

Klaus-Peter Götz

**Untersuchungen zur Aufnahme und Verteilung
von Stickstoff bei Körnerleguminosen**



Cuvillier Verlag Göttingen

Untersuchungen zur Aufnahme und Verteilung von Stickstoff bei Körnerleguminosen

Dissertation

**zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum agriculturalarum
(Dr. rer. agr.)**

eingereicht an der
**Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin**

von
Dipl. Ing. agr. Klaus-Peter Götz
geboren am 11. März 1955 in Berlin

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin:
Prof. Dr. J. Mlynek

Dekan der
Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät:
Prof. Dr. sc. agr. U. Nagel

Gutachter

1. Prof. Dr. H. Herzog
2. PD Dr. G. Ebert

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Mai 2004

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2006

Zugl.: Berlin, Univ., Diss., 2004

ISBN 3-86537-920-6

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2006

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2006

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-86537-920-6

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abstract.....	II
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Vorwort.....	V
1. EINLEITUNG.....	1
2. ZIELSTELLUNG.....	2
3. LITERATURÜBERSICHT ZU TECHNIKEN FÜR DIE N-QUANTIFIZIERUNG.....	3
3.1. EINSATZ VON ¹⁵ N-MARKIERTEN DÜNGEMITTELN UND VON ¹⁵ N-MARKIERTEN PFLANZEN.....	3
3.2. ¹⁵ N-MARKIERUNG VON PFLANZEN DURCH SPROSSAPPLIKATION.....	4
3.2.1. BLATT-APPLIKATIONS-TECHNIKEN.....	4
3.2.2. STÄNGEL-APPLIKATIONS-TECHNIKEN.....	5
4. ANGEWANDTE METHODEN DER ¹⁵ N-APPLIKATION UND UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN.....	7
5. DURCHGEFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN.....	11
5.1. AUSWIRKUNGEN DER N-VERSORGUNG AUF DEN N-HAUSHALT DER SOJABOHNE.....	11
5.1.1. METHODIK.....	14
5.1.2. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	16
5.2. EINFLUSS VON GENOTYP UND BEWÄSSERUNG AUF DIE ¹⁵ N-TRANSLOKATION WÄHREND DER SAMENFÜLLUNGSPHASE.....	24
5.2.1. MATERIAL UND METHODEN.....	25
5.2.2. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	27
5.3. VERGLEICH DER ¹⁵ N-TRANSLOKATION BEI SOJABOHNEN BEI WASSERDEFIZIT UNTER FELD- UND KLIMAKAMMERBEDINGUNGEN (A1).....	43
5.3.1. METHODIK.....	43
5.3.2. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	44
5.4. VERTEILUNG UND VERWERTUNG VON SPROSSAPPLIZIERTEM ¹⁵ N BEI KUHBOHNEN UNTER DEM EINFLUSS VON WASSERMANGEL (A2).....	52
5.4.1. GENOTYPISCHE UNTERSCHIEDE BEI KUHBOHNEN BEI DER ¹⁵ N-TRANSLOKATION AUS DER SPROSSBASIS.....	53
5.4.1.1. METHODIK.....	53
5.4.1.2. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	53
5.5. EINFLUSS VON WASSERDEFIZIT AUF DIE AUFNAHME UND VERTEILUNG VON ¹⁵ N AUS DEM BODEN (A3).....	55
5.6. EINFLUSS VON WASSERDEFIZIT AUF ERTRAGSPARAMETER UND DIE VERDAULICHKEIT VON SOJABOHNEN (A4).....	57
6. ZUSAMMENFASSUNG.....	58
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	68

Abstract

Nitrogen is quantitatively the most important nutrient for plant growth and development. Drought is a common stress factor in plant production with reducing effects on growth and yield. Simulations of plant growth and yield under different climatic conditions also require the quantification of nitrogen accumulation and distribution within the plant. The use of ^{15}N -dilution method is a suitable technique for such analysis. With this one could reflect on the accumulation or distribution of ^{15}N , where and which amount is stored.

The expansion on the knowledge and behaviour with regard to N-nutrition in Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) was the subject of this dissertation, which is a summarised version of referred publications. Furthermore, complete experiments for the methodological approach and results that in essentials are from congresses and are unpublished are outlined in separate chapters of the dissertation.

Through pulse labelling, ^{15}N uptake via the roots in relation to N-supply, the storage in organs, and also N_2 -fixation was quantified. The internal importance on how nitrogen via the stem base is translocated to different organs and used for protein synthesis could be assess within short periods using stem injection technique. This method was applied under controlled environments as well as on the field with optimal water supply and under water deficit conditions. Furthermore, the uptake capacity of nitrogen from deeper soil layers with respect to the available N-concentration was determined.

The results showed that nitrogen is directed primarily to the fast growing plant parts such as the young leaves and stems and latter to the pod walls and seeds. N-uptake was closely related to biomass formation. When the optimum demand of N by the organ was attained, excess N remained in the stem. The influence of water deficit on N-translocation and utilisation was different between species and genotypes, and was dependent on the developmental stage.

The effect of water deficit on the in situ digestibility of soybean organs has not been described in the literature. All yield parameters were lowered by water deficit, whereas the N disappearance in pod walls and seeds, and the DM disappearance of seeds were increased. This should be taken into consideration in calculating the ratio of optimum energy to nutrient utilisation.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stickstoff-Kreislauf-Kompartimente (Jackson & Row, 1973).

Abbildung 2: Die Assimilation von Ammonium aus verschiedenen N-Quellen.

Enzyme: 1 Glutamin-Synthetase, 2 Glutamat-Synthetase (GOGAT), 3 Transaminase (nach Mifflin, 1975, in Clark und Rosswall, 1981).

Abbildung 3: Prinzip der emissionspektrometrischen Analyse von ^{15}N (Krumbiegel und Bornhak, 1983).

Abbildung 4: Relative N-Akkumulation und Wachstumsperioden von Busch- und Sojabohne (nach George und Singleton, 1992).

Abbildung 5: Prinzipien der ^{15}N -Verdünnungs-Technik. (nach Peoples et al., 1989)

Abbildung 6: Verschiedene Situationen die bei der Anwendung der ^{15}N -Technik im Feld auftreten können (nach Peoples et al., 1989)

Abbildung 7: Blattflächenentwicklung von PI 416937 (dm^2 Pflanze $^{-1}$) bis zum Blütenansatz in Abhängigkeit von der N-Versorgung.

Abbildung 8: Verwertung von ^{15}N in Blättern (A), Stängeln (B), Wurzeln und Knöllchen (C) in Abhängigkeit von der N-Stufe. (* signifikante Differenz ($P < 0.05$) zwischen den N-Stufen, Tukey-Test)

Abbildung 9: Einfluss steigender mineralischer N-Versorgung bei PI 416937 auf die N_2 -Fixierung aus der Luft.

Abbildung 10: Blattwasserpotential bei PI und Hutcheson während des Stresses und nach der Wiederanfeuchtung während der Samenfüllungsphase (R5).

(Probenahme unmittelbar vor der ersten täglichen Wassergabe)

Abbildung 11: Spross-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson am (a) Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 12: Wurzel-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson am (a) Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 13: Samen-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson (a) am Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 14: N-Konzentration (in % der TM) verschiedener Organe von PI (A-D) und Hutcheson (E-H) am Stressende und 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler; unterschiedliche Buchstaben A, B entsprechen signifikanter Differenz zwischen ww und ww, und a, b zwischen ww und wd am 8. Tag bzw. am 12. Tag, $P < 0.05$, t-Test; ns: nicht signifikant)

Abbildung 15: Gesamtblattfläche von PI und Hutcheson ein Tag nach dem Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung; *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 16: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Blätter an der Gesamttrockenmasse der Blätter und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Blätter (in % des Gesamt ^{15}N der Blätter) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 17: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Stängel an der Gesamttrockenmasse der Stängel und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Stängel (in % des Gesamt ^{15}N der Stängel) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 18: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Hülsen an der Gesamttrockenmasse der Hülsen und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Hülsen (in % des Gesamt ^{15}N der Hülsen) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson. (Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 19: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Samen an der Gesamttrockenmasse der Samen und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Samen (in % des Gesamt ^{15}N der Samen) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Abbildung 20: Abhängigkeit der kumulativen ^{15}N -Menge von der Zeit und den Organen bei der Sojabohne Eris unter Feldbedingungen in Berlin während der Samenfüllungsphase (R5).

Abbildung 21: ^{15}N -Gehalt (μg) bei PI (A, Stängel, B, Blätter) und Holladay (C, Stängel, D, Blätter) 1 und 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation unter Feldbedingungen. (Mittelwerte \pm Standardfehler, $n = 5$, North Carolina, Blüte (R2), unterschiedliche Buchstaben a:b entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 1, unterschiedliche Buchstaben A:B entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 4)

Abbildung 22: ^{15}N -Konzentration ($\mu\text{g } ^{15}\text{N}$ pro g Trockenmasse) in den Blättern von bei PI (A) und Holladay (B) 1 und 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation unter Feldbedingungen.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, $n = 5$, North Carolina, Blüte (R2), unterschiedliche Buchstaben a:b entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 1, unterschiedliche Buchstaben A:B entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 4)

Abbildung 23: ^{15}N -Konzentration in Blättern unter Feldbedingungen (Blüte, R2) und unter Klimakammerbedingungen (Samenfüllungsphase, R5) 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation.

Abbildung 24: ^{15}N -Konzentration in Stängeln unter Feldbedingungen (Blüte, R2) und unter Klimakammerbedingungen (Samenfüllungsphase, R5) 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Begriffe, Symbole und Einheiten in der ^{15}N -Tracertechnik.

Tabelle 2: (A) Trockenmasse (TM, g) und (B) N-Gehalt (in % der TM) verschiedener Organe bei unterschiedlicher N-Versorgung (Mittelwerte \pm Standardfehler, n=9)

Tabelle 3: (A) ^{15}N -Gehalt (mg) und (B) ^{15}N -Konzentration ($\text{mg}^{15}\text{N g}^{-1}$ TM) und relative Verteilung des aufgenommenen ^{15}N (Werte in Klammern) in verschiedenen Organen 4 Tage nach der ^{15}N -Gabe (Mittelwerte \pm Standardfehler, n=9)

Tabelle 4: Tägliches Angebot an Nährlösung (ml) und Wasser (ml) bei PI und Hutcheson bei den Kontrollpflanzen (ww) und bei Wasserdefizit (wd).

Tabelle 5: Varianzanalysen (GLM-Univariat) verschiedener abhängiger Variablen mit drei Faktoren und deren Wechselwirkungen (Signifikanzen von F; $P < 0.05$) 4 Tage nach Stressende, am Tag 12.

Tabelle 6: ^{15}N -Gehalt (A, mg) und ^{15}N -Gehalt in der TCE unlöslichen Fraktion (B, mg) am 8. Tag (Stressende) und am 12. Tag (4 Tage nach Stressende) in verschiedenen Organen bei PI und Hutcheson bei der Kontrolle (ww) und der Behandlung (wd).

Tabelle 7: Trockenmasse (TM, g) und N-Gehalt (in % der TM) verschiedener Organe der Sojabohne Eris während der Samenfüllungsphase.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, n=4, Berlin, R5)

Tabelle 8: (A) Trockenmasse (TM, g pro Pflanze) und (B) N-Gehalt (in % der TM) in Blättern und Stängeln in verschiedenen Fraktionen (Mittelwerte \pm Standardfehler von 2 Erntetagen, Tag 1 und 4, n=10, Einzelpflanzen, North Carolina, Blüte, R2)

(unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz, $P < 0.05$, zwischen den Fraktionen - Tukey-Test)

Tabelle 9: Varianzanalysen (GLM-Univariat) verschiedener abhängiger Variablen mit drei Faktoren und deren Wechselwirkungen bei verschiedenen Kuhbohnen

(Signifikanzen von F; $P < 0.05$)

Tabelle 10: Seitensprossanteil (%) an der Gesamttrockenmasse (TM) der Blätter und Stängel und Seitensprossanteil des ^{15}N (in % des Gesamt ^{15}N der Blätter und Stängel) verschiedener Genotypen der Kuhbohne. (Mittelwerte, unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz, VA)

Vorwort

Diese Dissertation wurde auf der Grundlage von veröffentlichten Schriften in referierten Zeitschriften zusammengefaßt (Artikel A1 - A4). Der Inhalt dieser Artikel ist durch eine kurze Zusammenfassung dargestellt. Weiterhin durchgeführte Untersuchungen von methodischer Bedeutung und Ergebnisse, die im Wesentlichen bei Kongressen vorgestellt wurden und unvollständig veröffentlicht sind (a, b, A1, A2), wurden in eigenen Kapiteln der Dissertation dargestellt.

a) Götz, K.-P., H. Herzog, R. P. Patterson and C.D. Raper Jr.
Influence of irrigation on distribution and utilisation of ^{15}N in soybeans. 2000
3rd International Crop Science Congress, Hamburg

b) Patterson, R. P., K.-P. Götz, H. Herzog and C.D. Raper Jr.
Influence of irrigation on dry matter production and distribution in soybean. 2000
3rd International Crop Science Congress, Hamburg

Artikel 1 (A1): Götz, K.-P., H. Herzog, R. P. Patterson and C.D. Raper Jr.
Comparison of ^{15}N translocation of soybeans under water deficit in field and growth chamber conditions. 2001
In: *Fourth European Conference on Grain Legumes*, 8-12 July, Cracow, Poland 306-307, (Ed. AEP), Paris, France.

Artikel 2 (A2): Götz, K.-P. and H. Herzog
Distribution and utilisation of ^{15}N in cowpeas injected into the stem under influence of water deficit. 2000
Isotopes in Environment and Health Studies, 36, 111-121

Artikel 3 (A3): Herzog, H. and K.-P. Götz
Influence of water limitation on uptake and distribution of nitrogen in soybeans monitored by soil injected ^{15}N . 2003
Journal of Agronomy and Crop Science, 190, 161-167

Artikel 4 (A4): Götz, K.-P. und H. Herzog
Einfluss von Wasserdefizit auf Ertragsparameter und die Verdaulichkeit von Sojabohnen. 2003
UFOP-Schriften, Heft 20, 267-276

1. Einleitung

In der Pflanzenernährung liegt für Stickstoff ein besonders hoher Bedarf vor. Durch Stickstoff-Düngung, die sich aus den pflanzenbaulichen Ansprüchen ergibt, wird der Ertrag am stärksten beeinflusst. Die Effektivität der N-Düngung ist u. a. von den Standortbedingungen, der Form Düngers und dem Zeitpunkt der Applikation, der Kulturart und den Wasserverhältnissen abhängig (Geisler 1988).

Die im Vergleich zu den Getreidearten in den Samen von Leguminosen vorhandenen höheren Gehalte an Proteinen stellen bedeutende Eiweissquellen für die menschliche Ernährung und für die Erzeugung tierischer Proteine dar. Allerdings sind die Erträge bei Leguminosen im Durchschnitt weltweit niedriger als bei Getreide und durch abiotische und/oder biotische Einflussfaktoren größeren Schwankungen unterworfen.

In verschiedenen Gebieten in Asien, Afrika, Ozeanien, Nordamerika und Europa treten Niederschläge zunehmend seltener oder periodisch auf, und da auch Böden mit niedriger Wasserspeicherkapazität weit verbreitet sind, ist Wassermangel ein häufig auftretender abiotischer Stressfaktor mit reduzierender Wirkung auf Wachstum und Ertrag.

Die N-Akkumulation ist bei Leguminosen eng mit der Biomasse- und Samenentwicklung korreliert. Eine bessere Charakterisierung sensitiver Phasen während der Entwicklung sollte dazu beitragen, Handlungsweisen abzuleiten, um Erträge zu stabilisieren bzw. zu steigern, aber auch um den Einfluss von Stress zu verringern. Dazu ist es auch notwendig, neue Informationen zum N-Haushalt der Pflanzen zu gewinnen.

Die Erweiterung der Kenntnisse des Verhaltens bezüglich des N-Haushaltes der Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.), einer der bedeutendsten Pflanzen für die Gewinnung von Öl und Protein, und der Kuhbohne (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), einer wichtigen Leguminose in der Sub-Sahara-Region Afrikas, ist Gegenstand der vorliegenden Zusammenfassung von eigenen Arbeiten.

Für die quantitative Bestimmung der Aufnahme, der Verteilung und Verwertung des Stickstoffs innerhalb der Pflanze und unter verschiedenen Umweltbedingungen fand dabei die ¹⁵N-Tracertechnik Anwendung.

2. Zielstellung

Zunächst sollte die N-Aufnahme, N-Verteilung und N-Verwertung in Abhängigkeit von mineralischer N-Versorgung bei der Sojabohne bestimmt werden. Anhand von ^{15}N sollte außerdem ein einfacher Ansatz genutzt werden, um Veränderungen der Stickstoff-Fixierung zu quantifizieren.

Ein weiteres Ziel war es, eine Applikationsmethode zu entwickeln, die es ermöglicht, sehr geringe Mengen an ^{15}N in den Stängel ausgewählter Leguminosen zu injizieren, um die Translokation zu beliebigen Entwicklungsphasen der Pflanzen in die jeweils vorhandenen Organe (Blätter, Stängel, Wurzeln, Hülsen, Samen), bei optimaler Bewässerung und unter dem Einfluss von restriktiver Bewässerung oder Dürre, zu bestimmen. Diese Methode sollte unter kontrollierten Bedingungen, aber auch im Feldversuch anwendbar sein.

Bisher stehen kaum Informationen bei Sojabohnen zur N-Aufnahme und deren Verteilung aus tieferen Bodenschichten zur Verfügung, die für die Nährstoffversorgung bei Austrocknung oberer Bodenschichten von Bedeutung sein kann. Daher wurde nach Tiefenapplikation von ^{15}N die Wiederfindung und die Verlagerung in den oberirdischen Sprossbereich bei optimaler Bewässerung und bei Wasserdefizit untersucht. Für derartige Untersuchungen sollten außerdem Empfehlungen hinsichtlich der zu wählenden ^{15}N -Menge und ^{15}N -Konzentration, sowie für die Probensammlung abgeleitet werden.

Der Effekt von Wassermangel auf die Zusammensetzung verschiedener Pflanzenorgane der Sojabohne und auf die Verdaulichkeit im Wiederkäuerorganismus ist bisher in der Literatur nicht beschrieben. In einem Experiment sollte der Einfluss eines Bodenwasserdefizits auf die Ertragsstruktur untersucht werden, und anschließend der in situ Abbau von Trockenmasse und Stickstoff von Blättern, Hülsen und Samen quantifiziert werden.

Außerdem sollte erreicht werden, die für diese Art der Untersuchungen notwendigen Mengen an ^{15}N -Tracern - bei der Analyse von ^{15}N mittels Emissionsspektrometrie - zu minimieren, um die Kosten für hoch angereicherte und damit teure ^{15}N -Verbindungen zu verringern.

3. Literaturübersicht zu Techniken für die N-Quantifizierung

3.1. Einsatz von ^{15}N -markierten Düngemitteln und von ^{15}N -markierten Pflanzen

Eine Optimierung der Produktion von Nahrungs- und Futtermitteln lässt sich nur mit erweiterten Kenntnissen über die Prozesse im System Pflanze - Boden fortführen. Die ^{15}N -Isotopen-Technik ist dazu ein geeignetes und effektives Forschungsmittel, denn es ermöglicht Untersuchungen und Kalkulationen von N-Transformationsraten (Mineralisation, Nitrifikation, Immobilisation), N-Bilanzen, der Verlagerung von Düngemittelstickstoff im Boden, der gasförmigen N-Emission vom Boden in die Atmosphäre, der N-Aufnahme von Düngemitteln unterschiedlicher Stickstoffformen, Pflanzenrückständen und Exkrementen aus der Tierhaltung, der N_2 -Fixierung und N-Verteilungsdynamik in Pflanzen in Feld und Laborexperimenten (Abb. 1).

