in der Referenzfrucht Gras überproportional niedrige ^{15}N-Gehalte gemessen wurden, die zum Beispiel deutlich unter denen des zu großen Teilen auch N aus dem N-Transfer der Leguminose aufnehmenden Begleitgrases gelegen haben, dieses ist ein Verstoß gegenüber der Methodenvoraussetzung der Natural-^{15}N-abundance-Methode und macht sie somit ungeeignet für den betrachteten Versuchsstandort. Allen Methoden gemeinsam ist das

Problem der Wahl der Referenzpflanzenart. Alle hier angesprochenen Methoden beruhen auf der Annahme, da**ss** Referenzpflanze und Leguminose ein vergleichbares Muster bezüglich der N-Aufnahme zeigen und da**ss** unabhängig von der Pflanzenart gleiche N-Mineralisations- und Immobilisationsbedingungen im Boden vorliegen.
Da derzeit keine Methoden vorliegen, mit denen unter Feldbedingungen N_2-Fixierungsleistungen über längere Zeiträume direkt bestimmt werden können, müssen die hier besprochenen, auf zahlreichen Annahmen beruhenden Methoden als Schätzverfahren bezeichnet werden. Jede der beschriebenen Methoden ist allerdings für die praktische Bestimmung der N_2-Fixierung im Rahmen der Erstellung von N-Bilanzen für praktisch wirtschaftende landwirtschaftliche Betriebe als deutlich zu aufwendig zu bewerten. Ziel dieses Projektes ist es Zusammenhänge zwischen leicht erhebbaren Parameter wie dem Legumninosenanteil sowie dem Leguminosenertrag und der N_2-Fixierung zu finden auf deren Basis dann eine Abschätzung der N_2-Fixierungsleistung erfolgen kann. Ein Beispiel hierfür geben die in Tab: 1 dargestellten Regressionen wonach sich für Rotklee/Gras-Bestände des gleichen Versuchsstandortes der Jahre 1994 und 1995 sehr enge Beziehungen zwischen N_2-Fixierung und den genannten Parametern ergeben.

Tab.1: Regressionsfunktionen für die N_2-Fixierung ermittelt mit der erweiterten Differenzmethode [kg N · ha^{-1}] in Abhängigkeit vom Kleeanteil am Jahres-TM-Ertrag [% d. TM] bzw. des Klee-Ertrages [dt TM · ha^{-1}] futterbaulich genutzter Rotkleegras-Bestände im 1. Hauptnutzungsjahr (1994 u. 1995) (s: Standardfehler, r^2: Bestimmtheitsmaß, n = 40, Geltungsbereich der Regressionsfunktionen: x_1: 27 - 100 % Klee d. TM, x_2: 37 - 134 dt TM · ha^{-1})

Abhängige Variable	Regressionsfunktion	Unabhängige Variable	s	r^2
N_2-Fixierung	$y = 155{,}6141 + 2{,}21986x_1$	Kleeanteil (x_1))	46,6	0,58***
erw. Diff.meth.(y_2)	$y = 128{,}6178 + 2{,}14744x_2$	Klee-Ertrag (x_2)	32,5	0,80***

Literatur

CHALK, P. M., 1985: Estimates of N_2-fixation by isotope dilution: An appraisal of techniques involving 15N enrichment and their application. Soil Biol. Biochem. 17, 389-410.

HARDY, R. W. F.und H. D. HOLSTEN 1975: Methods for measurement of dinitrogen fixation. SectIV.: Agronomy and Ecology John Wiley and Sons, New York, 451-486.

HEICHEL, G. H. und K. I. HENJUM 1991: Dinitrogen Fixation, Nitrogen Transfer, and Productivity of Forage Legume-Grass Communities. Crop Sci., 31, 202-208.

HØGH-JENSEN, H., 1997: Biological nitrogen fixation in clover-ryegrass-systems. Ph.D. thesis, Royal Veterinary and Agricultural University Copenhagen, Department of Agricultural Science

LEDGARD, S. F; J. R. SIMPSON, J. R. FRENEY und F. J. BERGERSEN 1985: Effect of reference plant on estimation of Nitrogen Fixation by subterranean Clover. Aust. J. Agric. Res, 36, 663-676.

