

Effekte der symbiontischen Stickstoff-Fixierung der Sojabohne

Johann Vollmann^{1*} und Peter Schweiger²

Zusammenfassung

Die Sojabohne ist zu einer bedeutenden Körnerleguminose im österreichischen Anbau geworden, wodurch die Frage der symbiontischen Stickstoff-Fixierung von besonderem Interesse ist. Effekte der Stickstoff-Fixierung wurden daher an nodulierenden bzw. nicht nodulierenden Sojabohnen auf ostösterreichischen Standorten analysiert. Dabei zeigte sich, daß neben agronomischen Merkmalen vor allem der Proteingehalt der Samen durch die Stickstoff-Fixierung beeinflusst wurde. Darüber hinaus führten Unterschiede in der Stickstoff-Fixierung zu messbaren Veränderungen in Photosynthese- und Blattmerkmalen wie dem Chlorophyllgehalt oder Blatt-Bildanalyse-Merkmalen, die ebenfalls mit dem Proteingehalt korreliert waren und somit zur indirekten Messung der Stickstoff-Fixierung dienen könnten. Der Anteil des symbiontisch fixierten am insgesamt aufgenommenen Stickstoff lag zumeist unter 50%, was Auswirkungen auf die N-Bilanz und andere Umweltwirkungen des Sojaanbaus hat.

Schlagwörter: Proteingehalt, Stickstoff-Bilanz, Nodulation

Summary

Soybean has become an important grain legume within the Austrian arable crops which raises the question of symbiotic di-nitrogen fixation. Therefore, effects of di-nitrogen fixation were analyzed in nodulating vs. non-nodulating soybean lines at locations in the east of Austria. Results demonstrated that seed protein content was most affected by di-nitrogen fixation apart from agronomic characters. In addition, differences in di-nitrogen fixation could be measured in characters such as chlorophyll content or leaf image analysis features which were also correlated to seed protein content. The percentage of symbiotically fixed nitrogen out of total nitrogen content was below 50% in most cases, which affects N balance as well as other environmental effects of soybean cropping.

Keywords: seed protein content, nitrogen balance, nodulation

Einleitung

Die Sojabohne (*Glycine max* [L.] Merr.) wird als die weltweit wichtigste Körnerleguminose auch in Österreich wieder zunehmend angebaut. Betrug die jährliche Anbaufläche vor einem Jahrzehnt noch weniger als 20.000 ha, so ist seit 2008 ein Anstieg der Fläche zu verzeichnen, der im Jahr 2013 bereits 41.919 ha erreichte; von dieser Sojafläche wurden im Jahr 2013 7573 ha unter Biobedingungen angebaut, v.a. im Burgenland und in Niederösterreich. Die österreichischen Sojaerträge zeigten sich im Zeitraum 2005-2012 mit 26,0 bis 29,4 dt/ha als vergleichsweise stabil (AMA 2013). Sojabohnen enthalten bezogen auf Trockenmasse durchschnittlich 40% Protein und 20% Öl und sind vor allem aufgrund dieses hohen Proteingehaltes ein wichtiger Rohstoff sowohl in der Lebensmittel- als auch in der Futtermittelindustrie (COBER et al. 2009). Nimmt man einen Kornertrag von 3000 kg/ha mit einem Proteingehalt von 40% an, so bedeutet dies einen Proteinertrag von 1200 kg/ha und damit einen rechnerischen Stickstoffentzug mit der Kornernte von mehr als 190 kg/ha. Für den Biolandbau, aber auch für den konventionellen Landbau stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage nach der Höhe der biologischen N₂-Fixierung der Sojabohne, welche für Kornertrag, Qualität des Erntegutes (Proteingehalt),

N-Dynamik, N-Bilanz und Vorfruchteffekt gleichermaßen von Bedeutung ist, zumal eine N-Düngung von max. 60 kg/ha nur unter besonderen Bedingungen empfohlen wird (BMLFUW 2006) und eine N-Düngung im Rahmen des ÖPUL-Programmes nicht zulässig ist.