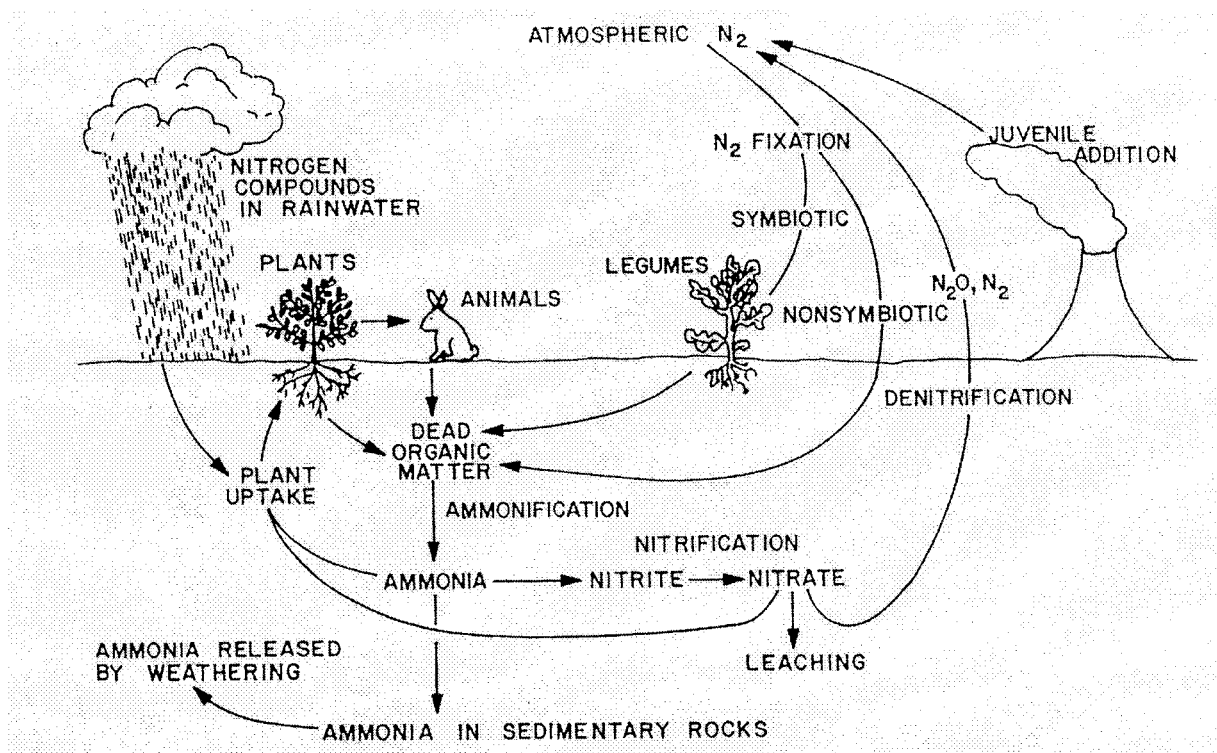


Abbildung 1: Stickstoff-Kreislauf-Kompartimente (Jackson & Row, 1973).

Für die Bearbeitung der jeweiligen Fragestellung stehen verschiedene Verbindungen, wie z.B. $^{15}\text{NH}_3$ und $^{15}\text{N}_2$ als Gase (Merbach et al., 2000), sowie am Ammonium ($^{15}\text{NH}_4^+$) (George und Singleton, 1992, Pausch et al., 1996, Viera-Vargas et al., 1995) und/oder am Nitrat markierte Verbindungen ($^{15}\text{NO}_3^-$, $^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$) (Blankenau et al., 2000, Bradbury et al., 1993, Clough et al., 1999, Crozier et al., 1998, Tan et al.,

2000), aber auch ^{15}N -Harnstoff (Chotte et al., 1998) und ^{15}N -markierte Aminosäuren zur Verfügung. Die ^{15}N -Anreicherung kann von 1 Atom-% bis zu 99 Atom-% betragen. Die Eignung verschiedenster ^{15}N -Applikations-Methoden-und Formen ist dabei oft ebenso Inhalt von Forschungsarbeiten, wie z. B. der N-Metabolismus.

Bei der ^{15}N -Verdünnungsmethode, mit der z. B. Chalk (1996) die N_2 -Fixierung verschiedener Leguminosen kalkulierte, setzt man dem Boden eine bekannte Menge einer ^{15}N -markierten Substanz zu, und analysiert die Pflanzen auf den Gehalt des aufgenommenen ^{15}N . Die ^{15}N -markierte Substanz wurde nun durch den Anteil an unmarkiertem ^{14}N in ihrer Häufigkeit ‚verdünnt‘. Bei dieser Vorgehensweise ist zu beachten, dass eine zu große Verdünnung zu einer Abnahme der ^{15}N -Markierung bis zu dem Bereich der natürlichen Häufigkeit führt, und zuverlässige Messungen dann nur mittels Massenspektrometrie möglich sind. Im Boden kann die ^{15}N -Verdünnungsmethode durch biologische und chemische Reaktionen beeinflusst werden. Ihre Genauigkeit basiert auf geringen Unterschieden in der räumlichen und zeitlichen Verteilung von ^{15}N im Boden.

Im Gegensatz zu den kommerziell gehandelten ^{15}N -markierten chemischen Verbindungen sind ^{15}N -markierte Pflanzen, oder deren Organe nicht erhältlich.

Die in den Tracer-Studien anfallenden ^{15}N -markierten Pflanzen und Organe können wiederum genutzt werden, um Prozesse wie Mineralisierung (Bottner et al., 1998), Aufnahme und Immobilisierung von N organischer Herkunft zu verfolgen, aber auch um Vergleiche mit den Ergebnissen bei mineralischer ^{15}N -Applikation anzustellen (Breland und Hansen, 1998, Khan et al., 2002, Viera-Vargas et al., 1995).

3.2. ^{15}N -Markierung von Pflanzen durch Sprossapplikation

Eine direkte Möglichkeit der ^{15}N -Markierung von Pflanzen besteht in der Sprossapplikation von in Lösung befindlichem ^{15}N . Hierbei kann zwischen der Aufnahme über das Blatt oder über den Stängel unterschieden werden.

3.2.1. Blatt-Applikations-Techniken

Bei der Blatt-Applikation wurden die Lösungen mittels Sprühflasche (*Glycine max*) (Vasilas et al., 1980), oder durch das Auftragen weniger Mikroliter (20 μl bis 100 μl) in Form mehrerer Tropfen auf die Blattoberfläche (*Glycine max*, *Solanum tuberosum*) (Morris und Weaver, 1983, Witte et al., 2002), aber auch durch ‚Vernebeln‘ (5 bis 20 ml) innerhalb eines ‚Polyethylenfolien-Zeltes‘ verabreicht, und so die Pflanzen mit ^{15}N aber auch mit ^{13}C markiert (*Zea mays*) (Schmidt und Scrimgeour, 2001).

‚Verwehungen‘ während des Sprühvorgangs, unkontrolliertes Auftreten flüchtiger Anteile, die Kontamination des Bodens, Verluste durch Niederschläge und ‚Verbrennungen‘ des Blattgewebes bei zusätzlich hoher Temperatur und Einstrahlung sind einige Faktoren, die bei Applikationen dieser Art in unterschiedlichem Maß auftreten können.

MacKown und Sutton (1995) modifizierten z. B. eine ‚Reverse-flap-technique‘ zur Infusion über die laterale Blattvene bei *Nicotica tabacum*, um den Kontakt der ¹⁵N-haltigen Lösung mit dem Blattgewebe zu verhindern.

Eine weitere Form der ¹⁵N-Aufnahme über das Blatt besteht durch das Eintauchen des natürlich gewachsenen Blattes, oder einer durch Schnittform erzeugten ‚Spitze‘ aus der Blattfläche (mit oder ohne Blattvene), oder des Blattstieles in ein ¹⁵N vorrätig haltendes Reservoir. Diese Technik wurde an verschiedenen Kulturarten wie *Vicia faba*, *Vigna radiata*, *Cajanus cajan*, *Cicer arietinum*, *Triticum arvestivum*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lolium perenne* praktiziert (Høgh-Jensen und Schjoerring, 2000, Khan et al., 2002).

In Abhängigkeit von der Anreicherung der ¹⁵N-Lösung, der Häufigkeit der ‚Blatt-Fütterung‘ und der vorhandenen Isotopenmeßtechnik kann bei dieser Methode nicht nur der interne ¹⁵N-Status, sondern auch die Exkretion N-haltiger Metaboliten und deren Wechselwirkungen mit dem die Wurzeln umgebenden Raum bestimmt werden.

3.2.2. Stängel-Applikations-Techniken

Die Methode der Injektion von Flüssigkeiten in den Stängel wurde primär für Untersuchungen mit Mikronährstoffen metallischer Herkunft angewandt. Es konnte dabei nachgewiesen werden, dass die Zusammensetzung von markiertem Zink oder Kupfer in Proteinfractionen aus Weizen nach der Stängel-Injektion im Vergleich zu den Kontrollpflanzen und Pflanzen, die hydroponisch kultiviert wurden, sehr ähnlich war (Grusak, 1997).

Bei der Injektion in den Stängel kommt es durch den aufwärtsgerichteten Transpirationsstrom über das Xylem zur Verlagerung zu den Pflanzenorganen, oder durch Diffusion oder Transport zum Erscheinen im Phloem, dem abwärtsgerichteten Assimilatstrom. Die chemische Form und die Injektionsmenge, die begrenzt ist, beeinflussen den Erfolg der Anwendung der Stängel-Injektion bei einmaliger ‚Puls-Markierung‘.

Beim Implantieren eines Doctes aus saugfähigem Material in die Sprossbasis, der sogenannten ‚Baumwoll-Docht-Methode‘, in enger Verbindung mit einem Reservoir mit gelöstem ^{15}N , kommt es dagegen zu einem kontinuierlichen Einstömen in den Stoffkreislauf der Pflanzen. Durch diese Methode wurden auch neue und bemerkenswerte Kenntnisse zur Rhizodeposition von Stickstoff bei Leguminosen erlangt (Russel und Fillery, 1996).

Serraj et al. (1999) nutzten eine Infusionspumpe (Flussrate: 0.5 ml h^{-1}) mit drei Kanülen, die in den oberen drei Internodien des Hauptsprosses fixiert waren, um gelöste Ureide über einen mehrtägigen Zeitraum in den Pflanzenorganismus zu infundieren.

Bei der Auswahl der Applikationsmethode ist es in jedem Fall erforderlich, die Mechanismen und Kreisläufe des interessierenden Nährstoffs im Zusammenhang mit den zu untersuchenden Pflanzen zu berücksichtigen

4. Angewandte Methoden der ^{15}N -Applikation und Untersuchungstechniken

Stickstoff wird von Leguminosen unabhängig von der Form, in der er aufgenommen wurde (NO_3^- , NH_4^+ , N_2), zu NH_4^+ bzw. NH_3 reduziert (Abb. 2), und innerhalb der Pflanze dann in Form von Aminosäuren, Amiden, Aminen, organischen N-Verbindungen, aber z. T. auch als Peptide und Alkaloide transportiert. Über weitere Synthesewege entstehen hieraus hoch molekulare Fraktionen, wie Proteine (Baustoff, Reserve- und funktionelles Eiweiß), Nucleinsäuren und Vitamine.

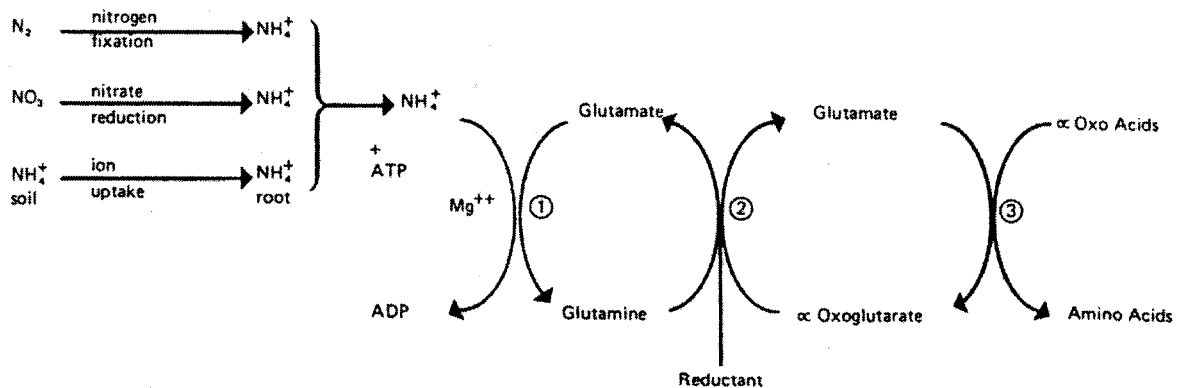


Abbildung 2: Die Assimilation von Ammonium aus verschiedenen N-Quellen. Enzyme: 1 Glutamin-Synthetase, 2 Glutamat-Synthetase (GOGAT), 3 Transaminase (nach Mifflin, 1975, in Clark & Rosswall, 1981).

Diese zentrale Stellung des Ammoniums im N-Metabolismus war der Grund für die Auswahl von ^{15}N markierten Ammonium-Salzen für die durchgeführten Untersuchungen. Anwendung fand $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ mit 96.4 Atom-% ^{15}N und $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ mit 95.0 Atom-% ^{15}N (Chemotrade GmbH, Leipzig).

Eine Auswahl an Begriffen, Symbolen und Einheiten (Faust et al., 1981), die bei der ^{15}N -Tracertechnik verwendet werden, sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1: Begriffe, Symbole und Einheiten in der ^{15}N -Tracertechnik.

Symbol	Bezeichnung	Einheit
a	^{15}N -Häufigkeit	1
a'	^{15}N -Exzeshäufigkeit	1
a ₀	natürliche ^{15}N -Häufigkeit (0.366 Atom-%)	1
m	Masse eines Elementes oder einer Verbindung	g
m (15)	^{15}N -Masse	g
m (15)'	^{15}N - Exzessmasse	g
m _N	Stickstoffmasse	g
M	Molmasse	g pro Mol
z	Anzahl der N-Atome (markiert)	1

Um die Aufnahme von ^{15}N markiertem Ammonium über die Wurzeln in Abhängigkeit von der N-Versorgung (2, 4 und 8 mM N), die Verlagerung in die Organe, aber auch um die N_2 -Fixierung anhand von ^{15}N zu quantifizieren (siehe Kapitel 5.1), erhielten die Pflanzen einmalig 7, 14 bzw. 28 mg ^{15}N in Form von $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ mit 96.03 Atom-% ^{15}N . Da die Zone der ^{15}N -Anreicherung mit zunehmender Tiefe unter Feldbedingungen abnimmt (siehe Abb. 6a-c), wurde die Tracermenge in 500 ml Flüssigkeit verabreicht, um zum Zeitpunkt der Pulsmarkierung eine gleichmäßige Verteilung über den gesamten durchwurzelteten Raum zu erzielen. Dazu wurden 156.5, 313.0 bzw. 626.0 mg $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ in 2 L deionisiertem Wasser gelöst.

Die interne Bedeutung des die Sprossbasis ‚erreichenden Stickstoffs‘ und von hier aus in verschiedene Organe translozierten N lässt sich anhand von Spross-Applikationen bewerten. Dazu wurden 1.509 g $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ mit 94.63 Atom-% ^{15}N mit deionisiertem Wasser im Meßkolben auf 10 ml aufgefüllt (siehe Kapitel 5.2 bis 5.4). Nach der Einteilung in 2 ml Portionen wurden diese bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$ bis zum Verbrauch aufbewahrt. Die Injektion von 25 μl entsprach dann einer Applikationsmenge von 1 mg ^{15}N . Sie erfolgte mittels Mikroliterspritze (Nadeldurchmesser: 330 μm) lateral in die Stele im Bereich der Sprossbasis.

Um von Wurzeln die Kapazität der N-Aufnahme aus tieferen Bodenschichten zu bestimmen, wurden für Tiefen-Applikationen (siehe Kapitel 5.5) 0.961 g (500 ppm ^{15}N ; 10 mg ^{15}N pro 20 ml) bzw. 3.846 g (2000 ppm ^{15}N ; 40 mg ^{15}N pro 20 ml) $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ mit 94.63 Atom-% ^{15}N in jeweils 0.5 L deionisiertem Wasser gelöst. 20 ml dieser Lösung wurden mit einer Injektionsspritze aufgenommen und horizontal in der Mitte von Röhrengefäßen über den gesamten Durchmesser (16 cm) gleichmäßig verteilt.

Nach der Probenahme wurden die Organe aller Untersuchungen 48 h bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, mit einer Kreuz-Schlagmühle (Fa. Culatti, Typ DFH 48) gemahlen (Siebfraktion $\leq 0.5\text{ mm}$) und der Stickstoff nach dem Kjeldahl-Verfahren bestimmt. Nach dem Aufschluss mit konzentrierter Schwefelsäure (plus Katalysator) zu Ammonium, wird nach Alkalisierung durch Wasserdampfdestillation das freigesetzte Ammoniak überdestilliert, in 20 ml einer Vorlage mit Borsäure und Tashiro-Indikator aufgefangen und durch Titration mit Salzsäure quantitativ bestimmt. Nach dem Einengen der Vorlage im Trockenschrank bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ konnte die ^{15}N - Bestimmung erfolgen.

Die Bestimmung der relativen Häufigkeit des stabilen Stickstoffisotops ^{15}N wird bei der Isotopenanalyse mit dem Massenspektrometer oder mit optischen Geräten an molekularem Stickstoff vorgenommen.

Die emissionsspektrometrische ^{15}N -Analyse beruht auf einem optischen Isotopieeffekt, d. h. auf der Wellenlängenverschiebung von Emissionsbanden des Elektronenschwingungsspektrums der isotopen Stickstoffmoleküle. Dieses Spektrum entsteht, wenn im Hochvakuum befindlicher gasförmiger Stickstoff durch Hochfrequenz bei einer Betriebsspannung von 680 V zur Lichtemission angeregt wird. Das Stickstoffmolekül nutzt dabei die ihm zugeführte Energie zum Anheben von Elektronen auf Orbitale höheren Energiegehalts. Beim Übergang des Moleküls von diesem angeregten (energiereichen) Zustand in den ursprünglichen Energiezustand wird Licht emittiert, dessen Anteil an Schwingungsenergie stark von der Masse der beteiligten Atome abhängt.

Die ^{15}N -Analysen wurden mit dem ^{15}N -Analysator ISONITROMAT, Modell 5200, Fa. Statron, Fürstenwalde, Spree, durchgeführt. Dieses Gerät arbeitet nach dem Prinzip der emissionsspektrometrischen Isotopenanalyse mit chemischer Aufarbeitung im Gerät.

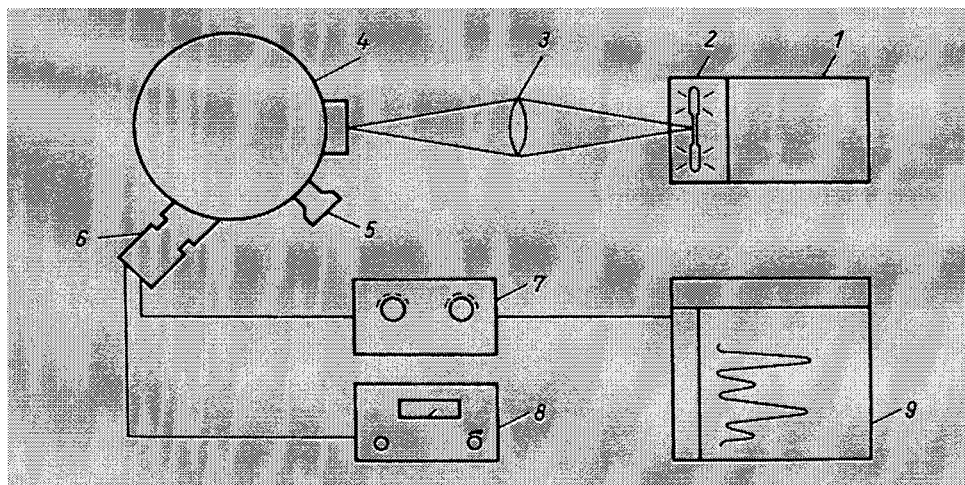


Abbildung 3: Prinzip der emissionsspektrometrischen Analyse von ^{15}N (Krumbiegel und Bornhak, 1983).