LOGES, R., 1998: Ertrag, Futterqualität, N_2-Fixierungsleistung und Vorfruchtwert von Rotklee- und Rotkleegrasbeständen. Dissertation, Universität Kiel, Lehrstuhl Grünland und Futterbau

NEUENDORFF, J., 1996: Beitrag des Weißklees (Trifolium repens L.) zur Ertragsbildung von Grünlandnarben unter besonderer Berücksichtigung von Methoden zur Quantifizierung seiner Stickstoff-Fixierung. Dissertation, Gesamthochschule Kassel

PEOPLES M. B., F. J. BERGERSEN, G. L. TURNER, C. SAMPET, R. BERKASEM, A. BHROMSIRI, D. P. NURHAYATI, A. W. FAIZAH, M. N. SUDIN, M. NORHAYATI & D. F. HERRIDGE, 1991: Use of the natural enrichment of ^{15}N in plant available soil N for measurement of symbiotic N_2-fixation. In: International Atomic Energy Agency: Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies, Wien, 117-129

WACHENDORF, M., A. KORNHER, und F. TAUBE, 1994: Leistungsmerkmale von Rotklee un Rotklee/Gras-Gemengen. Tagungsband der 38. Jahrestagung der AG Grünland und Futterbau, 117-124.

ABSTRACT:

Die N_2-Fixierungsleistung von Leguminosenbeständen ist eine wichtige Kenngröße in der Betriebs-N-Bilanz bzw. der Fruchtfolgeplanung landwirtschaftlicher Betriebe.
Aus der Literatur ist bekannt, dass die gewählte Messmethode große Bedeutung für die Höhe der ermittelten N_2-Fixierungsleistung von Leguminosen besitzt. Vor diesem Hintergrund wurden 3 alternative Feldmethoden zur Bestimmung der N_2-Fixierung vergleichend geprüft.
Als Versuchsbestände dienten Futterleguminosenbestände, die sich in den Faktoren Leguminosenart (Rotklee, Weißklee, Luzerne), Saatmischungsverhältnis (Leguminosenreinsaat, Gemenge mit Dt. Weidelgras) sowie Nutzungsart (Schnitt, Brache) unterschieden. Die N_2-Fixierungsleistungen dieser Bestände wurden parallel mit Differenzmethode, ^{15}N-Verdünnungsmethode sowie natural-^{15}N-abundance-Methode bestimmt. Wobei die Berechnungen jeweils alternativ mit und ohne Berücksichtigung der N-Mengen in den nicht erntbaren Pflanzenteilen durchgeführt wurden.
Neben den Bewirtschaftungsfaktoren im Feld, zeigte auch die Wahl der Bestimmungsmethode einen bedeutenden Einfluss auf die Höhe der ermittelten N_2-Fixierungsleistungen. Besonders die Nichtberücksichtigung der N-Mengen im nicht erntbaren Pflanzenmaterial führte zu einer deutlichen Unterschätzung der ermittelten N_2-Fixierung.

Bibliographische Angaben zu diesem Dokument:

Loges, Ralf und Ingwersen, Kathrin und Taube, Friedhelm (2001) - Methodische Aspekte zur Bestimmung der symbiontischen N2-Fixierungsleistung von Leguminosen [Methodological aspects of determining nitrogen fixation of different forage legumes]. Beitrag präsentiert bei der Konferenz: 45. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grünland und Futterbau in der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, Gumpenstein, 23. bis 25. August 2001; Veröffentlicht in *45. Jahrestagung vom 23. bis 25. August 2001 in Gumpenstein. Kurzfassungen der Referate und Poster*, Seite(n) 29-32. Arbeitsgemeinschaft für Grünland und Futterbau in der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, Wissenschaftlicher Fachverlag: Giessen.

Das Dokument ist im Internet unter http://orgprints.org/00002147/ zu erreichen