Die biologische N₂-Fixierung der Sojabohne geschieht in Symbiose mit *Bradyrhizobium japonicum* ([Kirchner] Jordan), wobei eine Beimpfung des Saatgutes beim Anbau erforderlich ist, um eine Knöllchenbildung zu erreichen. Die Nodulierung und in weiterer Folge die tatsächliche N₂-Fixierungsleistung stehen stark mit dem Kohlenstoffhaushalt und damit der Photosyntheseleistung in Wechselwirkung und werden von zahlreichen Umweltfaktoren (Nitratgehalt des Bodens, Temperatur, Wasserversorgung usw.) beeinflusst (SINCLAIR 2004). Weiter unterscheiden sich sowohl Sojagenotypen (SANTOS et al. 2013) als auch Bradyrhizobien-Stämme (TORRES et al. 2012) hinsichtlich ihrer symbiontischen Effizienz. Daher werden z.B. von SCHIPANSKI et al. (2010) fixierte Gesamt-N₂-Mengen der oberirdischen Biomasse in dem weiten Bereich von 40 bis 224 kg N/ha angegeben, womit der %-Anteil des fixierten N von unter 20 bis über 80% schwankt. Nach SALVAGIOTTI et al. (2008) steigt pro kg aufgenommenem N in der oberir-

¹ Universität für Bodenkultur Wien, Abt. Pflanzenzüchtung, Konrad Lorenz Str. 24, A-3430 TULLN AN DER DONAU

² Bioforschung Austria, Esslinger Hauptstraße 132-134, A-1220 WIEN

* Ansprechpartner: Dr. Johann Vollmann, johann.vollmann@boku.ac.at



dischen Biomasse der Ertrag linear um 13 kg, wobei aber nur etwa 50-60% des N-Bedarfs aus N-Fixierung gedeckt wird. Unter kühleren europäischen Anbaubedingungen und mit frühreifenden Genotypen stammen etwa 30-50% des oberirdischen N aus N_2 -Fixierung (OBERSON et al. 2007), wobei unter Biobedingungen höhere N-Fixierungsraten als unter konventionellen Anbaubedingungen festgestellt wurden.

Da die biologische N_2 -Fixierung der Sojabohne sowohl agronomisch als auch umweltökologisch von Interesse ist, werden im Folgenden Ergebnisse vorgestellt, welche verschiedene quantitative Effekte der N-Fixierung unter österreichischen Bedingungen zeigen und damit die Sojabohne insgesamt in diesem Merkmal charakterisieren.

Material und Methoden

Unterschiedliche Sojabohnen-Genotypen (Zuchtmaterial) der Reifegruppen 0 bis 000 wurden auf verschiedenen Standorten in Ostösterreich in den Versuchsjahren 2006 bis 2011 in Feldversuchen analysiert. Zur Darstellung von Effekten der N_2 -Fixierung wurden u.a. nah-isogene Familien aus einer Kreuzung verwendet, die eine Aufspaltung im Merkmal Knöllchenbildung zeigte, sodass N_2 -fixierende Familien (Genotyp *Rj1Rj1*) mit solchen ohne Knöllchenbildung (Genotyp *rj1rj1*) verglichen werden konnten. Der Chlorophyllgehalt als Maß für N_2 -fixierungsabhängiges Photosynthesepotential wurde mittels SPAD-Meter bzw. Bildanalyse erfasst, Samen-Qualitätsmerkmale wie der Proteingehalt mittels NIR-Spektroskopie, wie bei VOLLMANN et al. (2011) beschrieben. Zur Bestimmung des tatsächlichen Anteils der N_2 -Fixierung im oberirdischen Aufwuchs wurden $^{15}N/^{14}N$ -Isotopenverhältnisse (natural abundance-Methode, nichtfixierende Referenzpflanzen) herangezogen, wie bei SCHWEIGER et al. (2012) im Detail beschrieben.

Ergebnisse und Diskussion

Die biologische N_2 -Fixierung im Vergleich zwischen nodulierenden und nicht-nodulierenden Sojabohnen-Linien gleichen genetischen Hintergrundes führte zu einer Reihe von Effekten/Unterschieden in der Pflanzenentwicklung, in agronomischen Merkmalen und schließlich in Qualitätsmerkmalen des Erntegutes. In *Abbildung 1* ist der zeitliche Verlauf des Blattchlorophyllgehaltes über die gesamte Blütephase dargestellt: Während vor der Blüte zunächst kaum Unterschiede zwischen nodulierenden und damit N_2 fixierenden und nicht-nodulierenden Pflanzen bestanden, nahm der Chlorophyllgehalt der nicht-nodulierenden Linien rasch ab (Blätter werden gelb-grün und zeigen damit Stickstoffmangel an) und die Seneszenz der Blätter setzte früher ein, wogegen nodulierende Linien ihren Chlorophyllgehalt bis zum Stadium der Vollblüte steigern konnten und erst zu Beginn der Kornfüllungsphase wieder reduzierten. Dies bedingt einerseits eine längere Assimilationsphase und auch insgesamt höhere Assimilationsraten nodulierender Pflanzen und begründet damit auch höhere Kornerträge, während andererseits durch höheren Chlorophyllgehalt auch mehr Stickstoff im Rahmen der Chlorophylldegradation zur Translokation in das Korn zur Verfügung steht, was einen höheren Proteingehalt im Korn ermöglicht. Damit wird auch