Der in Form einer Ammoniumchloridlösung (pH-Wert 1 bis 7) vorliegende Stickstoff der Messprobe, mit einer Konzentration zwischen 200 und 1000 $\mu\text{g N ml}^{-1}$ (Optimum 400 $\mu\text{g N ml}^{-1}$), wird durch Oxydation mit Natriumhypobromit in alkalischer Lösung zu N_2 umgesetzt. Das Gas wird mittels Hochfrequenz-Generator (1) (Abb. 3) im Entladungsröhrchen (2) zur Lichtemission angeregt. Anschließend wird das Licht nach Passieren einer Kondensierlinse (3) im Spiegel-Monochromator (4) in seine Spektralanteile zerlegt. Der interessierende Spektrenausschnitt wird bei 297.07 und 297.68 nm abgetastet, den dann ein Sekundärelektronen-Vervielfacher (6) in ein analoges elektrisches Signal umsetzt, welches mittels Rechner zum Endergebnis (Atom-% ^{15}N) (9)

verarbeitet wird. Die relativen Intensitäten, d.h. das Verhältnis der registrierten Peakhöhen ist proportional den Häufigkeiten der Isotopen Moleküle $^{14}\text{N}_2$, $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ und $^{15}\text{N}_2$.

Der Messbereich des ^{15}N -Analytors liegt zwischen 0.365 und 30 Atom-% ^{15}N , mit einem relativem Fehler des Messergebnisses von $1.5\% \pm 0.01$ Atom-% ^{15}N .

Die bei den Ergebnissen angegebenen ^{15}N -Werte sind Exzeshäufigkeiten, die erhalten werden, wenn man vom Zahlenwert der relativen ^{15}N -Häufigkeit den konstanten Wert der natürlichen ^{15}N -Häufigkeit a_0 subtrahiert: $a' = a - a_0$ ($a_0 = 0.366$ Atom-% ^{15}N). Die Berechnungen der ^{15}N -Exzessmasse der analysierten Proben (1), der verwendeten Tracer ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$) (2) und der Verwertung von ^{15}N in Pflanzenorganen (3) wurden nach den folgenden Gleichungen (Krumbiegel und Bornhak, 1983) vorgenommen:

$$(1) \quad m(15)' = \frac{15 * a' * m_N}{1400 + a'}$$

$$(2) \quad m(15)' = \frac{15 * z * a' * m}{100 M}$$

$$(3) \quad \text{Verwertung (\%)} = \frac{\% \text{ NvT} * m_N}{\text{Rate des applizierten Tracer}}$$

$$\text{Prozent N vom Tracer (\% NvT)} = \frac{a' \text{ Probe} * 100}{a' \text{ Tracer}}$$

5. Durchgeführte Untersuchungen

5.1. Auswirkungen der N-Versorgung auf den N-Haushalt der Sojabohne

Bei Leguminosen erfolgt die N-Versorgung auf zwei unterschiedlichen Wegen. Über die Wurzeln durch Aufnahme von mineralischem N aus dem Boden und durch die Stickstoff-Fixierung in Symbiose mit Knöllchenbakterien der Gattung *Rhizobium*.

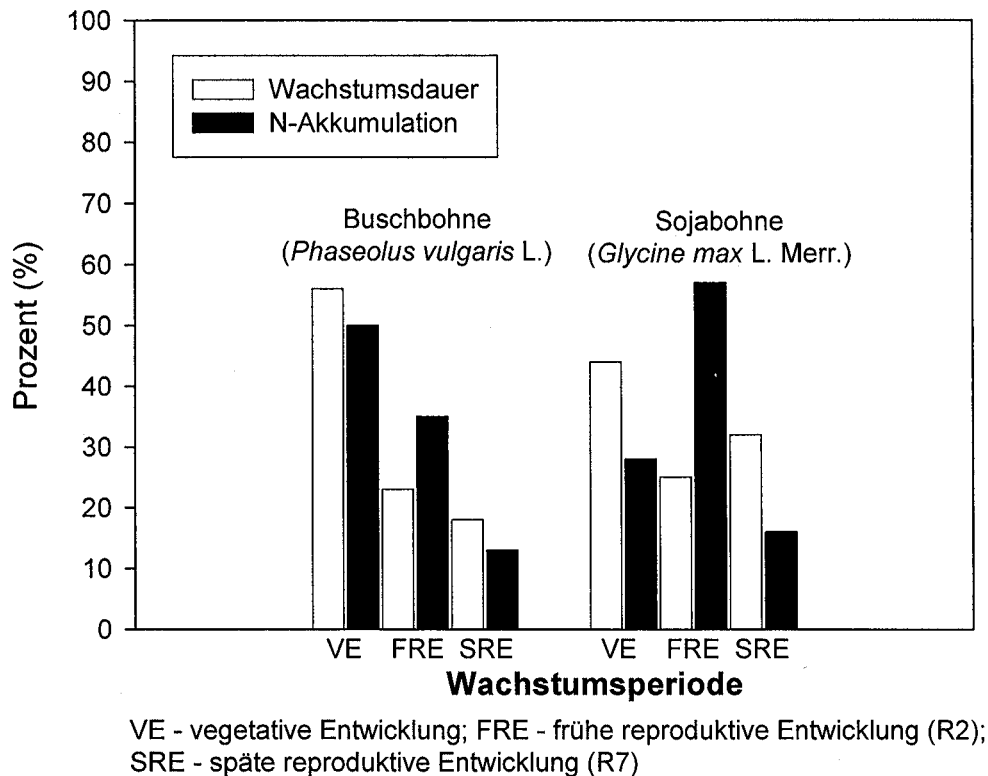


Abbildung 4: Relative N-Akkumulation und Wachstumsperioden von Busch- und Sojabohne (nach George und Singleton, 1992).

Bei der N-Akkumulation treten Unterschiede zwischen den Spezies und während der Entwicklungsphasen auf. So wurden bei der Sojabohne in der frühen reproduktiven Entwicklung, die etwa 25 % der Wachstumsdauer ausmacht, als Maximum mehr als 50 % des insgesamt aufgenommenen Stickstoffs akkumuliert (Abb. 4). Im Vergleich dazu akkumuliert die Buschbohne in diesem Zeitraum nur etwa ein Drittel des insgesamt aufgenommenen Stickstoffs. Das Maximum der N-Akkumulation mit etwa 50 % lag bei der Buschbohne bereits in der vegetativen Entwicklung.

Ab der Blüte kann eine Abnahme der symbiontischen N₂-Fixierung dazu führen, dass nicht immer eine bedarfsdeckende N-Versorgung der pflanzlichen Organe gesichert ist (Voisin et al., 2002).

Eine effizientere N-Aufnahme aus der Bodenlösung und eine verlängerte Aktivität der N₂-Fixierung könnten dazu beitragen die hohen Anforderungen der N-Versorgung, speziell während der generativen und reproduktiven Phase, durch erhöhte N-Akkumulation sicher zu stellen. Dazu ist es auch notwendig, ein besseres Verständnis der Assimilatverteilung zwischen Spross und Wurzeln in Bezug auf die N-Versorgung zu erlangen.

Die Bestimmung des Anteils des von den Rhizobien aus der Luft fixierten N₂ kann durch verschiedene Methoden erfolgen. Die einfachste Methode ist die N-Differenz-Methode. Sie basiert auf der Annahme, dass eine Leguminose und eine Kontrollpflanze die gleiche Menge an N aus dem Boden enthalten. Voraussetzungen dafür wären: a) die gleiche Fähigkeit den N aus dem Boden zu extrahieren, b) das gleiche Bodenvolumen mit Wurzeln zu durchdringen, c) den N über den gleichen Zeitraum zu akkumulieren und d) dass die Verteilung von N zwischen Spross und Wurzeln bei beiden Pflanzentypen ebenfalls gleich ist. Als nicht N₂-fixierende Pflanzen kommen dabei entweder eine Nicht-Leguminose, eine nicht inokulierte Pflanzen derselben Art oder ein nicht nodulierender Genotyp in Frage (Peoples et al., 1989).

Auf der Ebene der natürlichen ¹⁵N-Häufigkeit, bei massenspektrometrischer Messung, basieren die Berechnungen auf der unterschiedlichen Isotopen Zusammensetzung des pflanzenverfügbaren N aus dem Boden und des atmosphärischen N₂ im Vergleich zu einer nicht N₂-fixierenden Referenzpflanze.

Bei der ¹⁵N-Verdünnungs-Methode erfolgt die Berechnung nach Applikation und Aufnahme von ¹⁵N der N₂-fixierenden Pflanze im Vergleich zu einer nicht N₂-fixierenden Referenzpflanze (Abb. 5) (Chalk, 1996). Die Verdünnung des bodenbürtigen N durch atmosphärischen N₂ ergibt dabei einen geringeren Anteil an ¹⁵N in der Leguminose als in der Referenzpflanze.

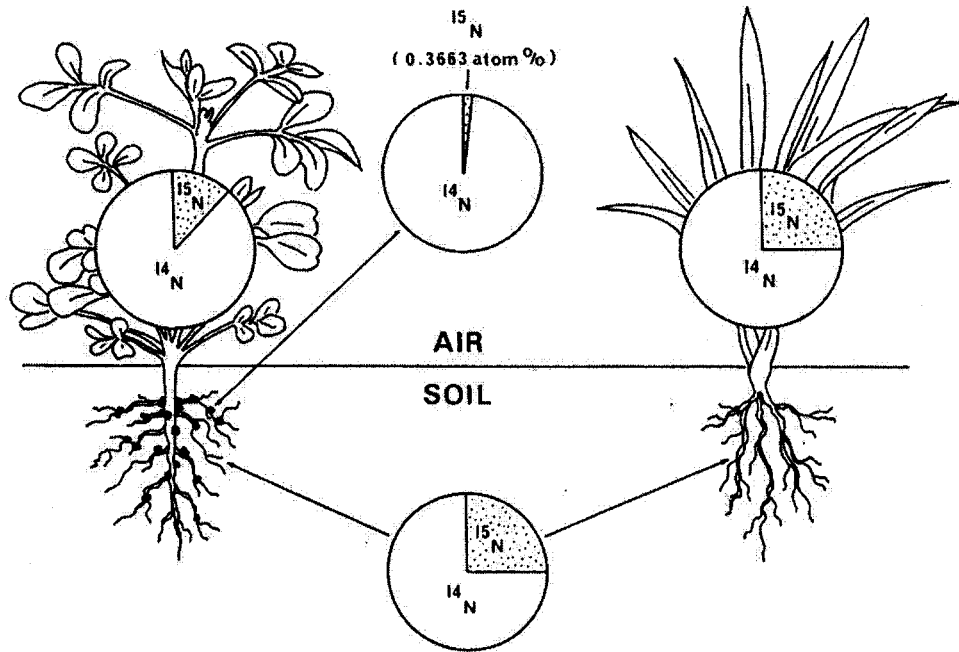


Abbildung 5: Prinzipien der ^{15}N -Verdünnungs-Technik (Peoples et al., 1989).

Die Genauigkeit der ^{15}N -Methoden wird von verschiedenen Bedingungen beeinflusst. Reiter et al. (2002) fassten hierzu die von verschiedenen Autoren erarbeiteten bedeutsamen und vielfältigen Voraussetzungen und Einflussfaktoren zusammen. Dazu gehören z. B. die Art der Referenzpflanze, die quantitativ und isotopisch identische Extraktion der Referenzpflanze von N aus der Bodenlösung, die Menge des applizierten ^{15}N -markierten Düngers, aber auch der Verdünnungseffekt durch Mineralisierung von nicht markiertem N.

In den Abbildungen 6 a-d sind verschiedene Situationen dargestellt, die bei der Anwendung der ^{15}N -Technik auftreten können. Die Abbildungen 6 a-c illustrieren Unterschiede bei der Wurzelverteilung zwischen einer Leguminose und einer Referenzpflanze. ^{15}N wurde als wässrige Lösung auf die Bodenoberfläche aufgebracht. Die ^{15}N -Konzentration kann dabei durch Sickerung, Bewässerung und/oder Niederschläge beeinflusst werden, und nahm mit zunehmender Bodentiefe bis zum Erreichen der natürlichen Häufigkeit ab. In der Abbildung 6 d wurde eine Situation unter den Bedingungen der natürlichen Häufigkeit dargestellt, bei der pflanzenverfügbarer Stickstoff entlang des Bodenprofils dann uniform vorliegen kann.

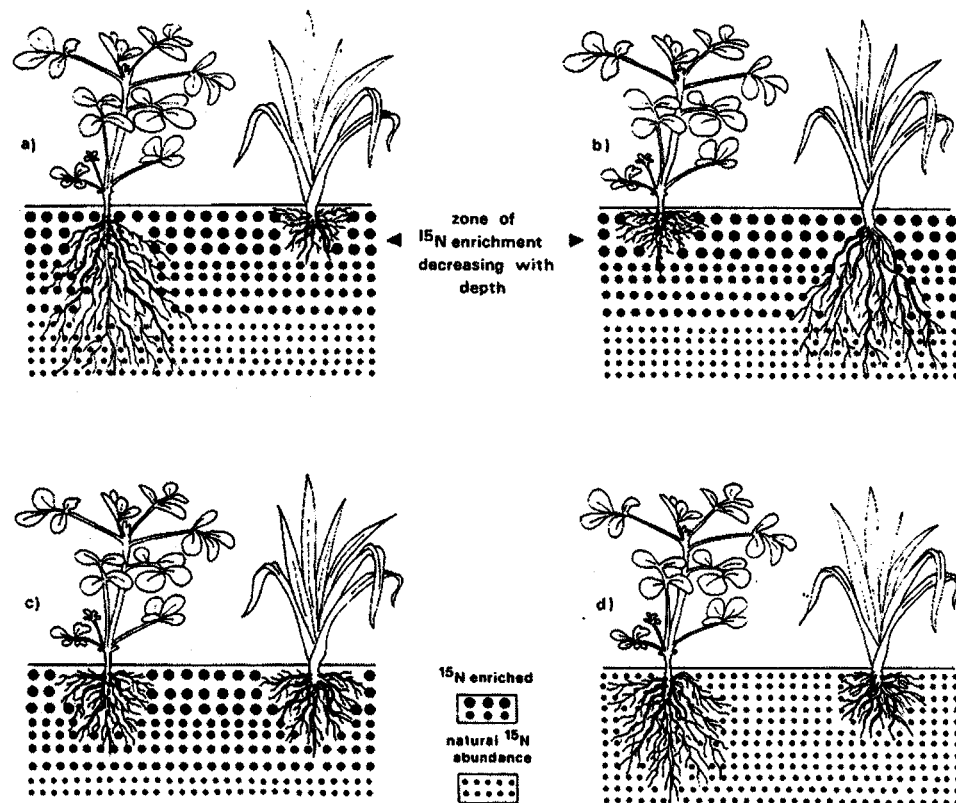


Abbildung 6: Verschiedene Situationen die bei der Anwendung der ^{15}N -Technik im Feld auftreten können (Peoples et al., 1989).

Um grundlegende Daten des N-Haushaltes eines an Trockenheit adaptierten Genotyps zu erhalten, sollte die N-Aufnahme, N-Verteilung und N-Verwertung in Abhängigkeit von der N-Versorgung bestimmt werden. Auf der Grundlage von N und ^{15}N basierte eine einfache Kalkulation der N_2 -Fixierung ohne die Einbeziehung einer nicht N_2 -fixierenden Referenzpflanze.

5.1.1. Methodik

Die Samen der *Plant Introduction 416937* (PI) (*Glycine max* (L.) Merr.) wurden vor der Aussaat mit einer Mischung von 5 verschiedenen Stämmen von *Bradorhizobium japonicum* inokuliert (zur Verfügung gestellt von Frau Prof. Dr. Höflich, Leibniz-Zentrum für Agrarlandschaftsforschung (ZALF) e. V. Müncheberg). Die Pflanzen wurden in Röhrengefäßen (Länge: 50 cm, Durchmesser: 16 cm) in der Klimakammer bei 24/18 °C, 60/80 % relativer Luftfeuchte (Tag/Nacht) und 12 stündiger Photoperiode angezogen. Um Nährstoffakkumulationen bei einer täglichen Nährstoffgabe in gelöster Form zu vermeiden, diente Quarz-Feinkies mit einer Körnung zwischen 2-3 mm als gut durchlässiges Substrat für die Pflanzenaufzucht. Die Nährstoffversorgung der

Pflanzen erfolgte in Form von 4 Behandlungen (B1 bis B4) mit jeweils 9 Wiederholungen:

- B1: Samen inokuliert, 0 mM N + N-freie Nährstofflösung
- B2: Samen inokuliert, 2 mM N + N-freie Nährstofflösung
- B3: Samen inokuliert, 4 mM N + N-freie Nährstofflösung
- B4: Samen inokuliert, 8 mM N + N-freie Nährstofflösung.

Der Stickstoff wurde in Form von KNO_3 verabreicht. Eine N-freie Nährstofflösung nach Elowad et al. (1987) enthielt 0.625 mM K_2SO_4 ; 1.0 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 0.125 mM $\text{Ca} (\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0.5 mM $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$; 23 μM H_3BO_3 ; 4.55 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$; 0.4 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 0.16 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ und 0.05 μM $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, bei separater Fe-Gabe: 35.8 μM Fe. Der pH-Wert der Nährlösungen wurde auf 6.5 eingestellt.

In der ersten Woche nach der Aussaat erhielten alle Gruppen nur die N-freie Basis-Nährstofflösung. Danach wurde die N-Gabe der Behandlungen 2 bis 4 (B2-B4) mit 300 ml pro Gefäß begonnen und während der phänologischen Entwicklung auf 500 bis 700 ml gesteigert. Zum Zeitpunkt des Blütenansatzes (R1) (Fehr und Caviness, 1977) wurde den Behandlungen 2 bis 4 einmalig 7, 14 bzw. 28 mg ^{15}N in Form von $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$ verabreicht (siehe auch Kapitel 4), wobei die Tracergabe die N-Konzentration nicht veränderte und ^{15}N über den gesamt durchwurzelten Raum angeboten wurde. Ein methodischer Aspekt, der Verbleib des applizierten ^{15}N in den oberen Bodenschichten (Abb. 6a-c), wurde daher bei dieser Versuchsanstellung mit diesem Substrat vermieden.

Die Probensammlung erfolgte 4 Tage nach der Tracerapplikation. Die Pflanzen wurden in die Organe Blätter und Stängel und nach dem Auswaschen in Wurzeln und Knöllchen eingeteilt. Jeweils die Hälfte der vorhandenen entfalteten Blätter, und damit auch die Stängel wurden der Fraktion *unten* bzw. *oben* zugeordnet. Noch nicht voll entfaltete bzw. voll entwickelte Blätter und die dazu gehörigen Stängel wurden der Fraktion *oben* zugeordnet. Die Blattflächenmessung erfolgte durch das Area Meter CI-202 CID, Inc. USA. Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte wie im Kapitel 4 beschrieben.

5.1.2. Ergebnisse und Diskussion

Die von PI 416937 bis zum Zeitpunkt des Blütenansatzes entwickelte Blattfläche betrug im Mittel aller Behandlungen 9.63 dm^2 . Dabei hatte das N-Angebot keinen Einfluss auf die Blattentwicklung (Abb. 7).

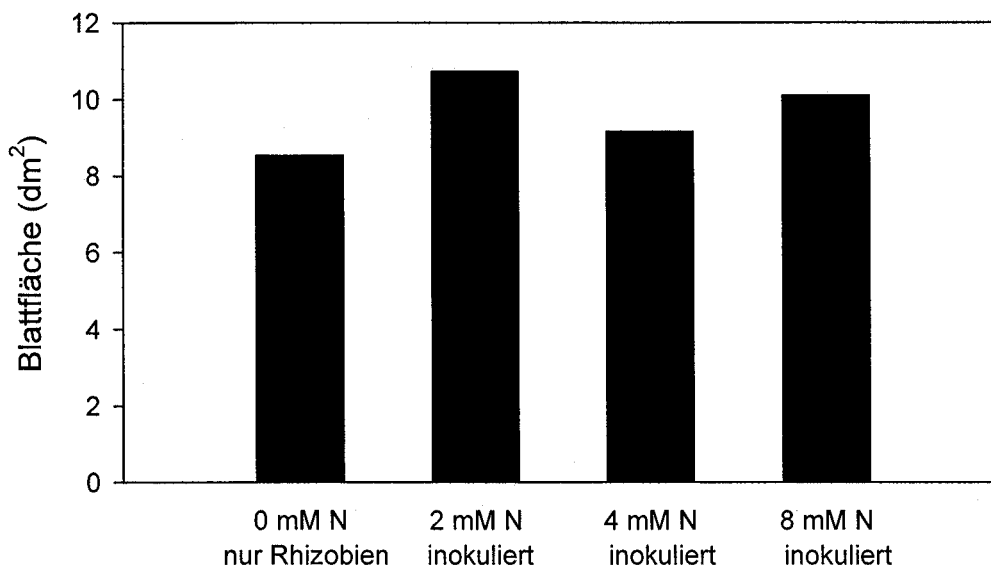


Abbildung 7: Blattflächenentwicklung von PI 416937 ($\text{dm}^2 \text{ Pflanze}^{-1}$) bis zum Blütenansatz in Abhängigkeit von der N-Versorgung.

