

Bestimmung der N₂-Bindung zur N-Bilanzierung von Klee-Luzerne-Gras

H. Heuwinkel¹ und R. Gutser¹

Einleitung

N-Bilanzen des organischen Landbaus werden maßgeblich vom N-Eintrag durch die Leguminosen-Rhizobium-Symbiose bestimmt. Schwierigkeiten bereitet aber die Abschätzung der Fixierleistung, die wesentlich von Boden, Witterungsverlauf, Leguminosenanteil (bei Gemengen) und der Meßmethodik beeinflusst wird. Schätzungen, basierend auf Erträgen, unterliegen deshalb besonders großen Unsicherheiten. Sie führen zur Angabe einer Spannweite der N₂-Bindung, die i.d.R. mehrere 10 kg N/ha umfaßt und insofern unbefriedigend ist.

Der FAM (Forschungsverbund Agrarökosysteme München) befaßt sich u.a. mit der Beschreibung der N-Flüsse eines Betriebes des organischen Landbaus in einem bodenkundlich sehr heterogenen Gebiet. Der N₂-Eintrag findet hier hpts. durch leguminosenhaltige Gemenge statt (Futterleguminosen und Rotationsbrache).

Ziel der vorgestellten Untersuchungen war es, eine geeignete Feldmeßmethodik zu erarbeiten, die flächenbezogene Messungen der N₂-Bindung ermöglicht. Überprüft wurde dabei auch die Bedeutung des N-Transfers von Leguminose zu Nicht-Leguminose. In der Literatur schwanken Angaben darüber von 0 bis 60 % des Nicht-Leguminosen-N (LEDGARD et al., 1985, MALLARINO et al., 1990, BOLLER & NÖSBERGER, 1988).

Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten innerhalb eines betriebsüblich bewirtschafteten Schlages mit Klee-Luzerne-Gras (KLG) der Versuchsstation Klostergut Scheyern des FAM.

Tab. 1: Bodenkenndaten der im Versuch genutzten Standorte (SCHEINOST et al., 1993)

Horizont	Mächtigkeit [cm]	pH	CAL-P [mg/kg]	CAL-K [mg/kg]	C _i [%]	N _i [%]	Ton [% des Feinbd.]	Sand	Skelett [%]
"Sand": Rasterpunkt 130.120									
Ap	27	6.0	110	170	1.65	0.12	10	67	37
BvI	46	5.8	20	160	0.21	0.04	6	84	7
"Lehm": Rasterpunkt 140.140									
Ap	26	6.0	80	140	1.36	0.14	18	35	6
M	40	6.0	40	100	0.42	0.06	22	34	12

Das Untersuchungsgebiet liegt ca. 40 km nordwestlich von München im Tertiären Hügelland. Die Jahresmitteltemperatur beträgt 7,4 °C bei durchschnittlich 833 mm Niederschlag. Zwei bodenkundlich verschiedene Meßflächen wurden eingerichtet (Tab. 1). Jede Meßfläche wies als Referenz eine leguminosentfreie Teilfläche von 6m*8m auf, die nur mit dem Grasanteil des KLG angesät wurde. Die Ansaat erfolgte am 22.04.93 als Untersaat in Roggen. Die Zusammensetzung des Saatgutes ist der Tab. 2 zu entnehmen.

¹ Lehrstuhl für Pflanzenernährung, TU München, D-85350 Freising-Weihenstephan

Art 'Sorte'	Gemenge	Grasreinsaat [kg/ha]
Weißklee 'Milkanovo'	2	---
Rotklee 'Tapiopoly'	2	---
Rotklee 'Lucrum'	2	---
Luzerne 'Kore'	6	---
Hornklee 'Oberhaunstädter'	1	---
Wiesenschwingel 'Cosmos II'	8	8
Lieschgras 'Phewiola'/Lirocco'	3	3
Glatthafer 'Araf'	3	3
Rotschwingel 'Roland 21'	3	3
Knautgras 'Baraula'	1,5	1,5
Knautgras 'Lidacta'	1,5	1,5

Tab. 2: Zusammensetzung des Saatgutes nach Art, Sorte und Ansaatstärke. Mischung NF2 der Bayerischen Futtersaatbau GmbH in Ismaning.