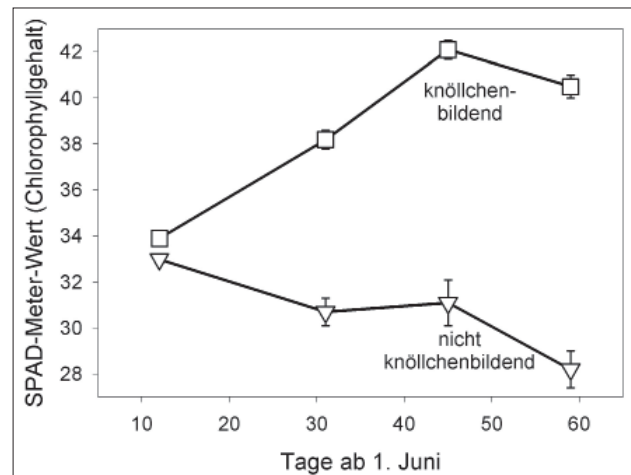


Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf des Blatt-Chlorophyllgehaltes von nodulierenden und nicht-nodulierenden Sojabohnen-Linien von der Vorblüte (V5-Stadium) über die Stadien der Vollblüte bis zur beginnenden Kornfüllung (R5-Stadium).

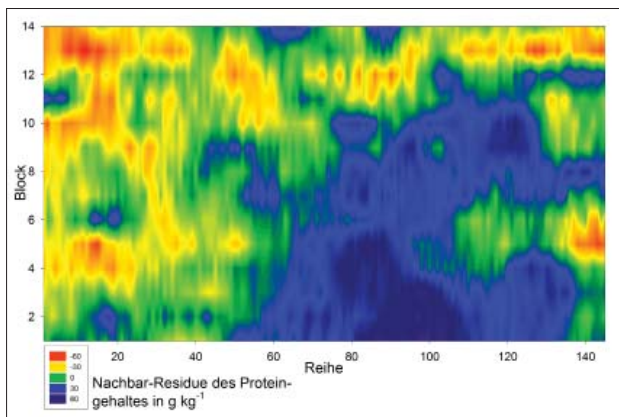
klar bestätigt, daß die N_2 -Fixierung der Sojabohne der am meisten limitierende Einflussfaktor auf Photosynthese und die nachfolgenden Ertragsbildungsprozesse ist (SINCLAIR 2004). Neben den in *Tabelle 1* wiedergegebenen Effekten der N_2 -Fixierung (knöllchenbildend vs. knöllchenlos) auf Blattgröße, Wuchshöhe oder Reifezeit waren besonders Ertragsmerkmale wie TKG oder Hülsenzahl pro Pflanze durch die N_2 -Fixierung beeinflusst, was auch in österreichischen Untersuchungen mehrfach gezeigt worden war (z.B. BLAIMAUER 1991). Wie zu erwarten, wurde auch der Proteingehalt des Erntegutes stark von der N_2 -Fixierung beeinflusst (*Tabelle 1*), was insbesondere für die Erfüllung von Qualitätsstandards im Rahmen der Produktion von Speise-Sojabohnen von großer Bedeutung ist. Unterschiede im Chlorophyllgehalt zur Vollblütezeit bzw. zu damit eng zusammenhängenden Bildanalyse-Parametern waren auch sehr deutlich mit dem Proteingehalt zur Reifezeit korreliert (VOLLMANN et al. 2011).