In der Tabelle 2 sind die Daten der Trockenmasse (A) und die N-Gehalte (B) verschiedener Organe und Fraktionen dargestellt. Das Organwachstum der Blätter und Stängel war zwischen den Behandlungen B1 bis B4 bei den Fraktionen *unten* und *oben* durch das steigende mineralische N-Angebot nicht unterschiedlich.

Die Wurzelmasse wurde durch den mineralischen Stickstoff der Behandlungen 2 bis 4 nicht beeinflusst, und reagierte am wenigsten von allen Organen auf die steigenden N-Gaben. Das steigende N-Angebot hatte allerdings eine deutlich reduzierende Wirkung auf die Trockenmasse der Knöllchen und deren Anzahl. Die relative Abnahme der Trockenmasse betrug in der Reihenfolge 2, 4 und 8 mM N 56 %, 89 % bzw. 97 %. Die Anzahl der Knöllchen war um 45 %, 71 % bzw. um 84 % verringert.

Die N-Gehalte der Blätter der Fraktion *oben* bei der Behandlung 1 und 2 waren mit 4 % gleich, und wurden durch 4 mM N (B3) auf 4.3 % und durch 8 mM N (B4) auf 4.6 % signifikant erhöht. Bei einem Angebot von 8 mM N (B4) wies die Blattfraktion *unten* einen höheren N-Gehalt auf, als die der Behandlungen 1 bis 3.

Tabelle 2: (A) Trockenmasse (TM, g) und (B) N-Gehalt (in % der TM) verschiedener Organe von PI 416937 bei unterschiedlicher N-Versorgung (Mittelwerte \pm Standardfehler, n=9).

Behandlung	B1	B2	B3	B4
	0 mM N	2 mM N	4 mM N	8 mM N
Organ / Fraktion	inokuliert	inokuliert	inokuliert	inokuliert
(A) TM (g)				
Blätter/				
<i>oben</i>	1.529 \pm .11 ^a	1.926 \pm .28 ^a	1.434 \pm .13 ^a	1.711 \pm .23 ^a
<i>unten</i>	1.019 \pm .13 ^{ab}	1.277 \pm .24 ^{ab}	1.595 \pm .29 ^b	1.856 \pm .36 ^b
Stängel/				
<i>oben</i>	0.682 \pm .07 ^a	0.734 \pm .09 ^a	0.531 \pm .04 ^a	0.581 \pm .05 ^a
<i>unten</i>	1.032 \pm .11 ^a	1.333 \pm .24 ^a	1.423 \pm .21 ^a	1.701 \pm .31 ^a
Wurzeln	0.640 \pm .03 ^a	0.898 \pm .10 ^a	0.873 \pm .07 ^a	0.894 \pm .11 ^a
Knöllchen	0.287 \pm .02 ^c	0.126 \pm .02 ^b	0.032 \pm .005 ^a	0.009 \pm .001 ^a
Anzahl	51 \pm 5 ^c	28 \pm 4 ^b	15 \pm 2 ^a	8 \pm 1 ^a
(B) N-Gehalt (in % TM)				
Blätter/				
<i>oben</i>	3.99 \pm .07 ^a	3.98 \pm .08 ^a	4.34 \pm .10 ^b	4.61 \pm .06 ^b
<i>unten</i>	3.50 \pm .09 ^{ab}	3.26 \pm .21 ^a	3.41 \pm .18 ^a	4.08 \pm .13 ^b
Stängel/				
<i>oben</i>	1.53 \pm .04 ^a	1.54 \pm .06 ^a	2.19 \pm .08 ^b	2.50 \pm .11 ^c
<i>unten</i>	1.21 \pm .04 ^a	1.12 \pm .05 ^a	1.75 \pm .07 ^b	2.55 \pm .17 ^c
Wurzeln	2.17 \pm .05 ^a	2.24 \pm .08 ^a	2.10 \pm .09 ^a	2.39 \pm .16 ^a
Knöllchen	5.29 \pm .09 ^a	4.95 \pm .10 ^a	4.64 \pm .20 ^a	7.70 \pm .45 ^b

(unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Behandlungen $P < 0.05$, Tukey-Test)

Bei den Stängeln zeigten sich zwischen der Behandlung 1 und 2 in beiden Fraktionen (*oben/unten*) mit 1.5 % bzw. 1.2 % N keine Unterschiede. Ebenso wie bei den Blättern kam es schrittweise durch das Angebot von 4 und 8 mM N zu steigenden N-Gehalten in beiden Stängel-Fraktionen, die auf bis zu 2.5 % N anstiegen. Diese Werte lagen in einem Bereich, den Sinclair et al. (2003) für wachsende Organe der Sojabohne bei nicht limitierender N Versorgung angibt.

Auf den N-Gehalt der Wurzeln, der in einem engen Bereich zwischen 2.1 % und 2.4 % lag, hatte ein steigendes N-Angebot keinen Einfluss.

Bei den Knöllchen, die die höchsten N-Gehalte aller untersuchten Organe aufwiesen, kam es mit 7.7 % N bei 8 mM N (B4) im Vergleich zu den Behandlungen 1 bis 3 zu einem um etwa 50 % erhöhten N-Gehalt.

Die Tabelle 3 zeigt die Daten des ^{15}N -Gehaltes (A) und der ^{15}N -Konzentration (B) verschiedener Organe und Fraktionen von PI 416937 4 Tage nach der ^{15}N -Gabe.

In den Blättern *oben* folgt der ^{15}N -Gehalt (Tab. 3, A, $\text{mg } ^{15}\text{N Organ}^{-1}$) und die relative ^{15}N -Akkumulation (Tab. 3, B, $\text{mg } ^{15}\text{N g}^{-1} \text{ TM}$) der gesteigerten ^{15}N -Applikation von 7, 14 bzw. 28 $\text{mg } ^{15}\text{N}$. Da diese Fraktion außer den in dieser Entwicklungsphase zuletzt voll entwickelten Blättern auch die jüngsten, noch nicht voll entfalteten bzw. nicht voll differenzierten Blätter enthielt, die ebenfalls starke Sinks für N darstellen, wurden hier die höchsten Gehalte und Konzentrationen an ^{15}N bestimmt. Die ^{15}N -Translokation in die älteren Blätter *unten* war bedeutend niedriger als in die Blätter *oben*, jedoch ebenfalls noch durch einen zunehmenden Trend der Aufnahme in Folge der steigenden ^{15}N -Gaben gekennzeichnet.

Bei den Stängeln der Fraktion *oben* und *unten*, aber auch bei den Wurzeln folgte der ^{15}N -Gehalt und die relative ^{15}N -Akkumulation ebenfalls der gesteigerten ^{15}N -Applikation, die bei der Applikation von 28 $\text{mg } ^{15}\text{N}$ zu signifikanten höheren Werten im Vergleich zu den Gaben von 7 und 14 $\text{mg } ^{15}\text{N}$ führte. Im Gegensatz zu den Blättern waren die ^{15}N -Gehalte in der Stängel-Fraktion *unten* höher als in der Fraktion *oben*. Da diese Fraktion jedoch die größere Menge an Trockenmasse enthielt (Tab. 2, A), ergab sich eine niedrigere ^{15}N -Konzentration als in der Stängel-Fraktion *oben*.

Diese Ergebnisse bestätigen, dass bei den höheren Pflanzen in der Regel nicht der gesamte Organismus gleichzeitig wächst, sondern nur bestimmte Organe Substanzzuwachs zeigen, der stets das Resultat der Synthese organischer C- und N-Verbindungen ist. Übersteigt dann die N-Akkumulation die Anforderungen wachsender Organe an N während einer Entwicklungsphase, verbleibt der Überschuss in den Stängeln.

Erst durch die Anwendung der Isotopenmesstechnik bei Zerealien, Kreuzblütlern, Zuckerrüben und Leguminosen konnte nachgewiesen werden, dass der gerichtete Baustofftransfer in die Synthesezentren als ein beherrschendes Prinzip der pflanzlichen Stoffakkumulation, vor allem in den oftmals wirtschaftlich genutzten Speicherorganen (Samen, Wurzeln) gelten kann (Merbach, 1995).

So berichtete Merbach (1995), dass von Lupine, Erbse, Ackerbohne und Sojabohne vor Blühende von 285 $\text{mg } ^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ 47 % in den oberen Blättern, 23 % in den oberen Stängeln und 22 % in den Wurzeln 5 Tage nach der ^{15}N -Gabe akkumuliert wurden (Gefäßversuche mit Quarzsand).

Die relativen Werte der ^{15}N -Verteilung (Tab. 3, Werte in Klammern) zeigten eine gute Übereinstimmung mit den von Merbach (1995) bestimmten Daten, und das, obwohl nur 1/40 der von Merbach verwendeten Menge an ^{15}N gegeben wurde. Sie bestätigten die gerichtete N-Translokation in verschiedene, aber vor allem in die jüngeren Organe (Blätter) in der Phase des Blütenansatzes.

Tabelle 3: (A) ^{15}N -Gehalt (mg) und (B) ^{15}N -Konzentration ($\text{mg }^{15}\text{N g}^{-1}\text{ TM}$) und relative Verteilung des aufgenommenen ^{15}N (Werte in Klammern) in verschiedenen Organen von PI 416937 4 Tage nach der ^{15}N -Gabe (Mittelwerte \pm Standardfehler, n=9).

^{15}N -Gabe	7 mg ^{15}N		14 mg ^{15}N		28 mg ^{15}N	
N-Stufe	2 mM N (B2)		4 mM N (B3)		8 mM N (B4)	
	inokuliert	(relativ)	inokuliert	(relativ)	inokuliert	(relativ)
(A) ^{15}N-Gehalt (mg)						
Blätter						
<i>oben</i>	0.786 \pm .09 ^a	(44)	1.673 \pm .20 ^b	(46)	2.631 \pm .35 ^c	(39)
<i>unten</i>	0.200 \pm .05 ^a	(11)	0.457 \pm .10 ^a	(13)	1.031 \pm .24 ^b	(15)
Stängel						
<i>oben</i>	0.137 \pm .02 ^a	(7)	0.349 \pm .05 ^a	(10)	0.745 \pm .10 ^b	(11)
<i>unten</i>	0.141 \pm .02 ^a	(8)	0.489 \pm .06 ^a	(13)	1.519 \pm .17 ^b	(22)
Wurzeln	0.512 \pm .13 ^a	(28)	0.656 \pm .21 ^a	(18)	0.942 \pm .17 ^b	(13)
Knöllchen	0.026 \pm .01 ^b	(2)	0.019 \pm .01 ^b	(0.5)	0.007 \pm .003 ^a	(0.1)
Gesamt	1.802 \pm .14	100	3.645 \pm .36	100	6.667 \pm .61	100
(B) ^{15}N-Konzentration ($\text{mg g}^{-1}\text{ TM}$)						
Blätter						
<i>oben</i>	0.457 \pm .19 ^a		1.240 \pm .50 ^b		1.770 \pm .90 ^b	
<i>unten</i>	0.140 \pm .08 ^a		0.278 \pm .11 ^a		0.561 \pm .21 ^b	
Stängel						
<i>oben</i>	0.212 \pm .11 ^a		0.673 \pm .30 ^b		1.382 \pm .66 ^c	
<i>unten</i>	0.116 \pm .03 ^a		0.380 \pm .15 ^a		1.104 \pm .49 ^b	
Wurzeln	0.556 \pm .17 ^a		0.668 \pm .21 ^{ab}		0.913 \pm .35 ^b	
Knöllchen	0.179 \pm .04 ^a		0.491 \pm .16 ^b		0.812 \pm .26 ^c	

(unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Behandlungen $P < 0.05$, Tukey-Test)

Mit steigender ^{15}N -Applikation war bei den Knöllchen (Tab. 3 A, B) eine Abnahme des ^{15}N -Gehaltes, jedoch eine Zunahme der relativen ^{15}N -Akkumulation verbunden. Die relative ^{15}N -Akkumulation in den Knöllchen, die Anzahl und Trockenmasse deutlich reduziert (Tab. 2 A), war bei 8 mM N 4.5 Mal so hoch wie die bei 2 mM N. Dieses Verhalten wurde auch von King und Purcell (2001) bei Kohlenstoff beobachtet. 24 Stunden nach einmaliger Pulsmarkierung mit $^{14}\text{CO}_2$ am obersten voll entwickelten Blatt bei Sojabohnen hatten die kleinsten Knöllchen (Durchmesser kleiner 2 mm) die höchste ^{14}C -Konzentration (Spezifische Aktivität; DPM (Disintegration per minute $\times 10^{-6}$) pro mg Knöllchen, die 3.5 Mal so hoch war wie die von Knöllchen mit einem Durchmesser größer als 4 mm. Ihre Hypothese, dass kleine/re Knöllchen mehr Kohlenstoff aus den laufenden Syntheseprozessen in strukturelle Komponenten inkorporieren als große Knöllchen, und diese wiederum einen größeren Anteil an C und N durch Respiration und Ureidexport verlieren, hätte damit auch für ^{15}N Gültigkeit.

In Bezug auf die gesamt akkumulierte N-Menge der verschiedenen Organe und Fraktionen wurde die Verwertung des applizierten ^{15}N anhand der Gleichung 3 (siehe Kapitel 4) berechnet und in der Abbildung 8 A bis C dargestellt.

$$(3) \quad \text{Verwertung (\%)} = \frac{\% \text{ NvT} * m_{\text{N}}}{\text{Rate des applizierten Tracer}}$$

$$\text{Prozent N vom Tracer (\% NvT)} = \frac{a' \text{ Probe} * 100}{a' \text{ Tracer}}$$

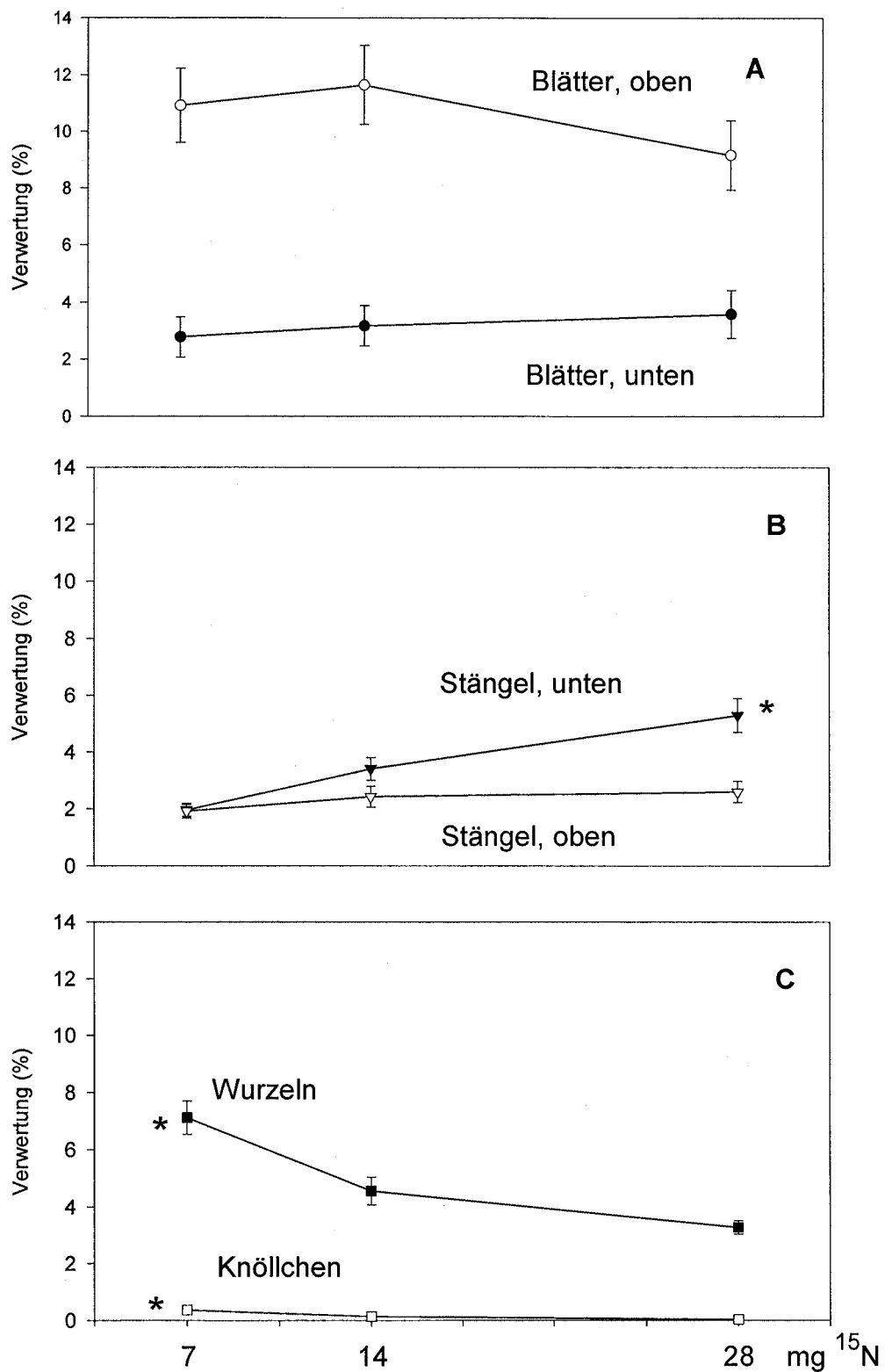


Abbildung 8: Verwertung von ¹⁵N in Blättern (A), Stängeln (B), Wurzeln und Knöllchen (C) von PI 416937 in Abhängigkeit von der N-Stufe. (*signifikante Differenz (P<0.05) zwischen den N-Stufen, Tukey-Test)

Ein höheres Angebot von mehr als 7 mg ^{15}N (2 mM N, Behandlung 2) hatte bei den Blättern (Abb. 8, A) in der Fraktion *oben* und *unten* keinen verbessernden Einfluss auf die Verwertung. Bei den Stängeln (Abb. 8, B) kam es bei 28 mg ^{15}N (8 mM N, Behandlung 4) in der Fraktion *unten* zu einer signifikant höheren Verwertung im Vergleich zu 7 mg ^{15}N (2 mM N, Behandlung 2) und 14 mg ^{15}N (4 mM N, Behandlung 3). Bei den Wurzeln und Knöllchen (Abb. 8, C) war bei einem Angebot von mehr als 7 mg ^{15}N (2 mM N, Behandlung 2) eine abnehmende Verwertung zu verzeichnen.

Bei der N-Stufe 2 mM wurden andererseits etwa 1.8 mg ^{15}N (Tab. 3, A) innerhalb von 4 Tagen in der Gesamtpflanze akkumuliert. Daher sollten für Translokations-Untersuchungen innerhalb der Pflanze nach Sprossapplikation (siehe Kapitel 5.2 bis 5.4) nicht mehr als 2 mg ^{15}N eingesetzt werden, um die N-Pools der Organe und deren Kompartimente so wenig wie möglich zu beeinflussen. Außerdem kann der Verbrauch an ^{15}N damit auf ein Minimum beschränkt bleiben.