Zu vier Terminen wurden Aufwuchs und N_{\min} der Referenzpflanzenfläche und der direkt benachbarten KLG-Fläche beprobt. Der Aufwuchs (6 Parallelen je $0,5\text{m}^2$) wurde in Artengruppen getrennt (Leguminosen, Gräser und restliche Kräuter). Für jede Fraktion wurde FS-, TS-Ertrag ($60\text{ }^\circ\text{C}$, 48 h), N-Gehalt und $\text{at}\% \text{}^{15}\text{N}$ gemessen. Letztere zwei Größen wurden mit einem ANCA-MS (EUROPA SCIENTIFIC SL 20-20) gemessen. Die N_{\min} -Proben wurden als Mischprobe je Teilfläche von 12 Einstichen mit dem GÖTTINGER (Lehm) bzw. 4 Einstichen mit dem PÜRKHÄUER Bohrstock (Sand) für die Schichten 0-30, 30-60 und 60-90 cm gezogen. Die Nitratanalyse erfolgte nach Ausschüttelung mit $0,01\text{M}$ CaCl_2 -Lösung im Verhältnis 1:2 (Boden:Lösung) durch eine HPLC (UVIKON 720 LC MICRO) wie bei VILSMEIER (1984) beschrieben. Der TS-Gehalt des Bodens wurde durch Trocknung einer Unterprobe bis zur Gewichtskonstanz bei $105\text{ }^\circ\text{C}$ (24h) ermittelt.

Die N_2 -Bindung wurde nach der Differenzmethode (HAUSER, 1987) unter Berücksichtigung des N_{\min} wie folgt berechnet:

$$\text{N}_2\text{-Bindung [g/m}^2\text{]} = (\text{N-Ertrag [g/m}^2\text{]} + \text{N}_{\min} \text{ [g/m}^2\text{]})_{\text{Mischbestand}} - (\text{N-Ertrag [g/m}^2\text{]} + \text{N}_{\min} \text{ [g/m}^2\text{]})_{\text{Referenzpflanze}}$$

Die ^{15}N -Gehalte wurden in $\delta^{15}\text{N}$, d.h. ‰ $\text{at}\% \text{}^{15}\text{N}$ -Überschuß über einem bekannten Standard (Luft, d.h. $0,3663\text{ at}\% \text{}^{15}\text{N}$), wie folgt umgerechnet:

$$\delta^{15}\text{N [‰ } ^{15}\text{N]} = [(\text{at}\% \text{}^{15}\text{N}_{\text{Probe}} - \text{at}\% \text{}^{15}\text{N}_{\text{Standard}}) / \text{at}\% \text{}^{15}\text{N}_{\text{Standard}}] * 1000$$

Sie dienten der Kontrolle auf möglichen Transfer-N von der Leguminose zum Gras, erkennbar an im Vergleich geringeren δ -Werten von Gemengegras gegenüber der Reinsaat. Auf die Berechnung der N_2 -Bindung nach der Methode der 'Natural Abundance' wurde verzichtet, da weder Informationen zur Diskriminierung von ^{15}N gegenüber ^{14}N bei der N_2 -Bindung der Leguminosen vorlagen, noch Ertragsanteile der Arten/Sorten der Leguminosen ermittelt worden waren.

