

Selektion der Soja und deren Symbiosepartner auf Kühletoleranz und Effizienz der biologischen Stickstoff-Fixierung

Berset, E.¹, Hertenstein, F.¹, Peláez, S.¹, Bufer, C.¹, Thonar, C.¹, Wilbois, K.-P.² und Messmer, M.¹

Keywords: Bradyrhizobien, Mykorrhiza, Soja, Symbiose, Stickstoff-Fixierung

Abstract

*In Central Europe low temperature is limiting soybean growth and biological nitrogen fixation (BNF). The BNF efficiency was shown to increase with bradyrhizobia strains selected for their cold tolerance. Significant bradyrhizobia x soybean variety interactions were reported. Co-inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) may promote bradyrhizobia and improve plant phosphorus uptake. The aim of this study is to identify (i) bradyrhizobia showing improved nodulation under cool conditions, (ii) bradyrhizobia x soybean variety and (iii) bradyrhizobia x AMF interactions. In 2011 twelve bradyrhizobia inoculants were tested with three soybean (*Glycine max* [L.]) varieties under three temperature regimes (14/10°C, 16/12°C, 22/20 °C) in a pot trial. In 2012 the five most promising bradyrhizobia were inoculated on twenty soybean varieties and an additional trial testing co-inoculated bradyrhizobia and AMF strains was conducted. A significant bradyrhizobia x temperature interaction was found for the number of nodules per plant and the SPAD values (indirect chlorophyll measurement; $p \leq 0,001$). Significant bradyrhizobia x variety interactions were observed ($p \leq 0,01$). The present results show that the selection of cold tolerant inoculants is as important as adapted soybean varieties. The efficiency of single bradyrhizobia x soybean variety combinations depends on the temperature regime.*

Einleitung und Zielsetzung

Im Hinblick auf die menschliche Ernährung und Tierfütterung hat die Sojabohne (*Glycine max* [L.]) dank ihrem hohen Gehalt an Eiweiss und Öl auch in Europa in den letzten Jahren an Interesse gewonnen. Die in Zentraleuropa herrschenden Temperaturen beschränken jedoch das Wachstum der subtropischen Sojapflanze sowie auch die Effizienz ihrer biologischen Stickstoff (N)-Fixierung. Zurzeit werden über 2/3 des europäischen Sojabedarfs durch Importe aus Übersee gedeckt, was dem Systemansatz der ökologischen Landwirtschaft widerspricht und die Abholzung der Regenwälder unterstützt. Es gilt also, regional angepasste Sojasorten zu züchten, die eine verbesserte Kühletoleranz sowie verkürzte Vegetationszeiten aufweisen. Weil die Soja in Europa nicht heimisch ist, ist bei deren Aussaat eine Impfung mit kompatiblen N-fixierenden Bradyrhizobienstämmen notwendig (Abaidoo *et al.* 2007). Die Effizienz der biologischen N-Fixierung unter kühlen Temperaturbedingungen kann durch die Selektion geeigneter Bradyrhizobienstämme gesteigert werden (Zhang *et al.* 2003). Zwischen Sojasorten und Bradyrhizobien wurden auch signifikante Wechselwirkungen beobachtet (Luna und Planchon 1995). Eine zusätzliche Impfung mit arbuskulären Mykorrhiza-

¹ FiBL, Ackerstrasse 21, 5070 Frick, Schweiz, estelle.berset@fibl.org, www.fibl.org

² FiBL Deutschland e.V., Kasseler Straße 1a, 60486 Frankfurt am Main, Deutschland, klaus-peter.wilbois@fibl.org, www.fibl.org

pilzen (AMP) kann die Bradyrhizobien fördern und die Phosphoraufnahme der Sojabohnen verbessern (Meghvansi *et al.* 2008).

Durch eine optimale Kombination von Sojasorten und geeigneten symbiontischen Mikroorganismen soll das Pflanzenwachstumspotential und die biologische N-Fixierung für kühle Temperaturbedingungen verbessert werden. Ziel dieser Studie ist es, (i) Bradyrhizobienstämme mit verbesserter Kühltoleranz, (ii) Bradyrhizobien x Sojasorten Interaktionen sowie (iii) Bradyrhizobien x AMP Interaktionen zu identifizieren.