Pro Pflanze der Behandlungen 1 bis 4 wurden 148.6, 177.4, 177.5 bzw. 231.9 mg N akkumuliert. Anhand der aufgenommenen Mengen an N und ^{15}N (Tab. 3, A) sollte schließlich der Einfluss eines steigenden N-Angebotes auf die N_2 -Fixierung der Rhizobien anhand eines einfachen Ansatzes abgeschätzt werden. Bei diesem eigenen Ansatz erfolgte die Kalkulation ohne die Einbeziehung einer nicht N_2 -fixierenden Pflanze anhand der Gleichung (4) und (5), jeweils unter Berücksichtigung der Trockenmasse der Knöllchen (Tab. 2, A). Die Daten wurden in der Abbildung 9 dargestellt.

$$(4) \quad \text{N}_2\text{-Fixierung (\%)} = \frac{\text{mg N fixiert B1} / \text{Trockenmasse Knöllchen B1}}{\text{mg N B2, B3 bzw. B4} / \text{Trockenmasse Knöllchen B2, B3 bzw. B4}} * 100$$

$$(5) \quad \text{N}_2\text{-Fixierung (\%)} = \frac{\text{mg N fixiert B1} / \text{Trockenmasse Knöllchen B1}}{\text{mg }^{15}\text{N B2, B3 bzw. B4} / \text{Trockenmasse Knöllchen B2, B3 bzw. B4}} * 100$$

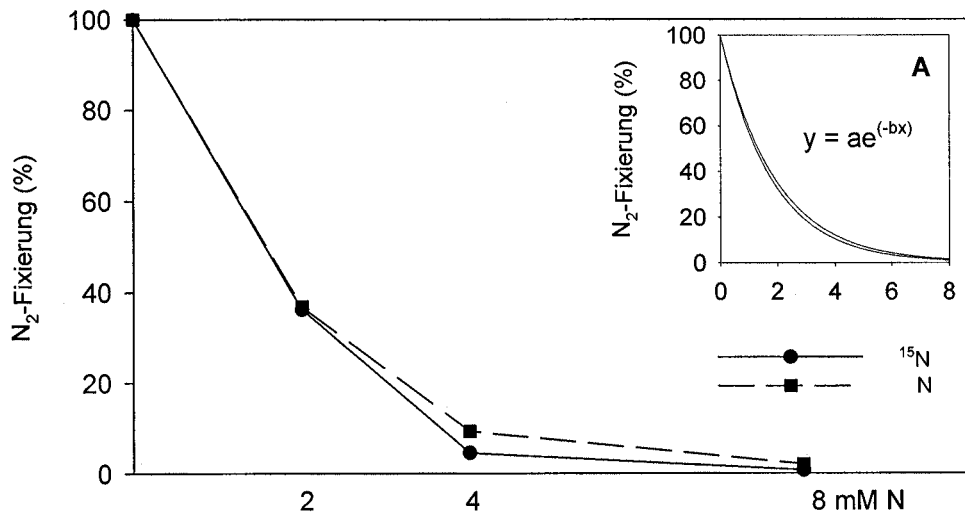


Abbildung 9: Einfluss steigender mineralischer N-Versorgung bei PI 416937 auf die N₂-Fixierung aus der Luft.

Die N₂-Fixierung aus der Luft (Abb. 9), mit der Bezugsbasis des Stickstoffs, der von den inokulierten und mit N-freier Nährstofflösung (Behandlung 1) versorgten Pflanzen akkumuliert wurde, war schon bei einer Gabe von 2 mM N sehr deutlich auf 37 % reduziert, und betrug bei 4 und 8 mMol N lediglich noch 9 % bzw. 2 % (gemäß Gleichung 4). Die Berechnungen auf der Basis von ¹⁵N (Gleichung 5) ergaben mit 36 %, 6 % und 1 % gut übereinstimmende Werte für den Einfluss von mineralischem Stickstoff auf die N₂-Fixierung. Da ein steigendes mineralisches N-Angebot sowohl die Anzahl, als auch die Trockenmasse der Knöllchen stark erniedrigte (siehe S. 16 und Tab. 2, A), wurde die N₂-Fixierung in exponentieller Weise (Abb. 9, A) abgeschwächt. Kleine/re Knöllchen mit einem Durchmesser von 2 mm enthalten außerdem nur etwa 25 %, und größere Knöllchen mit einem Durchmesser von 4 mm, etwa 60 % infiziertes Gewebe (King und Purcell, 2001). Zur Gewährleistung einer hohen Stickstofffixierungsleistung, und um mineralischen Stickstoffdünger effizient einzusetzen, kann daher bei PI 416937 bis zum Zeitpunkt des Blütenansatzes ein mineralisches N-Angebot nicht empfohlen werden.

Während der reproduktiven Phase (R1-R6), in welcher Methodenvergleiche vielfach durchgeführt wurden, lag der Anteil der N-Versorgung bei Sojabohnen durch die N₂-Fixierung in unterschiedlichen Umwelten in einem vergleichbaren Bereich zwischen 75 % und 25 % (Deibert et al., 1979, Fabre und Planchon, 2000, George und Single-

ton, 1992, Rennie, 1984, Zapata et al., 1987). In der frühen reproduktiven Phase (R1/R2) ist die mineralische N-Assimilierung, jedoch in der späteren Phase (R6) sind hohe N_2 -Fixierungsraten mit dem Ertrag korreliert. Beeinflussend auf die Ergebnisse wirken dabei die Form des mineralischen Stickstoffs (Imsande, 1998), die Sorten (Pazdernik et al., 1997) und die Art der Leguminosen (George und Singleton, 1992, Kurdali et al., 1997, Rennie und Dubetz, 1986, Voisin et al., 2002). Daher könnten beide Faktoren, die mineralische N-Assimilierung und die N_2 -Fixierungsraten, als indirekte agronomische Selektionskriterien für leistungsfähige Leguminosenarten- und Sorten unter den verschiedensten Umweltbedingungen genutzt werden, wie es auch Fabre und Planchon (2000) vorschlagen.

5.2. Einfluss von Genotyp und Bewässerung auf die ^{15}N -Translokation während der Samenfüllungsphase

Die Samenfüllungsphase der Sojabohne (R5/R6) ist durch ein schnelles Samenwachstum durch Mobilisierung und Remobilisierung von Kohlenstoff- und N-haltigen Assimilaten innerhalb der Pflanze gekennzeichnet. Zu dieser Zeit erreicht die Trockenmasse- und Nährstoffakkumulation der Blätter, Blattstiele und Stängel am Hauptspross ihr Maximum. Mit dem Beginn ihres Wachstums erlangen die Samen im Vergleich zu den anderen Organen die höchste Priorität für Stickstoff. Der Samenertrag ist dabei von der Rate der akkumulierten Trockenmasse und der Dauer der Samenfüllung abhängig (Fehr und Caviness, 1977).

Während der Samenfüllungsphase besteht bei Sojabohnen eine maximale Empfindlichkeit gegenüber einer eingeschränkten Wasserversorgung oder gar Trockenheit (Burton, 1997, Ritchie, 1989, Sionit und Kramer, 1977). Auftretender Wassermangel führt im Allgemeinen zu früher einsetzender Alterung der Blätter, wodurch sich die photosynthetische Aktivität verringern kann. Eine durch Wasserknappheit induzierte Seneszenz, und eine damit verbundene schnellere Auslagerung von N aus den Blättern, kann die Zeit der Samenfüllung limitieren (De Souza et al., 1997).

Bisher gibt es nur wenige Informationen über das Verteilungsmuster des Stickstoffs, der die Sprossbasis erreicht hat, von hier aus in die verschiedenen Organe unterschiedlichen Alters verlagert, und von diesen zur Proteinsynthese genutzt wird. Die Ergebnisse von Norsworthy und Shipe (2005) zeigten bei verschiedenen Genotypen deutliche Unterschiede zwischen dem Ertrag am Haupttrieb und den später angelegten Seitentrieben. Die züchterische Selektion von bestimmten Sorten für übliche Reihenabstände von ca. 50 cm, und für engere Reihenabstände um 25 cm könnte sich daher positiv auf den Ertrag auswirken. Dabei spielen allerdings ertragssichernde Faktoren, wie z. B. die Toleranz gegenüber Trockenheit eine besondere Rolle, die

bisher weitestgehend ungeklärt sind. Daher sollte die Verlagerung und Verteilung von ^{15}N nach Sprossapplikation in Abhängigkeit vom Wasserangebot bei zwei Genotypen in verschiedene Organe unterschiedlichen Alters während der Samenfüllungsphase (R5) untersucht werden.

5.2.1. Material und Methoden

In einem hier nicht weiter dargestellten Vorversuch wurden die Genotypen PI 416937 und Hutcheson zu Beginn der Reife (R7) einem Trockenstress ausgesetzt. Dazu erhielten die gestressten Pflanzen zunächst 6 Tage lang ein Drittel der Wassermenge der Kontrollpflanzen. Um die Sprossapplikation bei PI 416937 und Hutcheson zu testen, wurde 1 mg ^{15}N in die Sprossbasis injiziert. In den folgenden 4 Tagen erhielten die Stress-Pflanzen kein Wasser und keine Nährstoffe. Im Vergleich zur Kontrolle hatte der Trockenstress bei beiden Genotypen während der Reifephase keinen Einfluss mehr auf den Ertrag und auf die ^{15}N -Translokation in die verschiedenen Organe (Blätter, Stängel, Hülsen, Samen) innerhalb eines 4tägigen Untersuchungszeitraumes. Die Applikationsmenge von 1 mg ^{15}N entsprach in diesem Vorversuch im Mittel 0.03 % des von den Pflanzen akkumulierten Stickstoffs, und dürfte den unteren Grenzwert für derartige Untersuchungen nachweisbar mittels Emissionsspektrometrie und zu diesem Entwicklungsstadium darstellen.

Der Hauptversuch während der Samenfüllungsphase wurde in Klimakammern der North Carolina State University, USA, durchgeführt. Die Genotypen PI 416937 (PI) und Hutcheson (H) mit determiniertem Stängelwachstum der Reifegruppe V wuchsen in Plastikgefäßen (Durchmesser: 20.3 cm, Höhe: 20.0 cm) mit 4.37 kg Substrat (Feinkies:Peatlite, 2:1) in Klimakammern bei 26/22°C (Tag/Nacht) und bei 70 % relativer Luftfeuchtigkeit auf. Während der 9 stündigen Beleuchtungsdauer betrug die Photonendichte zwischen 670 und 735 $\mu\text{E m}^{-2} \text{sec}^{-1}$. Die CO_2 -Konzentration wurde mittels Infrarot-Gasanalysator gemessen und zwischen 350 und 400 $\mu\text{l l}^{-1}$ gehalten. Das Experiment wurde als 2faktorieller Versuch (Genotyp x Bewässerung) mit 4facher Wiederholung angelegt (jeweils 2 Wiederholungen pro Klimakammer).

Alle Pflanzen wurden bis zum Beginn der Untersuchungen optimal mit Nährstoffen in Form einer Standard-Nährlösung (Thomas und Down, 1991) und Wasser täglich um 8.00, 12.30 und 16.30 Uhr über ein automatisches System versorgt. Während eines 8 tägigen Intervalls (56 bis 64 Tage nach Aussaat) wurden den Pflanzen die in der Tabelle 4 dargestellten Mengen an Nährlösung und Wasser manuell zugeteilt. Nach dem Stressende wurden die Gefäße der Behandlung (Wasserdefizit) bis zum Errei-

chen der Feldkapazität mit Wasser aufgefüllt, und anschließend wieder für die nächsten 4 Tage, ebenso wie die Kontrolle, automatisch versorgt.

Der Genotyp PI reagierte auf die restriktive Wasserversorgung sehr schnell mit Welkeerscheinungen an den Blättern. Daher wurde durch Variation der angebotenen Menge an Nährlösung und durch ein einmaliges zusätzliches Wasserangebot stärkeren, möglicherweise irreversiblen Schädigungen bei PI entgegengewirkt, um die geplante 8 tägige Stressperiode untersuchen zu können.

Tabelle 4: Tägliches Angebot an Nährlösung (ml) und Wasser (ml) bei PI und Hutcheson bei den Kontrollpflanzen (ww) und bei Wasserdefizit (wd).

TnA*	Tag	Kontrolle (ww)			Wasserdefizit (wd)		
		Nährlösung (ml)	H ₂ O (ml)	Summe (ml)	Nährlösung (ml)	H ₂ O (ml)	Summe (ml)
56	0	225	375	600	225	0	225
57	1	225	375	600	225	0	225
58	2	375	225	600	375	0	375
59	3	300	300	600	300	0	300
60	4	300	300	600	300	0	300
61	5	275	225	500	275	100	375
62	6	250	225	475	250	0	250
63	7	75	325	400	75	0	75
64	8	200	Feldkapazität		200	Feldkapazität	

*TnA: Tage nach Aussaat

Die Pflanzen erhielten 56, 60 und 64 Tage (Tab. 4, Abb. 11) nach der Aussaat der Kontrolle (ww) und der Behandlung (wd) eine einmalige Dosis von 2 mg ¹⁵N (50 µl) in die Sprossbasis injiziert. Vier Tage nach der Injektion wurden die Pflanzen geerntet, in die Fraktionen *unten* (bis Nodium 6), *mitte* (Nodien 7-9), *oben* (Nodien 10-12 und noch nicht voll entwickelte, junge Blätter) und *Seitensprosse*, sowie in die Organe Blätter, Stängel, Hülsen Samen und Wurzeln eingeteilt. Die N- und ¹⁵N-Bestimmung erfolgte wie zuvor in Kapitel 4 beschrieben.

Zur Vereinfachung der Ergebnisdarstellung wurde auf die detaillierte Darlegung der Ergebnisse der verschiedenen Fraktionen am Hauptspross verzichtet.

Das zuerst reduzierte und dann wieder erhöhte Angebot an Nährlösung der Behandlung (wd) hatte in den ersten 4 Tagen des Untersuchungszeitraumes noch keinen Einfluss auf die Trockenmassebildung der Pflanzen bzw. deren Organe. Aus diesem Grund wurden nur bestimmte Daten der Gesamtpflanzen, der Organe und der Reak-

tion der Seitensprosse zum Stressende und 4 Tage nach der Wiederanfeuchtung zur Darstellung ausgewählt.

Die Proteine in den Organen wurden mit 4 ml 20 %iger Trichloressigsäure (TCE) für 30 Minuten ausgefällt. Die Proben wurden dann für 10 Minuten bei 5000 g zentrifugiert, und der Rückstand nach zweimaligem Waschen mit jeweils 4 ml 7 %iger TCE, für die N- und ^{15}N -Analytik aufbereitet (siehe Kapitel 4).

Für die Bestimmung des Blattwasserpotentials während des Stresses und nach der Wiederanfeuchtung fand die Methode von Sanchez-Diaz und Kramer, beschrieben von Patterson und Hudak (1996), Anwendung. Die tägliche Probenahme erfolgte dazu vor der ersten Bewässerung des jeweiligen Tages.

5.2.2. Ergebnisse und Diskussion

Die Auswirkungen der restriktiven Bewässerung auf den Wasserzustand der Pflanzen wurden anhand des täglich gemessenen Blattwasserpotentials bestimmt. Die Änderungen des Blattwasserpotentials während des Stresses und nach der Wiederanfeuchtung und anschließender optimaler Bewässerung bei PI und Hutcheson wurden in der Abbildung 10 dargestellt. Außerdem zeigt diese Abbildung die Dauer der restriktiven Bewässerung, sowie die Zeitpunkte der ^{15}N -Applikationen und der Probensammlungen.

Das Blattwasserpotential (Abb. 10) der optimal bewässerten Pflanzen (ww) lag bei PI im Mittel bei -0.66 MPa und bei Hutcheson bei -0.63 MPa , und war während des Experimentes relativ konstant. Wasserdefizit erniedrigte das Blattwasserpotential während der ersten 6 Tage bei PI und Hutcheson auf durchschnittlich -0.90 MPa . Eine weitere Einschränkung des Wasserangebotes (Tab. 4), die deshalb vorgenommen wurde, weil Hutcheson äußerlich keinerlei stressbedingte Erscheinungen erkennen ließ, führten zu einem stärkeren Abfall des Blattwasserpotentials bei PI auf -2.33 MPa und bei Hutcheson auf -1.87 MPa zum Stressende. Die optimale Bewässerung nach der Wiederanfeuchtung führte innerhalb von 24 Stunden zu einer Normalisierung des Blattwasserpotentials.

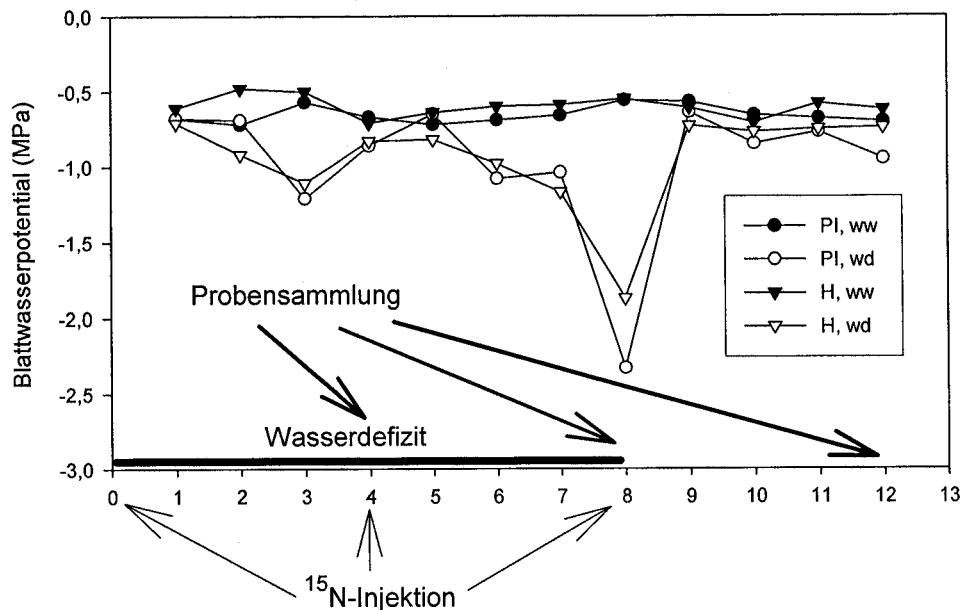


Abbildung 10: Blattwasserpotential bei PI und Hutcheson während des Stresses und nach der Wiederanfeuchtung während der Samenfüllungsphase (R5). (Probenahme unmittelbar vor der ersten täglichen Wassergabe)

Mit der Prozedur "GLM-Univariat" des Statistikprogramms SPSS, Version 10.0, wurden Varianzanalysen für acht verschiedene abhängige Variablen mit drei Faktoren durchgeführt (Tabelle 5), als Signifikanz des F-Wertes dargestellt, und deren Wechselwirkung zwischen den Faktoren bestimmt.

Bei dem Faktor Genotyp traten bei keiner der untersuchten Variablen Signifikanzen des F-Wertes auf, d. h. bei den untersuchten Parametern gab es zwischen PI und Hutcheson keine Unterschiede. Die Behandlung (wd) hatte einen Einfluss auf den N-Gehalt (N in % der Trockenmasse) und den prozentualen Anteil des TCE-fällbaren ^{15}N an der Gesamtmenge an ^{15}N ($^{15}\text{N-TCE}/^{15}\text{N}$, %). Der Faktor Organ hatte allerdings auf alle untersuchten Variablen eine signifikante Wirkung.

Signifikante Wechselwirkungen von Genotyp und Behandlung bzw. von Behandlung und Organ konnten beim N-Gehalt (N %), der ^{15}N -Konzentration pro Gramm Trockenmasse (^{15}N mg g $^{-1}$) und der ^{15}N -Konzentration in der TCE-fällbaren Fraktion ($^{15}\text{N-TCE}$ mg g $^{-1}$) nachgewiesen werden. Die Interaktionen zwischen Behandlung und Organ war außerdem bei dem prozentualen Anteil des TCE-fällbaren ^{15}N an der Gesamtmenge an ^{15}N ($^{15}\text{N-TCE}/^{15}\text{N}$, %) signifikant.

Tabelle 5: Varianzanalysen (GLM-Univariat) verschiedener abhängiger Variablen mit drei Faktoren und deren Wechselwirkungen (Signifikanzen von F; P<0.05) 4 Tage nach Stressende, am Tag 12.

abhängige Variable	TM (g)	N (mg)	N (%)	¹⁵ N (mg)	¹⁵ N (mg g ⁻¹)	¹⁵ N-TCE (mg)	¹⁵ N-TCE (mg g ⁻¹)	¹⁵ N-TCE/ ¹⁵ N (%)
Faktoren								
Genotyp (G)	.516	.562	.253	.705	.376	.492	.490	.250
Behandlung (B)	.304	.215	.0001	.736	.244	.977	.939	.0001
Organ (O)	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001
G*B	.295	.473	.0001	.953	.010	.931	.043	.595
G*O	.250	.114	.265	.424	.483	.518	.799	.533
B*O	.791	.413	.0001	.481	.001	.375	.0001	.0001
G*B*O	.984	.849	.998	.951	.168	.998	.416	.999

(G) Genotyp: PI, Hutcheson

(B) Behandlung: Kontrolle (ww), Wasserdefizit (wd)

(O) Organ: Blätter, Stängel, Hülsen, Samen

Das Wasserdefizit hatte bei PI zum Stressende (Abb. 11 a) eine tendentiell niedrigere Trockenmasse des Sprosses zur Folge und führte 4 Tage danach (Abb. 11 b) zu einem signifikanten Unterschied im Vergleich zur Kontrolle. Die Interaktion Genotyp x Behandlung war zu diesem Termin signifikant. Bei Hutcheson dagegen, war die Substanzbildung durch das eingeschränkte Wasserangebot zu keinem der beiden Termine beeinflusst (Abb. 11 a, b).