Ergebnisse und Diskussion

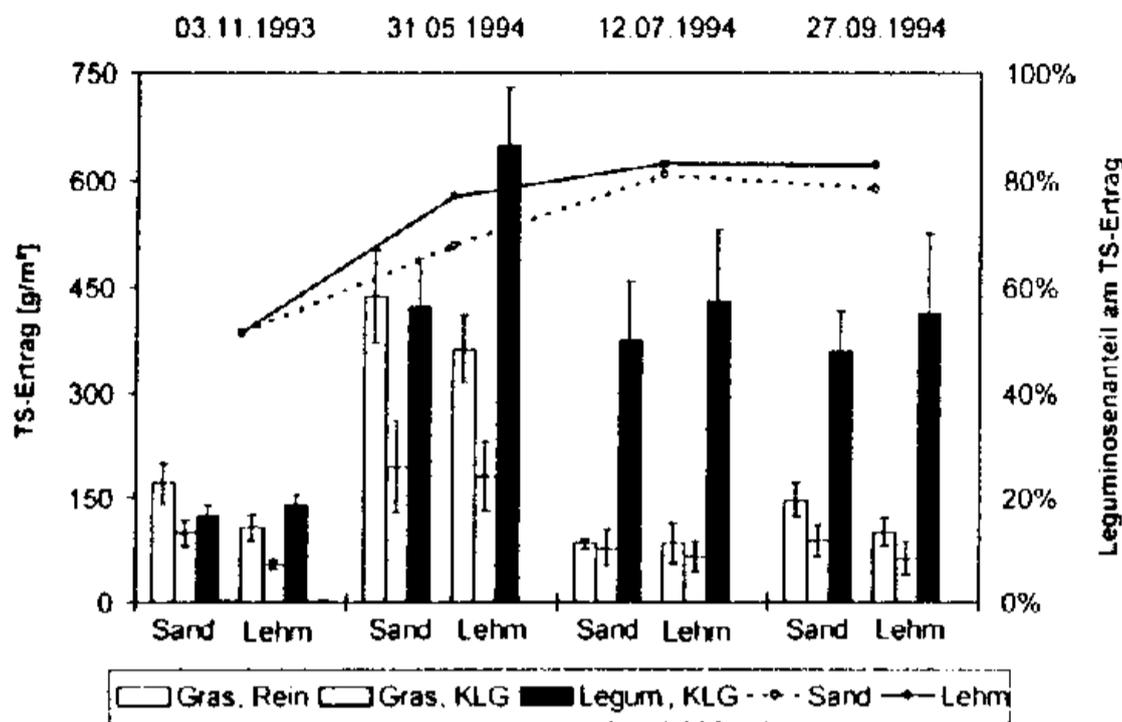


Abb. 1: Trockensubstanzerträge (Balken) der Artengruppen von Klee-Luzerne-Gras (KLG) und Grasreinsaat (Rein) sowie Leguminosenanteil (Linien) an der Massebildung des KLG zweier Standorte in Scheyern. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Massebildung, N-Ertrag und N₂-Bindung wurden stark vom Boden beeinflusst (Abb. 1 und Abb. 2). Auf Sand waren sie in der Summe aller Termine 20-25 % geringer als auf Lehm. Die ermittelte N₂-Bindung entsprach mit 32 und 43 g N/m² Angaben für Rot- und Weißklee von BOLLER (1988). Allerdings waren Standortunterschiede nur zu den ersten beiden Schnitterminen wirklich auffällig. **Drei Ursachen** lassen sich dafür erkennen:

1. Das Wachstum der Grasreinsaat war auf Sand zu beiden Schnitten deutlich höher als auf Lehm (Abb. 1). Dieses führt zu höheren 'Abzügen' bei der Differenzmethode. Zwar sind Belege für eine anfänglich bessere N-Versorgung auf Sand nur indirekt ableitbar, stellt aber die überzeugendste Erklärung für das in Relation gute Graswachstum auf Sand dar.