Die N_2 -Fixierung und der Proteingehalt der Sojabohne werden neben dem Soja- sowie dem *Bradyrhizobium*-Genotyp auch von verschiedensten Umweltfaktoren beeinflusst (SINCLAR 2004, VOLLMANN et al. 2000), wie auch eine Proteingehalts-Trendkarte eines großen Screening-Versuches mit über 2000 Einzelparzellen zeigt (*Abbildung 2*). Auch hier bestand ein deutlicher Zusammenhang zwischen Bildanalysedaten zum Stadium der Vollblüte und dem Proteingehalt (*Abbildung 3*), was ähnlich einer Ertragskartierung auch zu einer Feld-Kartierung der N_2 -Fixierung herangezogen werden könnte.

In verschiedenen Experimenten unter Bedingungen des Biologischen Landbaues auf Standorten im Weinviertel bzw. dem Marchfeld wurden Kornerträge von nicht-fixierenden Sojabohnen durch Nodulierung um 18-100% erhöht, es verbesserte sich auch der Harvest-Index (von 38, 44 oder 48 auf etwa 51-52%), das TKG und der Samen-Proteingehalt (Daten aus SCHWEIGER et al. 2012). Der durch Bestimmung des $^{15}N/^{14}N$ -Isotopenverhältnisses gemessene Anteil des Stickstoffs aus fixiertem Luftstickstoff lag dabei

Tabelle 1: Effekte der Nodulierung auf Entwicklungs-, Ertrags- und Qualitätsmerkmale im Vergleich zwischen nodulierenden (n=80) und nicht-nodulierenden (n=34) Sojabohnen-Linien.

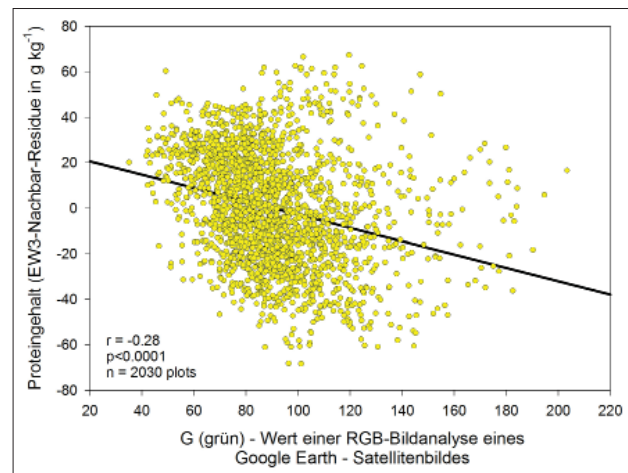
Eigenschaft	Nodulationsvariante		Signifikanz (F-Test)
	Rj_i (knöllchenbildend)	rj_i (knöllchenlos)	
Blattgröße (% grüne Pixel)	16.2	12.9	<0.0001
Reifezeit (Tage nach dem 31. Juli)	43.5	38.7	0.0028
Wuchshöhe (cm)	95.2	83.8	0.0003
Hülsenzahl pro Pflanze (n)	18.3	10.5	<0.0001
TKG (g)	176	143	<0.0001
Proteingehalt (g kg ⁻¹)	428	352	<0.0001
Ölgehalt (g kg ⁻¹)	181	219	<0.0001
Zuckergehalt (g kg ⁻¹)	33	39	0.0245

**Abbildung 2: Feldkarte von Nachbaranalyse-abgeleiteten Residuen des Proteingehaltes eines Sojabohnen-Einzelreihenversuches von 2030 (14 Blöcke x 145 Reihen) Einzelreihen (Gross Enzersdorf, 2009).**

durchschnittlich zwischen 40 und 52% (20-70% in Einzelparzellen) des insgesamt aufgenommenen Stickstoffs. Aufgrund des angeführten Harvestindex ergibt sich aus diesem fixierten N₂-Anteil somit eine negative oder maximal ausgeglichene N₂-Bilanz. Dies wird durch eine Meta-Analyse zur N₂-Fixierung mit über 600 einzelnen Datensätzen bestätigt, wonach bei der Sojabohne durchschnittlich 50-60% des Stickstoffbedarfs durch N₂-Fixierung gedeckt werden (SALVAGIOTTI et al. 2008) und die Sojabohne in 80% der untersuchten Fälle eine leicht negative N-Bilanz (bis -40 kg N / ha) aufweist. Dies und die große Variabilität im Anteil des fixierten Stickstoffs am Gesamtstickstoffgehalt weisen darauf hin, daß Sojabohnen im Vergleich zu anderen Leguminosen sowohl in ihrem Vorfruchtwert als auch im Hinblick auf die Gefahr eines N-Austrages sehr differenziert betrachtet werden müssen.