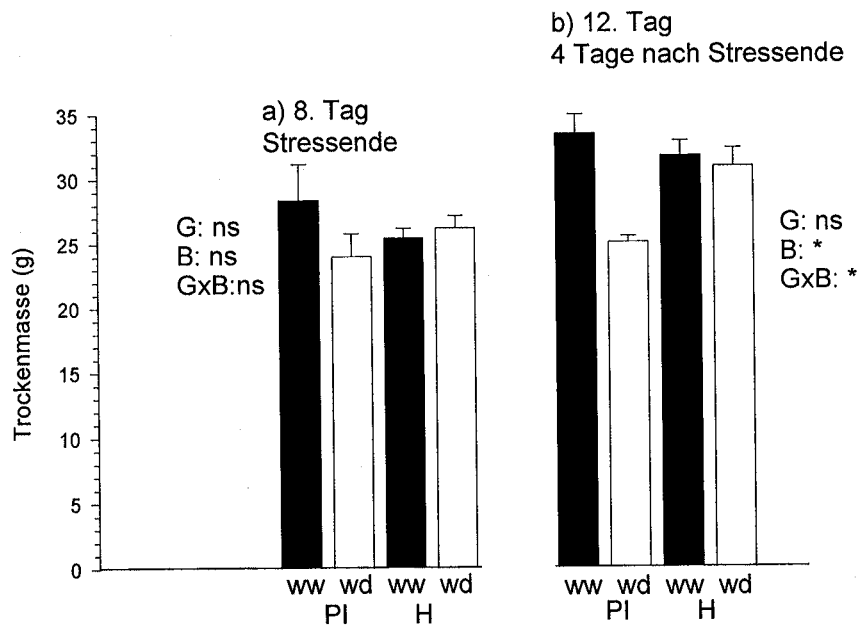


Abbildung 11: Spross-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson am (a) Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Durch die Behandlung (wd) hatte PI und Hutcheson zum Stressende (Abb. 12 a) tendenziell mehr Wurzelmasse als die Kontrollpflanzen gebildet. 4 Tage später (Abb. 12 b) wiesen die gestressten Pflanzen (wd) mehr Wurzelmasse als die Kontrolle auf.

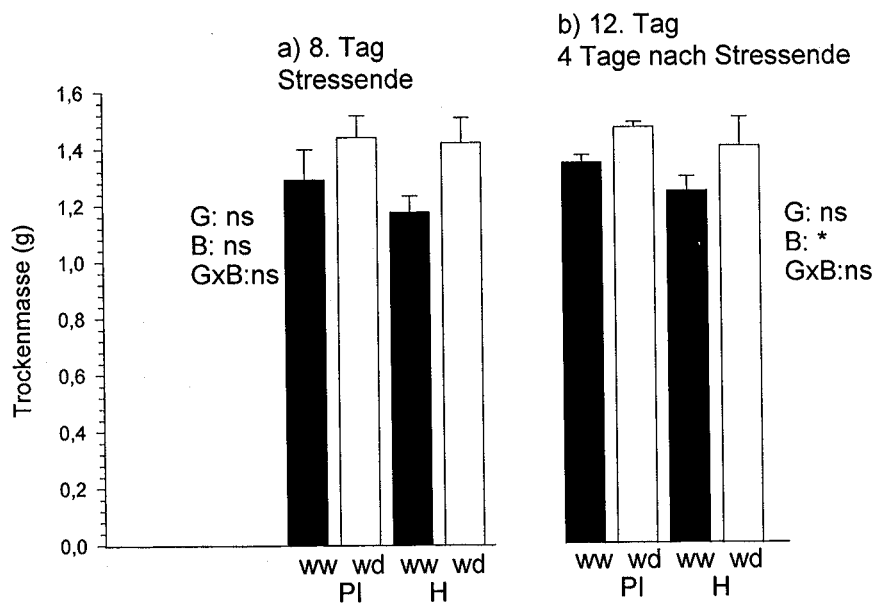


Abbildung 12: Wurzel-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson am (a) Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Die Samenmassen der Kontrollpflanzen von PI und Hutcheson waren am 8. Tag etwa gleich (Abb. 13 a). Zwischen dem 8. und 12. Tag war der Zuwachs an Samenmasse (Hutcheson 4.5 g und PI 3.1 g) und die absolute Menge bei Hutcheson höher als bei PI (Abb. 13 b). Die Samenmasse von PI war durch Stress am 8. Tag (Abb. 13 a), und 4 Tage danach tendentiell erniedrigt (Abb. 13 b). Bei Hutcheson war dagegen keinerlei Wirkung durch den Stress auf die Samentrockenmasse zu verzeichnen. Bei den gestressten Pflanzen lag die Zunahme in den 4 Tagen nach Stressende bei PI bei 2.6 g und bei Hutcheson bei 4.6 g Trockenmasse.

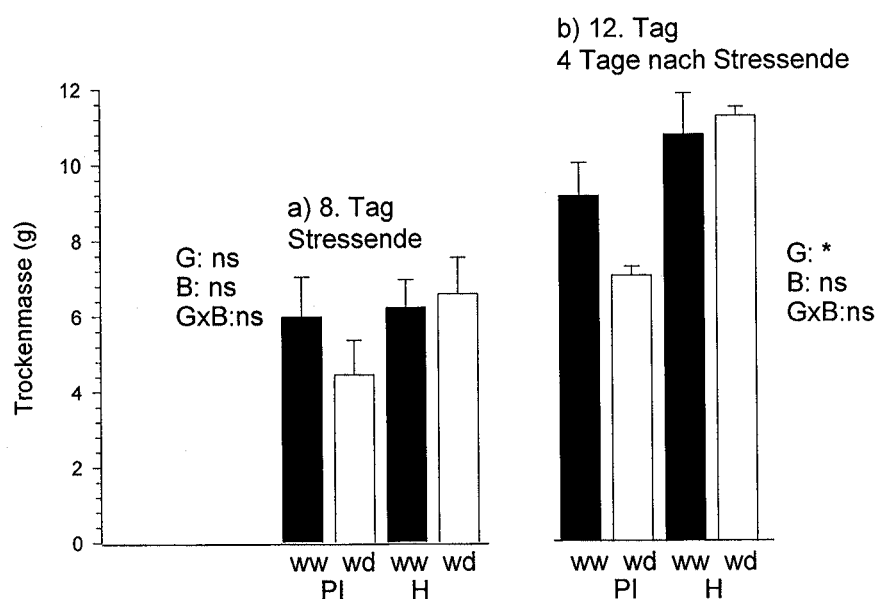


Abbildung 13: Samen-Trockenmasse (g) von PI und Hutcheson (a) am Stressende und (b) 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Die N-Konzentration in den Samen, Blättern, Stängeln und Hülsen der Kontrolle von PI (ww, Abb. 14, A-D) war zwischen dem 8. und 12. Tag nicht unterschiedlich. Bei den Samen, Blättern und Hülsen von Hutcheson (ww, Abb. 14, E, F, H) wurden ebenfalls keine Unterschiede bei den N-Konzentrationen festgestellt. Bei Hutcheson war bei den Stängeln (ww, Abb. 14, G) zwischen diesen beiden Terminen allerdings eine signifikante Zunahme der N-Konzentration zu verzeichnen.

Durch das Wasserdefizit war die N-Konzentration der Blätter von PI am Stressende unverändert (wd, Abb. 14, B) und bei Hutcheson (wd, Abb. 14, F) signifikant erniedrigt. Vier Tage nach dem Stressende lagen die N-Konzentrationen der Behandlung (wd) beider Genotypen signifikant unter denen der Kontrolle. Bemerkenswert dabei war, dass die gestressten Blätter von Hutcheson eine deutlich stärkere Verringerung auf 3 % N aufwiesen als PI. Bei Untersuchungen an Sojabohnen (De Souza et al., 1997) war der N-Gehalt (g m^{-2}) in den oberen Blättern bei einem um 40 % oder 70 %

verminderten Wasserangebot im Vergleich zur Kontrolle unverändert bzw. signifikant reduziert. Es ist bekannt, dass die Menge des Enzyms Ribulosebiphosphat-Carboxylase (Rubisco) mehr als 50 % der löslichen Proteine in einem voll entwickelten Blatt betragen kann. Der Abbau dieses Enzyms während der Blattalterung unterstützt die Idee, dass Rubisco eine bedeutende zelluläre N-Speicherquelle während der Blattentwicklung darstellt, die bei Seneszenz schnell remobilisiert werden kann, um das Wachstum junger Organe aufrecht zu erhalten (Masclaux et al., 2000).

Vier Tage nach Stressende wiesen die Samen der Behandlung von PI (wd, Abb. 14, A) eine höhere N-Konzentration auf als die Kontrolle. Die Ursache hierfür dürfte die verminderte Trockenmassebildung der Samen von PI sein (Abb. 13).

Bei den Stängeln von Hutcheson führte das Wasserdefizit (wd, Abb. 14, G) am Stressende zunächst zu deutlich höheren N-Konzentrationen gegenüber der Kontrolle, Das bestätigte auch in diesem Experiment, dass ein Stickstoff-Überschuss in den Stängeln verbleibt, wenn die Stickstoff-Akkumulation die Anforderungen wachsender Organe übersteigt. Bei Hutcheson kam es dann durch die Zunahme der N-Konzentration der Stängel der Kontrollpflanzen am Tag 12 zu einem signifikanten Unterschied im Vergleich zur Behandlung (wd, Abb. 14, G).

Die N-Konzentration der Hülsen war bei PI am Stressende (wd, Abb. 14, D) signifikant, und 4 Tage nach dem Stressende in der Tendenz erhöht.

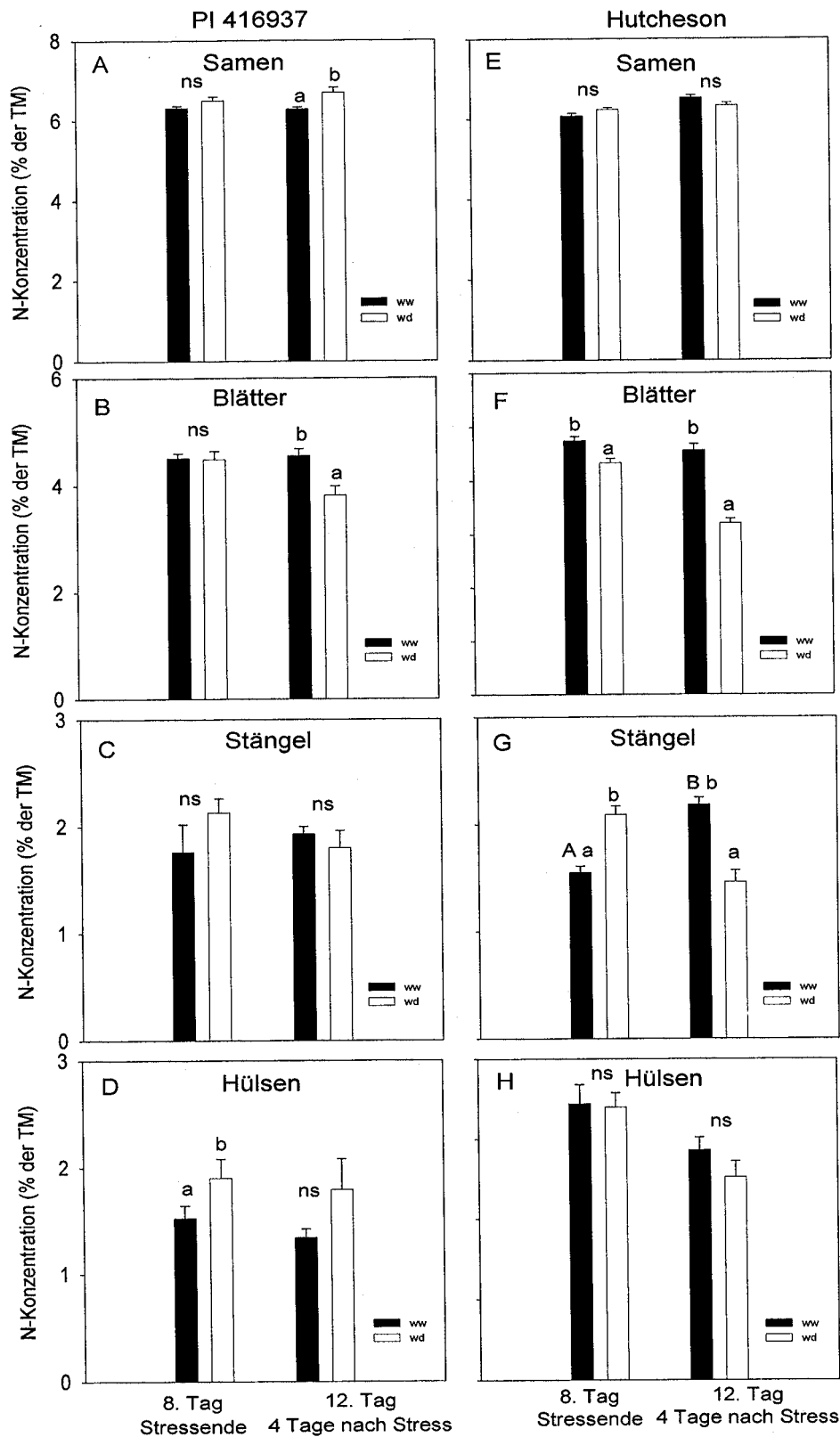


Abbildung 14: N-Konzentration (in % der TM) verschiedener Organe von PI (A-D) und Hutcheson (E-H) am Stressende und 4 Tage nach Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler; A, B signifikante Differenz zwischen ww/ww 8. Tag und 12. Tag; unterschiedliche Buchstaben a, b entsprechen signifikanter Differenz zwischen ww und wd am 8. Tag bzw. am 12. Tag, $P < 0.05$, t-Test; ns: nicht signifikant)

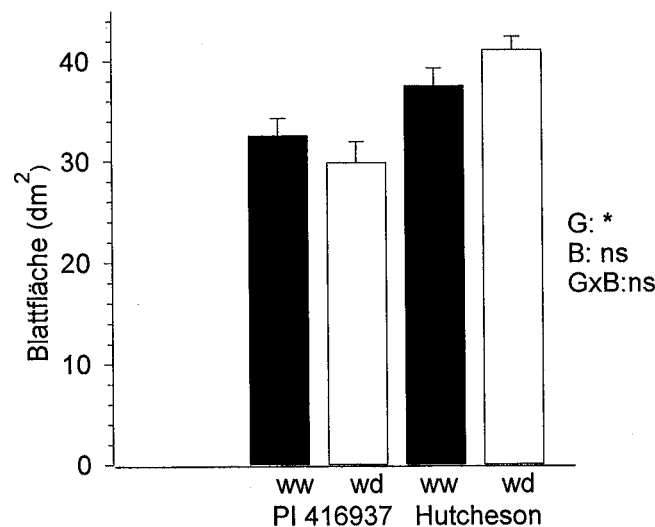


Abbildung 15: Gesamtblattfläche von PI und Hutcheson ein Tag nach dem Stressende. (Mittelwerte und Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung; *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Die Gesamtblattfläche pro Pflanze (Abb. 15) war 1 Tag nach dem Stressende bei PI und Hutcheson zwischen der Kontrolle (ww) und der Behandlung (wd) nicht unterschiedlich. Trotz kleinerer Blätter, aber aufgrund der Bildung von mehr Seitentrieben pro Pflanze (8.20 ± 0.20 b statt 5.50 ± 0.22 a; $P < 0.05$, T-Test) entwickelte Hutcheson im Vergleich zu PI signifikant mehr Blattfläche, und bestätigte die Sortenspezifität der Anlage von Seitensprossen (Jeuffroy und Ney, 1997).

Im Vergleich zu diesen beiden Genotypen hatte ein Bodenwasserdefizit zwischen 50 mm (milder Stress) und 120 mm (starker Stress) bei *Vicia faba* L. einen signifikanten Einfluss auf das Blattflächenwachstum, und damit auf die photosynthetisch aktive Fläche, die wiederum im Zusammenhang mit der Trockenmasseentwicklung und dem Samenertrag stand (De Costa et al., 1997, Mwanamwenge et al., 1999).

Zum Verständnis der Dynamik der Assimilatverteilung finden hauptsächlich Modelle die unter optimalen Wachstumsbedingungen erstellt wurden, und meist nur für wachsende Hülsen bzw. Samen am Hauptspross, Anwendung (Jeuffroy und Devienne, 1995, Voisin et al., 2002). Stickstoff wird während der pflanzlichen Entwicklung ständig transportiert. Die Samenentwicklung und die Synthese von Speicherproteinen ist eng mit dem N- und C- Metabolismus und der Verfügbarkeit von Assimilaten und N-haltigen Komponenten verbunden. Bei der zu dieser Zeit einsetzenden Alterung ve-

getativer Organe kommt es dadurch zur Nährstoffauslagerung und zu einer Verlagerung in die Samen, die starke Sinks für Stickstoff darstellen.

In der Literatur werden verschiedene Begriffe zur Beschreibung dieser Prozesse benutzt. Aus der Sicht der Dynamik und der Zirkulation des Stickstoffs kann eine negative prozentuale Änderung der N-Gehalte als Maß für die Mobilisierung angesehen werden. Als Remobilisierung sollten dann Veränderungen bezeichnet werden, die auf dem Abbau von Proteinen (Speicherproteine in den Vakuolen des Mesophylls) oder Zellstrukturen (Chloroplasten) in eine mobile Form basieren (Marschner, 1995). Der Anteil des aus den vegetativen Organen stammenden Stickstoffs kann dabei aus der Differenz zwischen zwei Zeitpunkten bestimmt werden (Kumundi et al., 2002, Kuradali et al., 1997), und wird für Leguminosen in einer sehr weiten Spanne zwischen 20 % und 100 % angegeben (De Souza et al., 1997, Kuradali et al., 1997).

Um die ^{15}N -Verlagerung vom Applikationsort an der Stängelbasis in die verschiedenen Organe, aber auch um den Einbau in die Proteine eingehend zu betrachten, wurden die ^{15}N -Gehalte und die ^{15}N -Gehalte in der Trichloressigsäure (TCE) unlöslichen Fraktion am 8. und 12. Tag des Untersuchungszeitraumes ermittelt. Die Werte an diesen zwei Terminen repräsentieren die ^{15}N -Verlagerung und den ^{15}N -Einbau während des jeweils davor liegenden Intervalls (vgl. Abb. 10), wobei sie bezüglich der Kontrolle (ww) rein zeitliche Veränderungen widerspiegeln, bezüglich des Wassermangels dessen unmittelbare Wirkung (4.-8. Tag) bzw. dessen Nachwirkung während der Wiederanfeuchtung (8.-12. Tag).

Tabelle 6: ^{15}N -Gehalt (A, mg) und ^{15}N -Gehalt in der TCE unlöslichen Fraktion (B, mg) am 8. Tag (Stressende) und am 12. Tag (4 Tage nach Stressende) in verschiedenen Organen bei PI und Hutcheson bei der Kontrolle (ww) und der Behandlung (wd).

Genotyp	A				B			
	mg ^{15}N				mg ^{15}N in TCE unlöslicher Fraktion			
	8. Tag		12. Tag		8. Tag		12. Tag	
	ww	wd	ww	wd	ww	wd	ww	wd
PI								
Blätter	0.51 ^b	0.31 ^a	0.34 ^b	0.14 ^a	0.34	0.17	0.19 ^b	0.04 ^a
Stängel	0.34	0.40	0.40	0.53	0.21 ^b	0.15 ^a	0.22	0.18 ^B
Hülsen	0.10	0.10	0.06	0.08	0.04	0.03	0.03	0.03
Samen	1.05	1.00	1.06	1.22	0.84 ^A	0.82 ^A	0.92	1.09
Samenanteil*	(53)	(55)	(57)	(62)	(59)	(69)	(68)	(81)
Hutcheson								
Blätter	0.49 ^b	0.27 ^a	0.28 ^b	0.12 ^a	0.25	0.13	0.16 ^b	0.04 ^a
Stängel	0.32	0.37	0.38	0.35	0.21 ^b	0.16 ^a	0.18	0.13 ^A
Hülsen	0.07	0.11	0.07	0.06	0.04	0.03	0.04 ^b	0.02 ^a
Samen	1.24	1.12	1.28	1.53	1.16 ^B	1.06 ^B	1.11	1.27
Samenanteil *	(58)	(60)	(64)	(74)	(70)	(77)	(74)	(87)

* in % des Gesamt- ^{15}N im Spross

(unterschiedliche Buchstaben A:B entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Genotypen; unterschiedliche Buchstaben a:b entsprechen signifikanter Differenz zwischen Kontrolle (ww) und Behandlung (wd), $P < 0.05$, T-Test)

Unabhängig vom Wasserangebot (ww/wd) lagen die ^{15}N -Gehalte (Tab. 6 A) zwischen den beiden Genotypen PI und Hutcheson zu den beiden Terminen am 8. und 12. Tag in den Blättern, Stängeln und Hülsen in einem engen Bereich.