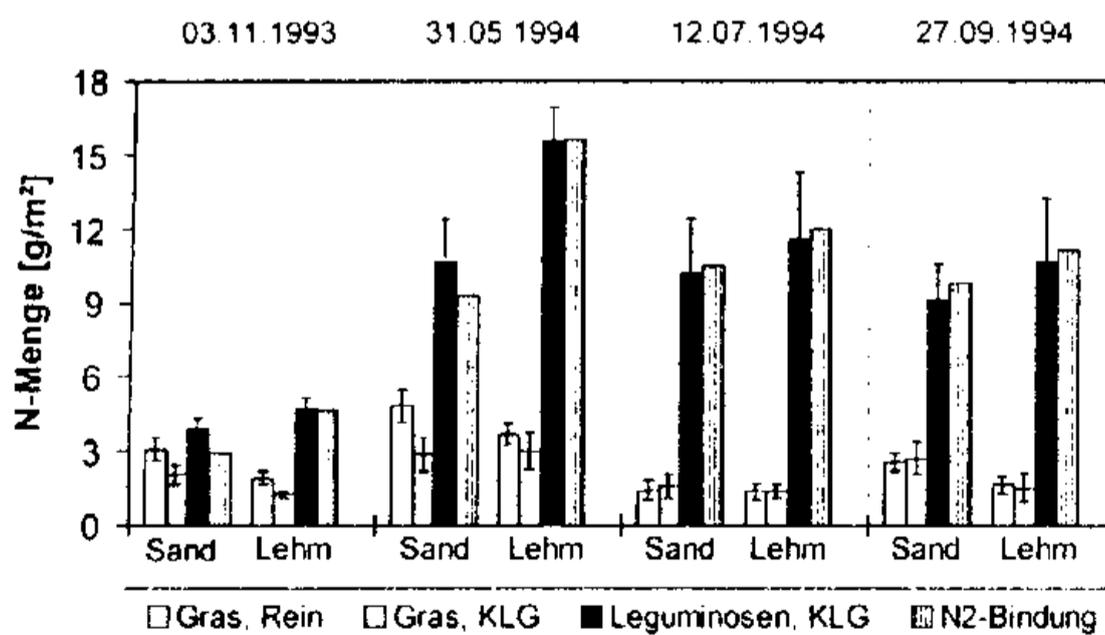


Abb. 2: N-Erträge der Artengruppen von Klee-Luzerne-Gras (KLG) und Grasreinsaat (Rein) sowie N₂-Bindung des KLG nach der Differenzmethode zweier Standorte in Scheyern. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Die Bodenkennzahlen (Tab. 1) belegen nur im oberen Mineralbodenhorizont (Bv1 bzw. M) des Sandes ein günstigeres C/N-Verhältnis als beim Lehmstandort, bei aber natürlich geringen N-Gehalten. Im Ap ist dagegen aufgrund des größeren C/N-Verhältnisses (Sand:14, Lehm:10) und des etwas geringeren N-Gehaltes im Sand, eine schlechtere N-Mineralisierung des Sandstandortes wahrscheinlich. Auch die Nitrat-

Messungen zeigten, wenn überhaupt einen Unterschied, dann eine schlechtere N-Versorgung des Sandes an (Abb. 3). Andererseits weisen die zur Roggenernte im Sand nachgewiesenen höheren Nitrat-Reste auf eine anfänglich bessere N-Versorgung hin. Später konnte das nicht mehr gemessen werden, da die Pflanzen den mineralisierten N wahrscheinlich sofort aufnahmen, welches sich in den höheren N-Erträgen der Grasfraktionen auf Sand widerspiegelt. Die insgesamt geringen Schwankungen der Nitratgehalte während des KLG-Wachstums unterstützen diese Vermutung, da sie auf das Erreichen einer maximalen Nitrat-Entleerung des Bodens durch die pflanzliche N-Aufnahme hindeuten.