Methoden

In 2011 wurden in einem Topfversuch zwölf Bradyrhizobien-Inokula (+ eine nicht-inokulierte Kontrolle) mit drei frühreifen Sojasorten (Merlin, Bohemians, Protina) bei drei verschiedenen Temperaturregimen (14/10°C, 16/12°C und 22/20°C) und in vier Wiederholungen getestet. Zwei Inokula (USDA 30 und 442) stammten direkt von der USDA ARS National Rhizobium Germplasm Collection und wurden am FiBL vermehrt. Die Produkte A bis J waren kommerzielle Produkte, von denen A, B, C und G in Zentraleuropa erhältlich sind. Pro Samen wurden jeweils 5×10^6 Kolonien bildende Einheiten bei der Aussaat inokuliert. Sechs Wochen nach der Aussaat wurden Knöllchenzahl, Wurzel- und Sprossbiomasse sowie SPAD Werte (als indirekte Chlorophyllmessung) gemessen. Anfang 2012 wurde ein Topfversuch mit den fünf erfolgversprechendsten Bradyrhizobien-Inokula und 20 Sojasorten bei 16/12°C angelegt. In einem parallelen Topfversuch wurden zwei Bradyrhizobien mit vier AMP Inokula bei 16/12°C und 22/20°C geprüft. Zusätzlich zu den oben erwähnten Ernteparametern wurde die Wurzelkolonisierung mit AMP und die N-Fixierung mit der natürlichen Abundanzmethode des Isotops ^{15}N im Spross zur Erntezeit gemessen.

Ergebnisse

Im Topfversuch 2011 wurde eine signifikante Bradyrhizobien x Temperatur Interaktion für die Knöllchenzahl beobachtet ($p \leq 0,001$; Abb. 1).

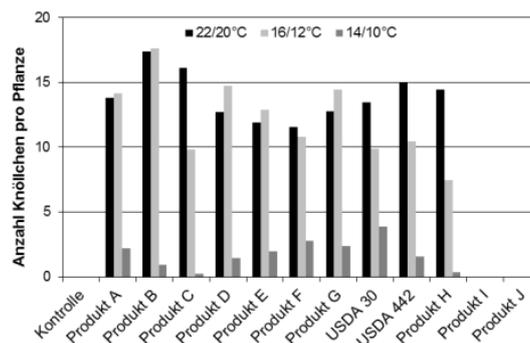


Abbildung 1: Anzahl Knöllchen pro Pflanze über drei Sojasorten bei drei Temperaturregimen.

Die Temperaturempfindlichkeit der einzelnen Inokula variierte stark. Bei 22/20°C resultierte die Impfung mit den Produkten B und C in der höchsten Knöllchenzahl pro

Pflanze. Die Knöllchenbildungseffizienz von A, B, E und F blieb bei 22/20°C und 16/12°C gleich, während die Knöllchenzahl mit C und H deutlich zurückging. Bei 14/10°C schnitt das Produkt C am schlechtesten ab. Die Knöllchenbildungsfähigkeit der Produkte D und G war bei 16/12°C besser als bei 22/20°C. Bei 14/10°C erreichte USDA 30 die höchste Knöllchenzahl. Die Produkte I und J konnten keine Knöllchenbildung induzieren.

Mit abnehmender Temperatur sanken im Allgemeinen die Chlorophyllgehalte (gemessen als SPAD Werte) der Sojablätter. Dies deutet auf eine schlechtere Stickstoffversorgung bei kühleren Temperaturen hin. Für den SPAD Wert konnte ebenfalls eine signifikante Bradyrhizobien x Temperatur Interaktion festgestellt werden ($p \leq 0,001$; Daten nicht gezeigt). Im Gegensatz zu den anderen Inokula blieben die SPAD Werte der mit USDA30 oder Produkt H inokulierten Pflanzen bei der Temperaturabsenkung von 16/12°C auf 14/10°C konstant.

Signifikante Bradyrhizobien x Sojasorte Interaktionen wurden für die Knöllchenzahl bei 16/12°C und 14/10°C identifiziert ($p \leq 0,01$; Abb. 2). Während die Knöllchenbildung bei 16/12°C mit dem Produkt B und der Sorte Bohemians am höchsten war, erreichte bei 14/10°C USDA 30 mit Protina am meisten Knöllchen. Bei 14/10°C konnten bei diversen Bradyrhizobien x Sojasorte Kombinationen keine Knöllchen beobachtet werden. Bei 14/10°C wiesen die erfolgreichsten Bradyrhizobien x Sojasorte Kombinationen eine höhere Knöllchenzahl auf als schlechte Kombinationen bei 16/12°C.