^{15}N wurde erwartungsgemäß am stärksten in die Samen verlagert. Hierbei wies Hutcheson sowohl absolut, als auch relativ tendentiell höhere Werte auf. Der Anteil des in den Samen akkumulierten ^{15}N (Werte in Klammern) lag bei PI zwischen 53 % und 62 %, und bei Hutcheson zwischen 58 % und 74 %.

Wasserdefizit führte sowohl bei PI als auch bei Hutcheson in den Blättern am 8. Tag zu signifikant zu niedrigeren ^{15}N -Gehalten. Tendentielle Änderungen in Form einer Abnahme traten bei den Samen, und in Form einer Zunahme bei den Stängeln auf. Bei den gestressten Pflanzen beider Genotypen waren am 12. Tag ebenfalls niedrigere ^{15}N -Gehalte in den Blättern zu verzeichnen. In die Samen von PI und Hutcheson wurde zu diesem Zeitpunkt tendentiell mehr ^{15}N verlagert als bei der Kontrolle. Die Zunahme des ^{15}N -Gehaltes in den Stängeln von PI im Vergleich zur Kontrolle

war durch individuelle Schwankungen statistisch nicht zu sichern, befand sich aber auf der Signifikanzgrenze von 0.05.

Der ^{15}N -Gehalt in der Trichloressigsäure (TCE) unlöslichen Fraktion (Tab. 6 B) kann bei pflanzlichen Organen als Maß für den Einbau in Proteine angesehen werden (Davis, 1979). Bei Hutcheson war der Einbau von ^{15}N in die Samenproteine am 8. Tag bei der Kontrolle (ww) und bei der Behandlung (wd) signifikant höher als bei PI. Auch in der TCE unlöslichen Fraktion lagen die ^{15}N -Gehalte der anderen Organe in einem relativ engen Bereich. Bei PI wurde am 12. Tag bei Wasserdefizit (wd) ein signifikant höherer ^{15}N -Gehalt in der TCE unlöslichen Fraktion der Stängel als bei Hutcheson bestimmt.

Die restriktive Bewässerung (wd) führte bei beiden Genotypen bei den Blättern am 8. Tag zu einer tendentiellen, und am 12. Tag zu einem signifikant niedrigeren Einbau in die Blattproteine. Im Vergleich zur Kontrolle kam es durch das Wasserdefizit bei PI und Hutcheson in den Stängeln am 8. Tag zu signifikant niedrigeren ^{15}N -Gehalten in der TCE unlöslichen Fraktion. Die Behandlung (wd) führte bei Hutcheson am 12. Tag außerdem zu einer Abnahme von ^{15}N in der Proteinfraction der Hülsen.

Eine unter Wasserdefizit verschlechterte N-Verfügbarkeit kann eine Vielzahl von sekundären Beeinträchtigungen und Veränderungen des Stoffwechsels nach sich ziehen. So werden u. a. Enzyme in größerer Menge synthetisiert, die beim Ligninaufbau involviert sind (Lösch, 2001). Bei PI könnte das der Fall sein, da die Summe der Gerüstsubstanzen NDF (Neutral Detergent Fiber) und ADF (Acid Detergent Fiber) im Stängel gegenüber dem Genotyp Holladay in eigenen Untersuchungen unter Feldbedingungen signifikant erhöht war (Daten nicht dargestellt). Hauptsächlich in Strukturkomponenten eingelagerten Stickstoff bestimmte Zapata et al. (1987) mit der ^{15}N -Technik während der frühen reproduktiven Phase von Sojabohnen, der dann später in der Hülsenentwicklung nicht mobilisiert wurde. Die Ein- und Auslagerung von Stickstoff in den Stängel könnte Bedeutung für das Ertragspotential von Sojabohnen erlangen, da die höchsten Erträge erzielt wurden, wenn die wachsenden Stängel hohe, und seneszente Stängel niedrige N-Gehalte aufwiesen (Sinclair et al., 2003). Masclaux et al. (2000) kamen nach Untersuchungen an *Nicotiana tabacum* zu einer Einteilung der Enzymaktivität in den Blättern, die zum einen die primäre N-Assimilation und zum anderen die Remobilisierung reguliert. Sie stellten fest, dass der metabolische Flux zwischen diesen N-Pools und zwischen Organen verschiedenen Alters Änderungen unterliegt.

Über die Effekte von Trockenstress auf das Wachstum und den Ertrag von Seitensprossen ist bisher wenig bekannt (Frederick et al., 2001). Daher wurde in den folgenden Abbildungen der Anteil der Trockenmasse verschiedener Organe der Seiten-

sprosse an der Gesamttrockenmasse, und dazu vergleichend der Seitensprossanteil von ^{15}N am Gesamt ^{15}N im jeweiligen Organ an den Seitensprossen dargestellt.

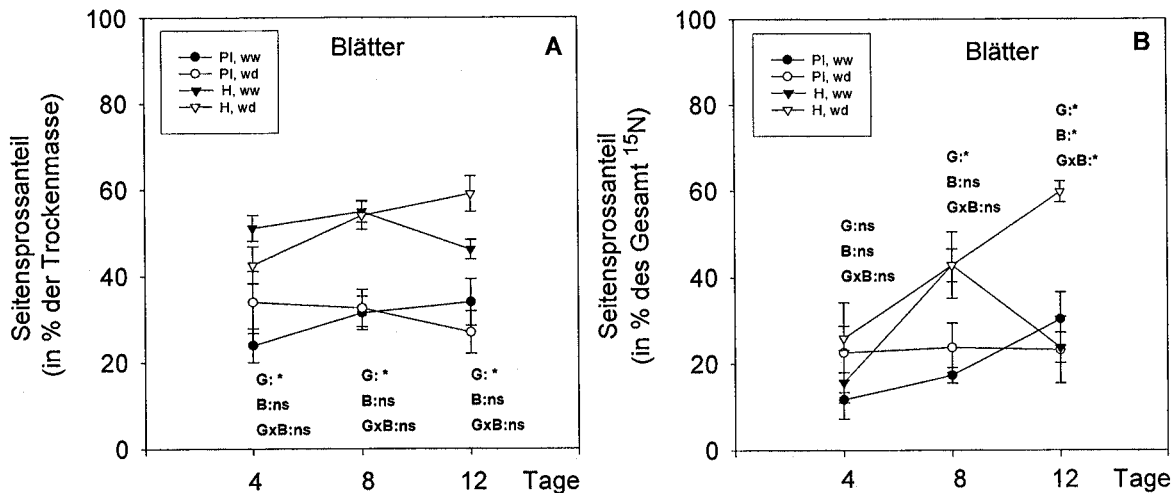


Abbildung 16: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Blätter an der Gesamttrockenmasse der Blätter und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Blätter (in % des Gesamt ^{15}N der Blätter) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Bei Hutcheson führte die größere Anzahl an Seitensprossen auch zu einem signifikant höheren prozentualen Seitensprossanteil an der Gesamtmasse der Blätter, Stängel, Hülsen und Samen (Abb. 16 bis 19).

Der Seitensprossanteil der Blattmasse (ww/wd, Abb. 16 A) betrug im Mittel der drei Termine etwa 50 % bei Hutcheson und 30 % bei PI. Das Wasserdefizit hatte keinen Effekt auf den Seitensprossanteil der Blätter. Die ^{15}N -Translokation in die Blätter der Seitensprosse (Abb. 16 B) war bei Hutcheson am Stressende (Tag 8) und 4 Tage nach Stressende (Tag 12) höher als bei PI. Die Behandlung (wd) hatte 4 Tage nach Stressende (Tag 12), also in der Erholungsphase nach dem Stress, einen Einfluss auf den Anteil des in die Seitensprosse verlagerten ^{15}N . Die Interaktion zwischen Genotyp und Behandlung war zu diesem Zeitpunkt signifikant.

Der Seitensprossanteil der Stängelmasse (ww/wd, Abb. 17 A) betrug im Untersuchungszeitraum etwa 48 % bei Hutcheson und 33 % bei PI. Das Wasserdefizit hatte zu keinem Termin einen Effekt auf den Seitensprossanteil der Stängel. Die ^{15}N -Translokation in die Stängel der Seitensprosse (Abb. 17 B) war bei Hutcheson am Stressende (Tag 8) und 4 Tage danach (Tag 12) höher als bei PI. Die Behandlung

hatte dabei ebenfalls keinen Einfluss auf den Anteil des in die Seitensprosse verlagerten ^{15}N .

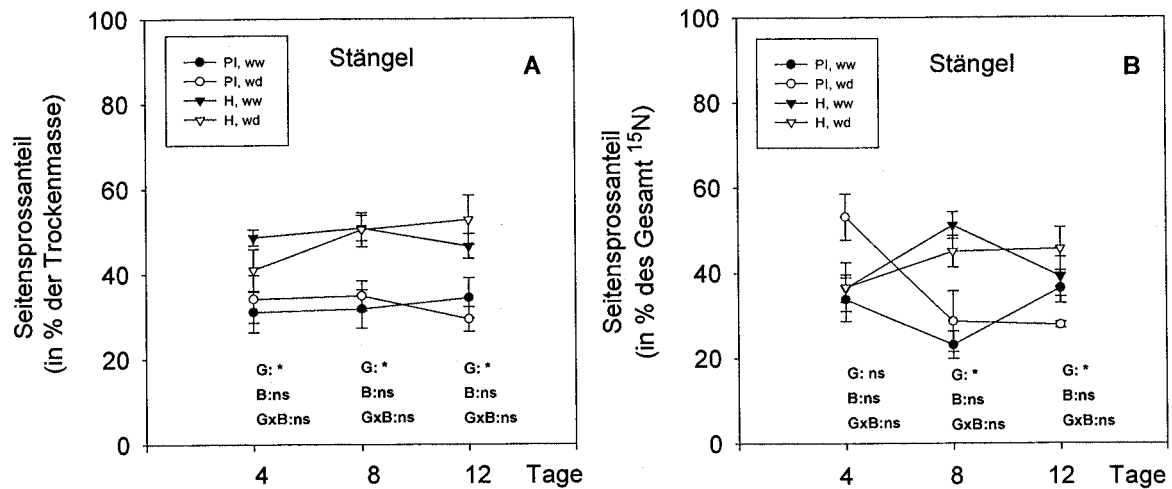


Abbildung 17: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Stängel an der Gesamttrockenmasse der Stängel und (B) der Seitensprossanteil des ^{15}N der Stängel (in % des Gesamt ^{15}N der Stängel) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Der Seitensprossanteil der Hülsenmasse (ww/wd, Abb. 18 A) betrug im Mittel der drei Termine etwa 64 % bei Hutcheson und 34 % bei PI. Vier Tage nach Stressende (Tag 12) war der Anteil durch die Behandlung beeinflusst.

Die ^{15}N -Translokation in die Hülsen der Seitensprosse (Abb. 18 B) war bei Hutcheson zu allen Terminen höher als bei PI. Bei den Hülsen hatte das Wasserdefizit nur kurzfristig innerhalb der ersten 4 Tage einen signifikanten Einfluss auf den Anteil des in die Seitensprosse verlagerten ^{15}N .

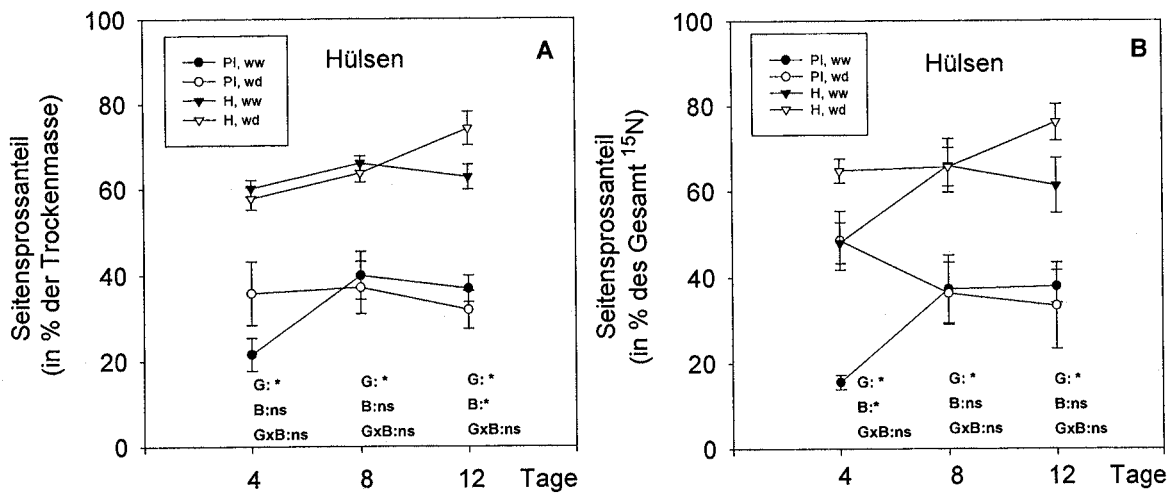


Abbildung 18: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Hülsen an der Gesamttrockenmasse der Hülsen und (B) der Seitensprossanteil des ¹⁵N der Hülsen (in % des Gesamt ¹⁵N der Hülsen) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson. (Mittelwerte ± Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Der Seitensprossanteil der Samenmasse (ww/wd, Abb. 19 A) betrug im Mittel der drei Termine etwa 63 % bei Hutcheson und 32 % bei PI. Bei den Samen hatte die Behandlung am Stressende (Tag 8) und 4 Tage nach Stressende (Tag 12) einen Effekt auf den Seitensprossanteil.

Die ¹⁵N-Translokation in die Samen der Seitensprosse (Abb. 19 B) war bei Hutcheson höher als bei PI. Die Behandlung hatte dabei keinen Einfluss auf den Anteil des in die Seitensprosse verlagerten ¹⁵N.

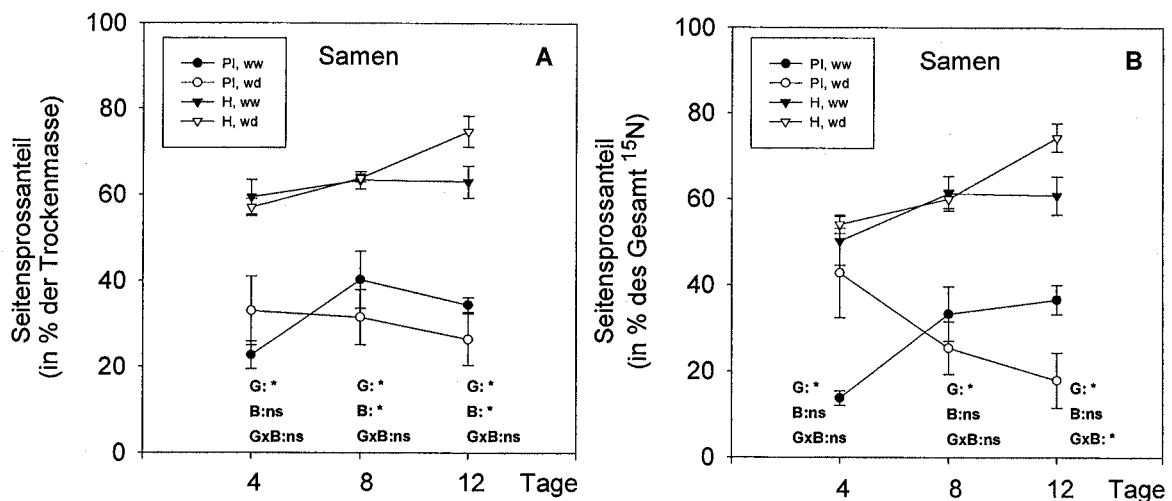


Abbildung 19: Seitensprossanteil (A) (%) der Trockenmasse der Samen an der Gesamttrockenmasse der Samen und (B) der Seitensprossanteil des ¹⁵N der Samen (in % des Gesamt ¹⁵N der Samen) während der Samenfüllungsphase (R5) von PI und Hutcheson.

(Mittelwerte ± Standardfehler, G: Genotyp, B: Behandlung, *: signifikant, ns: nicht signifikant)

Der Anteil des in die Seitensprosse translozierten ¹⁵N war bei allen untersuchten Organen und Terminen eng mit der Bildung von Trockensubstanz verbunden.

In Feldversuchen an Sojabohnen hatte Trockenstress in der Zeit zwischen dem Blütenansatz (R1) und 2 Wochen nach dem Beginn der Samenfüllungsphase (R5) auf die vegetativen und generativen Organe an Seitensprossen einen stärkeren Effekt, als auf den Hauptspross (Frederick et al., 2001). Der Anteil des Ertrags an den Seitensprossen betrug bei Bewässerung etwa 66 % und wurde durch Stress auf 45 % reduziert. Dabei hatte der Trockenstress keinen Effekt auf den ‚Seitenspross-Harvest-Index‘. Der Stress reduzierte daher das Wachstum der vegetativen und generativen Organe proportional. Die Autoren nahmen an, dass die geringere Empfindlichkeit am Hauptspross gegenüber Trockenheit durch eine längere Zeit der Entwicklung im Vergleich zu der Zeit, die Seitensprosse zur Entwicklung haben, bedingt sein könnte. Desclaux und Roumet (1996) berichteten bei Wassermangel von einer kürzeren Sequenz zwischen der letzten Blüte und dem Erscheinen der ersten Hülse, zwischen dem Erscheinen der letzten Hülse und dem ersten Samen, sowie von einer Abnahme der Anzahl an Nodien. Dabei traten die Reduktionen bei dem indeterminierten Genotyp Weber mehr an Seitensprossen als am Hauptspross auf, und bei dem determinierten Genotyp Spot war der Hauptspross stärker beeinträchtigt, als die Seitensprosse.

Der Mechanismus der Vermeidung von Dürre (drought avoidance) ist z. B. durch die Ausbildung eines ausgeprägteren Wurzelsystems, wie es sich bei PI und Hutcheson zeigte (Abb. 12), und durch einen effizienten Stomatenschluss gekennzeichnet. Bei Pflanzen die Dürre tolerieren (drought tolerance), spielen Prozesse auf der zellulären Ebene, wie die Osmotische Anpassung, die dafür sorgt, das Wachstum von Wurzeln und Spross unter Stressbedingungen aufrecht zu erhalten, und der Schutz von Membransystemen eine größere Rolle (Levitt, 1980). Spezies, die ihre Stomata langsamer bzw. bei Dürre gar nicht schliessen, halten dadurch die CO₂-Assimilation länger aufrecht, wodurch die Einschränkung des Wachstums verringert bzw. vermieden werden kann. Bei *Phaseolus vulgaris* wurden Sorten mit diesen Fähigkeiten bei Trockenstress ermittelt (Costa Franca et al., 2000). Bei Auftreten von kurzzeitigem Wasserdefizit ist das Schliessen der Stomata ein wirkungsvoller Anpassungsmechanismus. Bei längeren Perioden von Wassermangel erlauben spezifische zelluläre biochemische Anpassungsmechanismen ein besseres Widerstehen. Diese könnten auch von der Glutamin-Synthetase ausgehen, da in den Blättern zwei Multigen-Familien festgestellt wurden, eine kodierend für cytosolische Formen und eine andere für Chloroplasten-Formen. Ausserdem könnten diese Anpassungsmechanismen im Zusammenhang mit zwei Enzymen in den Chloroplasten, einer licht-induzierbaren, Ferredoxin abhängigen oder der NADPH-abhängigen Form stehen. Die N-Versorgung der Organe kann aber auch durch spezifische N-Transport und/oder N-Speichermetabolite sichergestellt werden (Werner und Schmidt, 2002).