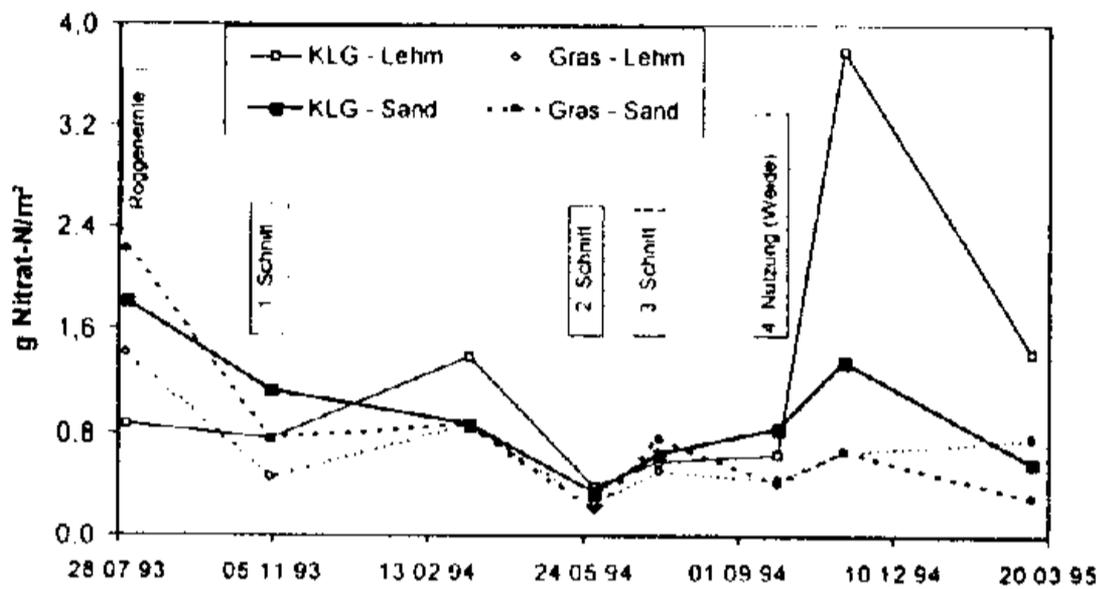


Abb. 3: Zeitverlauf der $\text{NO}_3\text{-N}$ -Mengen in 0-90 cm unter Klee-Luzerne-Gras (KLG) und Grasreinsaat (Gras) zweier Standorte in Scheyern.

2. Der auf Lehm höhere Kleeanteil und -ertrag führt bei der Differenzmethode zu höheren 'Eingaben' bei gleichzeitig geringeren 'Abzügen' (das Gras wuchs hier im Vergleich zu Sand schlechter). Wodurch der höhere Kleeanteil über Winter zustande kam kann an Hand der Daten nicht beurteilt werden. Unterschiede in der Auswinterung scheiden aufgrund der räumlichen Nähe und ähnlichen Exposition der Meßflächen aus. Wahrscheinlicher scheint, daß die geringere Konkurrenz durch Gras ein besseres Leguminosenwachstum ermöglichte.
3. Weiter könnte ein geringeres Nitratangebot auf Lehm die spezifische Leistung der Symbiose verbessert haben, da schon geringe Nitratgehalte Nodulation und N_2 -Bindung von z.B. Erbsen einschränken (WATERER und VESSEY 1993). Tab. 3 zeigt, daß die spezifische Bindeleistung im Ansaatjahr auf Sand geringer war, und untermauert damit die obige Argumentation, daß zu Wachstumsbeginn im Sand höhere Nitratgehalte vorlagen. Mit dem 2. Schnitt zeigt sich aber schon eine Angleichung der Standorte in der spezifischen Bindeleistung. Ab dem 3. Schnitt war dann diese auf hohem Niveau für beide Standorte gleich.

Erntetermin	Sand	Lehm
	mg N_2 -Bindung/g Leguminosen-TS	
03.11.93	23	33
31.05.94	22	24
12.07.94	28	28
27.09.94	27	27

Tab. 3: Spezifische N_2 -Bindeleistung der Leguminosen im Klee-Luzerne-Gras berechnet aus N_2 -Bindung nach der Differenzmethode und dem TS Ertrag.