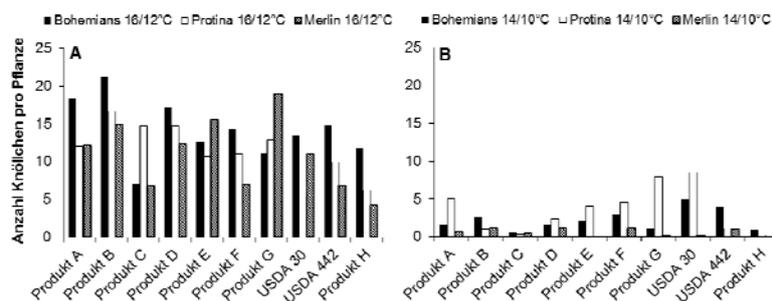


Abbildung 2: Anzahl Knöllchen pro Pflanze für drei Sojasorten bei den Temperaturregimen (A) 16/12°C und (B) 14/10°C.

Bei 16/12°C wurden signifikante Rangkorrelationen zwischen Knöllchenzahl und SPAD Werten ($r = 0,43$; $p \leq 0,001$) sowie Knöllchenzahl und Sprossbiomasse ($r = 0,56$; $p \leq 0,001$) gefunden. Bei 14/10°C war nur die Korrelation zwischen Knöllchenzahl und SPAD Werten signifikant ($r = 0,49$; $p \leq 0,001$).

Aufgrund der besseren Differenzierung zwischen den Bradyrhizobien x Sojasorte Kombinationen bei 16/12°C, wurde der darauf aufbauende Topfversuch 2012 ausschließlich unter diesen Temperaturbedingungen durchgeführt. Die Ergebnisse dieses laufenden Versuches sowie der Ko-Inokulation mit AMP werden an der Tagung präsentiert.

Diskussion

Die erhöhte Knöllchenzahl resultierte in einer höheren Biomasse und einer besseren Stickstoffversorgung der Sojapflanzen. Dies bestätigte die Tauglichkeit der Knöllchenzahl als Indikator für die Effizienz der Bradyrhizobien-Inokula. Die einzelnen Bradyrhizobienstämme reagierten auf die drei Temperaturregime unterschiedlich und können somit auf Kühltoleranz selektiert werden. Je nach Temperaturregime variierte auch die Effizienz der einzelnen Bradyrhizobien x Sojasorte Kombinationen.

Schlussfolgerungen

Die vorläufigen Resultate zeigen, dass die sorgfältige Auswahl von kühltoleranten Bradyrhizobien-Inokula genauso relevant ist, wie die Züchtung von frühreifen Sojasorten. Versucht man, durch züchterische Massnahmen das Wachstumspotential sowie die biologische N-Fixierung der Sojapflanze zu optimieren, so werden je nach Temperatur verschiedene Bradyrhizobien x Sojasorte Kombinationen die höchste Leistung erbringen. Die Selektion von geeigneten symbiontischen Mikroorganismen ist somit vom Züchtungsprozess auf kältetolerante Sojasorten nicht zu trennen.

Danksagung

Dieses Projekt wurde finanziell unterstützt vom Bundesministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Verbraucherschutz (BLE), Deutschland, im Rahmen vom Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) „Ausweitung des Öko-Sojaanbaus in Deutschland durch züchterische Anpassung und pflanzenbauliche Optimierung“, von der Mahle Stiftung GmbH in Stuttgart, Deutschland, und vom Eidgenössischen Departement für auswärtige Angelegenheiten, Direktion für Entwicklung und Zusammenarbeit (DEZA), Schweiz, im Rahmen der Indo-Swiss Collaboration in Biotechnology (ISCB).

Literatur

- Abaidoo, R. C., Keyser, H. H., Singleton, P. W., Dashiell, K. E., Sanginga, N. (2007): Population size, distribution, and symbiotic characteristics of indigenous *Bradyrhizobium* spp. that nodulate TGx soybean genotypes in Africa. *Applied Soil Ecology* 35: 57–67.
- Luna R., Planchon C. (1995): Genotype x *Bradyrhizobium japonicum* strain interactions in dinitrogen fixation and agronomic traits of soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Euphytica* 86: 127-134.
- Meghvansi, M. K., Prasad, K., Harwani, D., Mahna, S. K. (2008): Response of soybean cultivars toward inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* in the alluvial soil. *European Journal of Soil Biology* 44: 316-323.
- Zhang, H., Prithiviraj, B., Charles, T. C., Driscoll, B. T., Smith, D. L. (2003): Low temperature tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strains allowing improved nodulation and nitrogen fixation of soybean in a short season (cool spring) area. *European Journal of Agronomy* 19: 205-213.