Schlussfolgerung

Die biologische N₂-Fixierung der Sojabohne beeinflusst Wachstums-, Entwicklungs- und Ertragsprozesse. Die Variabilität der N₂-Fixierung ist auch aus Photosynthese-Parametern oder dem Proteingehalt des Erntegutes erkennbar, was zu Selektions-, Screening- oder Monitoringzwecken eingesetzt werden könnte. Zur Verbesserung der erwünschten Vorfruchtwirkung der Sojabohne sollte aus landwirtschaftlicher Sicht versucht werden, die N₂-Fixierungsleistung zu verbessern, während aus umweltökologischer Sicht die Gefahr für einen N-Austrag als zumeist gering erscheint.

**Abbildung 3: Beziehung zwischen dem Grün-Wert der RGB-Bildanalyse eines Google Earth-Satellitenbildes von 2030 Einzelreihen zum Stadium R5 (beginnende Kornfüllung) und der Proteingehalts-Residue einer Nachbaranalyse (Gross Enzersdorf, 2009).**

Literatur

- AMA (Agrar Markt Austria), 2013: Getreide und Ölsaaten in Österreich - Anbauflächen, Durchschnitts- und Gesamterträge, Marktleistung 2005 bis 2013. AMA, Wien. online: www.ama.at, 3. Dez. 2013.
- BLAIMAUER, J., 1991: Einfluss unterschiedlicher Saatgut- und Bodenbehandlungsmethoden mit Knöllchenbakterien auf das Ertragsverhalten in den österreichischen Hauptproduktionsgebieten bei Sojabohne (*Glycine max* L. Merr.). Dissertation, Universität für Bodenkultur, Wien.
- BMLFUW (Hrsg.), 2006: Richtlinien für die sachgerechte Düngung. 6. Auflage. BMLFUW, Wien.
- COBER, E.R., S.R. CIANZIO, V.R. PANTALONE and I. RAJCAN, 2009: Soybean. In: J. VOLLMANN und I. RAJCAN (Hrsg.), Oil Crops, Serie: Handbook of Plant Breeding, Vol. 4, 57-90. Springer, New York.
- OBERSON, A., S. NANZER, C. BOSSHARD, D. DUBOIS, P. MÄDER and E. FROSSARD, 2007: Symbiotic N₂ fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by ¹⁵N dilution and ¹⁵N natural abundance. *Plant Soil* 290, 69-83.
- SALVAGIOTTI, F., K.G. CASSMAN, J.E. SPECHT, D.T. WATERS, A. WEISS and A. DOBERMANN, 2008: Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Res.* 108, 1-13.
- SANTOS, M.P., I.O. GERALDI, A.A. FRANCO GARCIA, N. BORTOLATTO, A. SCHIAVON and M. HUNGRIA, 2013: Mapping of QTLs associated with biological nitrogen fixation traits in soybean. *Hereditas* 150, 17-25.

- SCHIPANSKI, M.E., L.E. DRINKWATER and M.P. RUSSELLE, 2010: Understanding the variability in soybean nitrogen fixation across agroecosystems. *Plant Soil* 329, 379-397.
- SCHWEIGER, P., M. HOFER, W. HARTL, W. WANEK and J. VOLLMANN, 2012: N₂ fixation by organically grown soybean in Central Europe: Method of quantification and agronomic effects. *Europ. J. Agron.* 41, 11-17.
- SINCLAIR, T.R., 2004: Improved carbon and nitrogen assimilation for increased yield. In: BOERMA, H.R., SPECHT, J.E. (Hrsg.), *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*. Series Agronomy, No. 16, third ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 537-568.
- TORRES, A.R., G. KASCHUK, G.P. SARIDAKIS and M. HUNGRIA, 2012: Genetic variability in *Bradyrhizobium japonicum* strains nodulating soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1831-1835.
- VOLLMANN, J., C.N. FRITZ, H. WAGENTRISTL and P. RUCKENBAUER, 2000: Environmental and genetic variation of soybean seed protein content under Central European growing conditions. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1300-1306.
- VOLLMANN, J., H. WALTER, T. SATO and P. SCHWEIGER, 2011: Digital image analysis and chlorophyll metering for phenotyping the effects of nodulation in soybean. *Computers Electronics Agric.* 75, 190-195.