Die Schwierigkeiten, die bei der Erklärung der beobachteten Standortunterschiede auftreten, zeigen deutlich, wie wichtig die tatsächliche Messung der Bindeleistung in der Spannbreite der vorhandenen Standorte ist. Nur bei einer Erfassung dieses Spektrums erscheint ein Übertrag auf **flächenbezogene Größen** sinnvoll, in diesem Fall über den Leguminosen-N. Denn trotz aller Standortunterschiede an einzelnen Terminen entsprach der Leguminosen-N der Menge des fixierten N_2 (Sand zu 96%, Lehm zu 101%; s.a. Abb. 2). Den N-Ertrag der Leguminosen als Äquivalent für die N_2 -Bindung anzusetzen hätte im Vergleich mit der Differenzmethode nur einen Fehler von -13 kg N/ha auf Sand bzw. +4 kg N/ha auf Lehm zur Folge. In jedem Fall ist aber die Fixierleistung und deren Beeinflussung durch den Standort erneut zu prüfen, um mit Hilfe der so gewonnenen Ergebnisse den Übertrag in die Fläche sinnvoll durchzuführen.

Die N_{min} -Messungen, die als Korrekturgröße für unterschiedliche N-Aufnahme von Referenz und Leguminose einfließen (HAUSER, 1987), erwiesen sich je nach Termin als mehr oder weniger wichtig (Abb. 3). Größere Unterschiede zeigten sich auf beiden Böden im Ansaatjahr und im Herbst des Folgejahres. Ohne N_{min} -Messung wäre die N_2 -Bindung auf beiden Standorten in der Summe um 2 g N/m^2 geringer ausgefallen.

Der im Herbst '94 hohe Wert des KLG auf Lehm stellt ein Artefakt dar. Während der Weidenutzung war das Wasserfaß ein paar Tage nahe der Meßfläche plaziert gewesen.

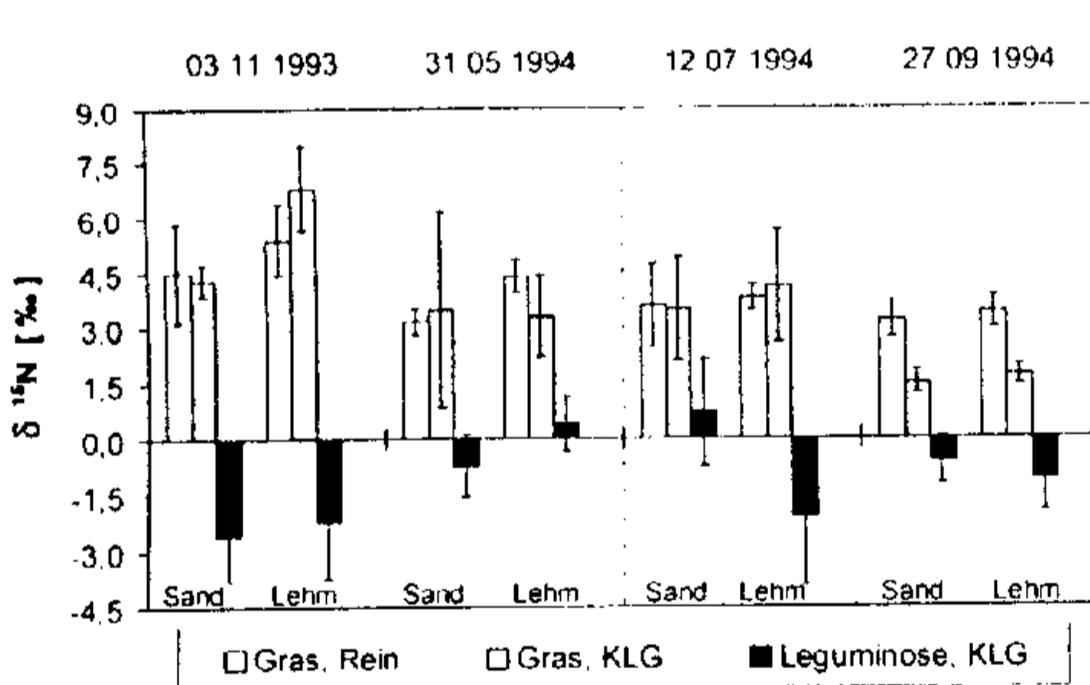


Abb. 4: ^{15}N -Gehalte der Artengruppen von Klee-Luzerne-Gras (KLG) und Grasreinsaat (Rein) zweier Standorte in Scheyern. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Die vergleichsweise hohen Bindeleistungen in % des Leguminosen-N (vergl. Übersicht in SCHNOTZ, 1995, S. 11) legen nahe, daß größere Mengen Transfer-N im Gras-N der Mischung vorgelegen haben könnten. In den bisher dargestellten Zahlen zur N_2 -Bindung ist dieses nicht berücksichtigt, da die Differenzmethode mit dem Vergleich des N-Ertrages des Mischungsgrases mit der Reinsaat nur eine unsichere Möglichkeit der Überprüfung auf Transfer-N bietet. Ein Vergleich der ^{15}N -Gehalte dagegen erlaubt Schlußfolgerungen zum Transfer-N, da der Leguminosen-N i.d.R. deutlich geringere ^{15}N -Gehalte aufweist als der Boden-N. Bis zur letzten Ernte unterschieden sich die Gehalte der Grasfraktion von Reinsaat oder Mischung nicht (Abb. 4). Aus den δ -Werten

des letzten Schnitts ist ein Transfer-N von 50% rechnerisch ableitbar unter der Annahme, daß der Leguminosen-N dieselbe Isotopie wie Luft ($0 \delta^{15}\text{N}$) aufwies. Dieses ist aber so nicht haltbar, da bei der N_2 -Bindung ^{15}N gegen ^{14}N diskriminiert wird und der Grad der Diskriminierung von Art, Sorte und Rhizobienstamm als auch Umweltbedingungen beeinflußt wird (YONEYAMA et al., 1986, LEDGARD, 1989). Auch hier ist deshalb ein Wert für Leguminosen-N kleiner als 0δ zu vermuten, der z.T. auch gefunden wurde (Abb. 4), weshalb die obige Abschätzung wahrscheinlich zu hoch ist. Ein Rückgriff auf Literaturangaben (z.B. YONEYAMA et al., 1986) ist zwar möglich, hilft ohne Informationen zu den Ertragsanteilen der Leguminosenarten aber nicht weiter. Die geschätzten 50% Transfer-N können somit lediglich zur Überprüfung der Relevanz dieses N für die gesamte Menge an gebundenen N_2 dienen. Umgerechnet ergibt sich aufgrund des geringen Grasertrages 1-1,5 g N/m² als Transfer-N. Eine Menge, die im Vergleich zur Gesamtbindung von 32 - 43 g N/m² vernachlässigt werden kann. In einem zweiten Versuch mit KLG wurde bei Einsatz der 'Isotopie Dilution' und 'Natural Abundance' kein Transfer-N festgestellt.

Zusammenfassung und Ausblick

1. **Ertrag und N_2 -Bindung** wurden stark vom **Standort** beeinflußt. Als Ursache wird ein Unterschied in der **N-Versorgung** diskutiert, der sich aber auf insgesamt niedrigem Niveau abspielt.
2. Ein Verzicht auf N_{min} hätte zu einer Unterschätzung der N_2 -Bindung geführt.
3. Ohne **Referenzpflanzenfläche** wären die großen Standortunterschiede im 1. und 2. Schnitt nicht erkennbar und der N-Transfer nicht meßbar gewesen.
4. Die **N_2 -Bindung entsprach** auf beiden Standorten in der Summe aller Termine dem **Leguminosen-N**.
5. Die Menge an **Transfer-N** war für die N_2 -Bindung **vernachlässigbar** gering.
6. Die Ergebnisse zeigen, daß die N_2 -Bindung von KLG von geringen N_{min} -Mengen beeinflußt wird. Messungen für eine N-Bilanzierung eines Betriebes sollten deshalb die Spannbreite der Standorte berücksichtigen. Transfer-N war in diesem Fall ohne Bedeutung, sein Nachweis belegt aber, daß ein Verzicht auf diese Messung einen größeren Fehler verursachen kann. Ähnliches gilt für N_{min} . Ein Übertrag von Punktmessungen in die Fläche mit Hilfe von Schätzungen des Leguminosenanteils der Fläche erscheint zuverlässig durchführbar.

Danksagung

Die Forschungsaktivitäten des FAM werden durch das Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF 0339370) unterstützt. Die Pacht- und Betriebskosten der Versuchstation Klostersgut Scheyern trägt das Bayerische Staatsministerium für Unterricht und Kultur, Wissenschaft und Kunst.

Unser persönlicher Dank gilt den Mitarbeitern des I.S für Pflanzenernährung, die bei sämtlichen Arbeiten unverdrossen dabei waren. Hervorzuheben sind Thomas Festner, Ursula Briel und Christine Haas sowie die immer einsatzbereiten HiWis. Stellvertretend für diese sei hier Sabine Bous genannt.

Literatur

- BOLLER, B.C. (1988): Biologische Stickstoff-Fixierung von Weiß- und Rotklee unter Feldbedingungen. Landw. Schweiz, 1 (4), 251-253.
- BOLLER, B.C. und J. NÖSBERGER (1988): Influence of dissimilarities in temporal and spatial N-uptake patterns on ^{15}N -based estimates of fixation and transfer of N in ryegrass-clover mixtures. Plant and Soil, 112, 167-175.
- HAUSER, S. (1987): Schätzung der symbiontisch fixierten Stickstoffmenge von Ackerbohnen (*Vicia faba* L.) mit erweiterten Differenzmethoden. Dissertation Universität Göttingen, 175pp.
- LEDGARD, S.F. (1989): Nutrition, moisture and rhizobial strain influence isotopic fractionation during N_2 fixation in pasture legumes. Soil Biology and Biochemistry, 21 (1), 65-68.
- LEDGARD, S.F., J.R. SIMPSON, J.R. FRENEY und F.J. BERGERSEN (1985): Field evaluation of ^{15}N techniques for estimating nitrogen fixation in legume-grass associations. Australian Journal of Agriculture Research, 36, 247-258.
- MALLARINO, A.P., W.F. WEDIN, C.H. PERDOMO, R.S. GOYENOLA, und C.P. WEST (1990): Nitrogen transfer from white clover, red clover, and birdsfoot trefoil to associated grass. Agronomy Journal, 82, 790-795.
- SCHEINOST, A., W. SINOWSKI, K. AUERSWALD, H. FLESSA, M. KAINZ und W. HÄUSLER (1993): Karte der Bodentypen der Versuchsgüter Scheyern. Forschungsverbund Agrarökosysteme München (Hrsg.).
- SCHNOTZ, G. (1995): Stickstoff-Fixierungsvermögen mehrjähriger Leguminosen des Dauergrünlandes. Dissertation Universität Hohenheim, 128 Seiten.
- VILSMEIER, K. (1984): Bestimmung von Dicyandiamid, Nitrit und Nitrat in Bodenextrakten mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde 147 (2): 264-268.
- WATERER, J.G. und J.K. VESSEY (1993): Effect of low static nitrate concentrations on mineral nitrogen uptake, nodulation, and nitrogen fixation in field pea. Journal of Plant Nutrition, 16 (9), 1775-1789.
- YONEYAMA, T., K. FUJITA, T. YOSHIDA, T. MATSUMOTO, I. KAMBAYASHI, und J. YAZAKI (1986): Variation in natural abundance of ^{15}N among plant parts and in $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ fractionation during N_2 fixation in the legume-rhizobia symbiotic system. Plant and Cell Physiology 27 (5), 791-799.