In diesem Experiment wurde mit Hutcheson ein Genotyp untersucht, der tendentiell besser als PI in der Lage ist, die Syntheseprozesse bei einem zeitlich und mengenmäßig begrenzten Wasserangebot während der Samenfüllungsphase (R5/R6) uneinträchtigt weiter zu führen. Hutcheson verfügt über Mechanismen die ein besseres Widerstehen gegenüber Stress während des Untersuchungszeitraumes in der Samenfüllungsphase erlaubten. Mit dem Wurzelwachstum, der Blattflächenentwicklung oder anhand der ¹⁵N-Translokation und waren die Ursachen nicht zu erklären. Daher wäre es lohnenswert, in weiter gehenden Untersuchungen an Hutcheson die Ursachen dieser Fähigkeiten aufzuklären.

5.3. Vergleich der ^{15}N -Translokation bei Sojabohnen bei Wasserdefizit unter Feld- und Klimakammerbedingungen

A1: Götz, K.-P., H. Herzog, R. P. Patterson and C.D. Raper Jr.

Comparison of ^{15}N translocation of soybeans under water deficit in field and growth chamber conditions. 2001

In: *Fourth European Conference on Grain Legumes*, 8-12 July, Cracow, Poland 306-307, (Ed. AEP), Paris, France.

In diesen Untersuchungen sollte die Praktikabilität der Injektion von ^{15}N in die Sprossbasis zur Bestimmung der ^{15}N -Translokation innerhalb der Pflanze unter Feldbedingungen geprüft werden. Zunächst wurde dazu zusätzlich zum Inhalt des Artikel 1 der zeitliche Verlauf der Auslagerung von ^{15}N aus der Sprossbasis innerhalb eines Tages in verschiedene Organe dargestellt. In einem weiteren Experiment sollten die Veränderungen der ^{15}N -Translokation zwischen zwei Terminen erfaßt und mit Resultaten, die unter kontrollierten Bedingungen erzielt wurden, verglichen werden. Der Inhalt des Originalartikels A1 wurde dabei durch zusätzliche Daten ergänzt.

5.3.1. Methodik

Die Auslagerung von ^{15}N aus der Sprossbasis in verschiedene Organe während der frühen Samenfüllungsphase (R5) wurde an der Sojabohne Eris an Pflanzen aus dem Feldsortiment Körnerleguminosen der Versuchsstation Pflanzenbauwissenschaften in Berlin-Dahlem untersucht. In einer Parzelle (8 x 1,35 m, 13,5 cm Reihenabstand) erhielten ab 7.00 Uhr 7 Gruppen mit jeweils 4 Pflanzen im Abstand von 10 Minuten 2 mg ^{15}N (50 μl) in die Sprossbasis injiziert. Die Probensammlung und Einteilung der Pflanzen in Blätter, Hülsen, Samen und Stängel und in den Bereich um die Injektionsstelle ($\pm 2,5$ cm) erfolgte nach 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden. Der Bodenwassergehalt wurde gravimetrisch bestimmt.

Im Rahmen von Feldversuchen der Central Crops Research Station, Clayton, North Carolina, USA, standen die Genotypen PI 416937 (PI) und Holladay zur Blüte (R2) in Parzellen (12 x 6 m, 17 cm Reihenabstand) mit 5facher Wiederholung zur Verfügung. Die Pflanzen erhielten 59 Tage nach Aussaat zwischen 9.00 und 11.00 Uhr eine Injektion von 0.8 mg ^{15}N (20 μl) in die Sprossbasis.

Ein und 4 Tage später wurden die Pflanzen geerntet und in die Blätter und Stängel und in die Fraktionen *unten* (bis Nodium 6), *mitte*, (Nodium 7 und 8), *oben* (Nodium 9 und 10) und *spitze* (>Nodium 10, noch nicht voll entwickelte Blätter) eingeteilt. Auftretende Niederschläge wurden durch Überdachungen der Parzellen abgehalten. Zur

Probensammlung erfolgte die Messung des Bodenwassergehaltes und des Blattwasserpotentials, wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben.

5.3.2. Ergebnisse und Diskussion

Die von der Sojabohne Eris (Berlin) gebildete Trockenmasse der Organe und deren N-Gehalte (in % der TM) wurden in der Tabelle 7 dargestellt. Der Anteil der Samen und Hülsen an der Gesamtpflanze lag bei 31 %, so dass eine große Menge an Trockenmasse auf die vegetative Organe entfiel. Auffällig waren die relativ niedrigen N-Gehalte der Blätter und Stängel mit 1.7 % bzw. 0.6 % im Vergleich zu Nordamerikanischen Genotypen (Tab. 8 B), die Werten entsprechen, die Sinclair et al. (2003) für seneszente Organe angibt. Sie dürften zum einen durch die Auslagerung von Stickstoff aus den vegetativen Organen und der Verlagerung in die Samen (R5) im Vergleich zur Blüte (R2, North Carolina) bedingt sein. Andererseits könnte die N-Versorgung der Pflanzen durch die vor der Aussaat nicht vorgenommene Inokulation der Samen mit *Bradorhizobium japonicum* eingeschränkt gewesen sein. Der Wassergehalt in der oberen Bodenschicht zwischen 0 und 20 cm betrug 5.4 ± 0.1 %.

Tabelle 7: Trockenmasse (TM, g) und N-Gehalt (in % der TM) verschiedener Organe der Sojabohne Eris während der Samenfüllungsphase.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, n=4, Berlin, R5)

Organ	Trockenmasse (g)	N-Gehalt (TM)
Samen	6.194 \pm 0.46	4.54 \pm 0.15
Hülsen	6.622 \pm 0.60	1.09 \pm 0.03
Blätter	11.325 \pm 0.96	1.72 \pm 0.07
Stängel	15.552 \pm 1.14	0.61 \pm 0.02
Injektions-Abschnitt	1.259 \pm 0.07	0.45 \pm 0.02

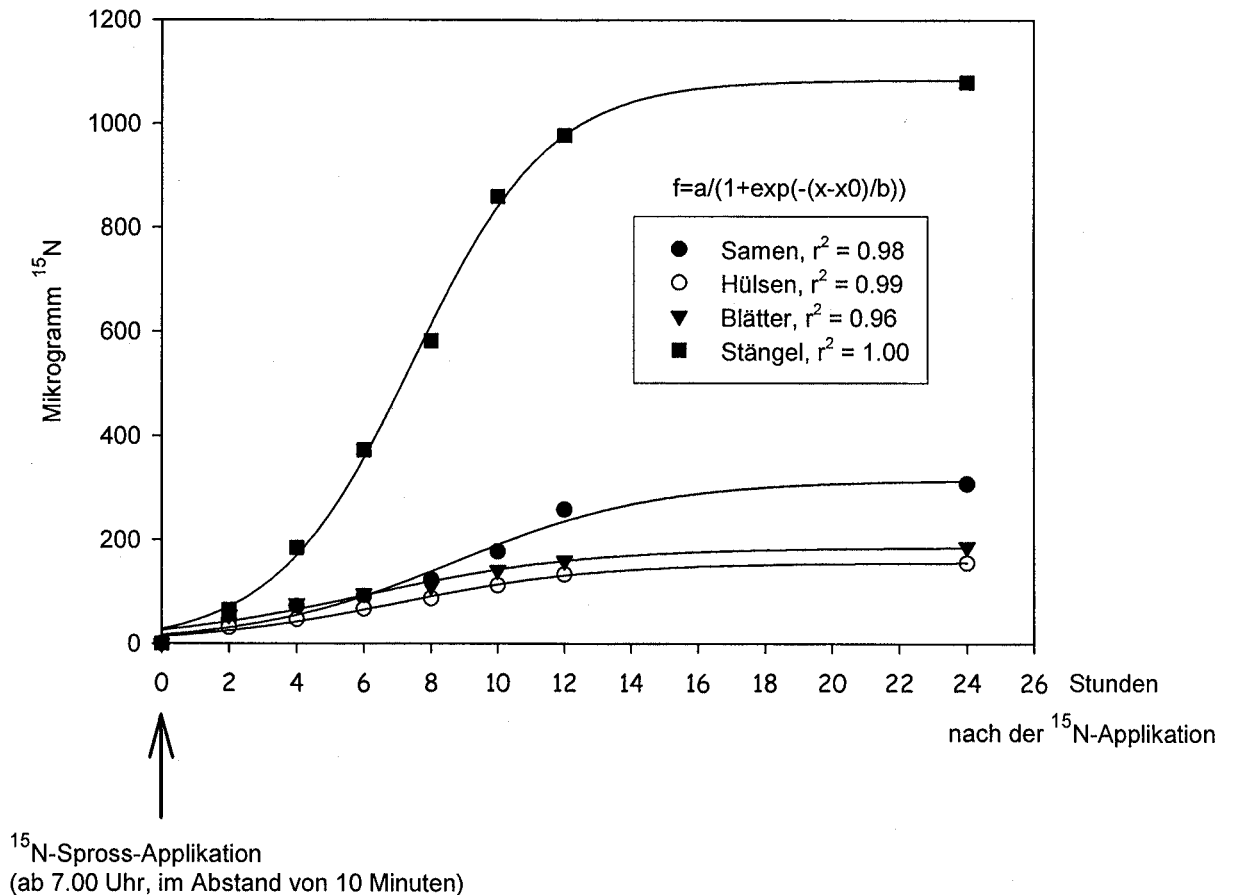


Abbildung 20: Abhängigkeit der kumulativen ^{15}N -Menge von der Zeit und den Organen bei der Sojabohne Eris unter Feldbedingungen in Berlin während der Samenfüllungsphase (R5).

^{15}N war schon 2 Stunden nach der Applikation in allen Organen nachweisbar (Abb. 20). Die Verlagerung aus dem Injektionsabschnitt der Sprossbasis (Tab. 7, 1.3 g TM, 5 cm lang) in die Stängel zeigte von der 2. bis zur 12. Stunde den deutlichsten Anstieg und die höchsten ^{15}N -Gehalte. In den Samen, Hülse und Blättern kam es bis zur 8. Stunde parallel zu einem leichten, kontinuierlichen Anstieg der ^{15}N -Gehalte. Ab der 10. Stunde lag die Translokation von ^{15}N in die Samen über der Translokation in die Hülse und Blätter. Die ^{15}N -Akkumulation aller Organe folgte einem exponentiellen Verlauf mit einem Plateau zwischen der 12. und 24 Stunde. Da zu dieser Zeit etwa 75 % des applizierten ^{15}N aus dem Applikationsort in den Stängel ausgelagert wurden, war die Translokation aus der Sprossbasis nach 24 Stunden noch nicht beendet.

In der Central Crops Research Station, Clayton, North Carolina, wurde nach einer 17 Tage dauernden Periode ohne Bewässerung und Niederschläge (4 Tage nach der ^{15}N -Applikation), ein Wassergehalt im Boden von 4 % (0 bis 10 cm) und ein Blatt-

wasserpotential von -0.90 MPa bestimmt (Mittelwerte der Genotypen und Parzellen) (nicht dargestellt).

Tabelle 8: (A) Trockenmasse (TM, g pro Pflanze) und (B) N-Gehalt (in % der TM) in Blättern und Stängeln in verschiedenen Fraktionen (Mittelwerte \pm Standardfehler von 2 Erntetagen, Tag 1 und 4, n=10, Einzelpflanzen, North Carolina, Blüte, R2) (unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz, $P < 0.05$, zwischen den Fraktionen - Tukey-Test)

Merkmal/ Fraktion	PI 416937		Holladay	
	Blätter	Stängel	Blätter	Stängel
(A) TM (g)				
unten	0.821 \pm 0.04 ^b	1.478 \pm 0.07 ^d	0.742 \pm 0.05 ^b	1.381 \pm 0.08 ^c
mitte	1.337 \pm 0.08 ^c	1.123 \pm 0.06 ^c	1.076 \pm 0.08 ^c	1.117 \pm 0.07 ^b
oben	1.158 \pm 0.09 ^c	0.858 \pm 0.08 ^b	1.061 \pm 0.07 ^c	0.914 \pm 0.05 ^b
spitze	0.239 \pm 0.02 ^a	0.100 \pm 0.01 ^a	0.153 \pm 0.02 ^a	0.071 \pm 0.01 ^a
(B) N-Gehalt (% TM)				
unten	3.04 \pm 0.09 ^a	0.89 \pm 0.02 ^a	3.32 \pm 0.08 ^a	1.12 \pm 0.09 ^a
mitte	4.49 \pm 0.11 ^b	1.22 \pm 0.05 ^a	4.18 \pm 0.13 ^b	1.35 \pm 0.10 ^a
oben	5.19 \pm 0.10 ^c	1.62 \pm 0.07 ^b	4.87 \pm 0.15 ^c	1.63 \pm 0.13 ^a
spitze	4.40 \pm 0.10 ^b	2.51 \pm 0.15 ^c	5.11 \pm 0.12 ^c	3.25 \pm 0.42 ^b

Bei den Blättern von PI und Holladay (Tab. 8 A) war in der Fraktion *mitte* und *oben* signifikant mehr Trockenmasse lokalisiert, als in der Fraktion *unten* und *spitze*, die die leichteste Fraktion darstellte. Die Trockenmasse der Stängel nahm bei PI und Holladay von unten nach oben ab, wobei sich die einzelnen Fraktionen signifikant unterschieden.

Die N-Gehalte (in % der Trockenmasse) der Blätter (Tab. 8 B) nahmen bei beiden Genotypen gerichtet von unten nach oben zu. Bei PI entsprach der N-Gehalt der in der Fraktion *spitze* der Fraktion *mitte*, und bei Holladay der Fraktion *oben*. Auch die N-Gehalte der Stängel nahmen von unten nach oben zu, wobei bei PI die Fraktionen *oben* und *spitze*, und bei Holladay die Fraktion *spitze* signifikant erhöht war.

Die ¹⁵N-Gehalte (mg) in den Stängeln nahmen bei PI (Abb. 21 A) und bei Holladay (Abb. 21 C) einen Tag nach der ¹⁵N-Applikation von *unten*, dem Applikationsort, bis zur Fraktion *spitze* ab. Bei Holladay war durch eine höhere Applikationsmenge an ¹⁵N in der Fraktion *unten* mehr ¹⁵N enthalten als bei PI. Bei beiden Genotypen enthielt die Fraktion *mitte* und *oben* etwa gleiche Mengen an ¹⁵N, die sich damit signifikant von der darüber- bzw. darunter liegenden Fraktion unterschieden. Entgege-

setzt zu den Stängeln nahmen die ^{15}N -Gehalte bei PI in den Blättern (Abb. 21 B) und bei Holladay (Abb. 21 D) von *unten* nach *oben* zu. Sie unterschieden sich bei

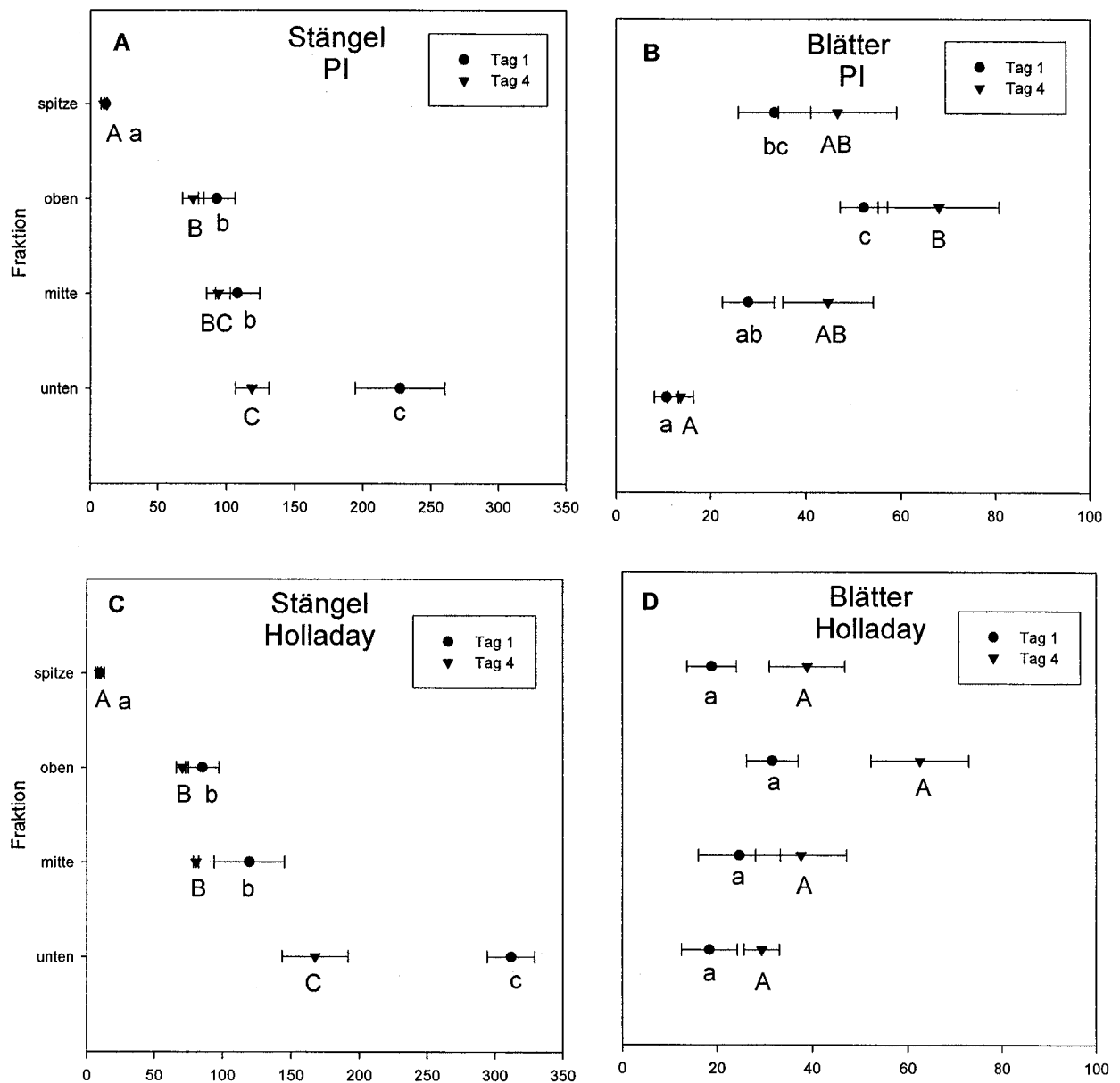


Abbildung 21: ^{15}N -Gehalt (μg) bei PI (A, Stängel, B, Blätter) und Holladay (C, Stängel, D, Blätter) 1 und 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation unter Feldbedingungen. (Mittelwerte \pm Standardfehler, $n = 5$, North Carolina, Blüte (R2), unterschiedliche Buchstaben a:b entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 1, unterschiedliche Buchstaben A:B entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 4)

PI zwischen einzelnen Fraktionen signifikant, was bei Holladay nicht der Fall war. ^{15}N war bei PI am stärksten in den Blättern der Fraktion *oben* akkumuliert.

Vier Tage nach der ^{15}N -Applikation kam es in den Blättern (Abb. 21 B, D) zu erhöhten ^{15}N -gehalten. Dabei waren bei PI die signifikanten Unterschiede zwischen den Fraktionen wie sie einen Tag nach der ^{15}N -Applikation auftraten, weniger ausgeprägt. Bei Holladay unterschieden sich die Fraktionen hinsichtlich ihres ^{15}N -Gehaltes wie am Tag 1 ebenfalls nicht. Das verstärkte Erscheinen von ^{15}N in den Blättern führte bei den Stängeln in allen Fraktionen zu einer Auslagerung von ^{15}N . Die Gehalte in den Stängeln nahmen ab (Abb. 21 A, C). Bei PI unterschied sich der ^{15}N -Gehalt nicht mehr zwischen der Fraktion *unten* und *mitte*. Wie am Tag 1 enthielt bei Holladay die Fraktion *mitte* und *oben* etwa gleiche Mengen an ^{15}N , und unterschied die sich damit signifikant von der darüber- bzw. darunter liegenden Fraktion.

Die ^{15}N -Konzentrationen ($\mu\text{g } ^{15}\text{N}$ pro g Trockenmasse) in den Blättern von PI (Abb. 22 A) und Holladay (Abb. 22 B) waren zwischen der Fraktion *unten* und *oben* am Tag 1 und 4 nicht unterschiedlich. Die jüngsten Blätter beider Genotypen in der Fraktion *spitze* wiesen die höchsten ^{15}N -Konzentrationen auf, was wiederum die höhere Sinkaktivität junger, wachsender Organe demonstriert.

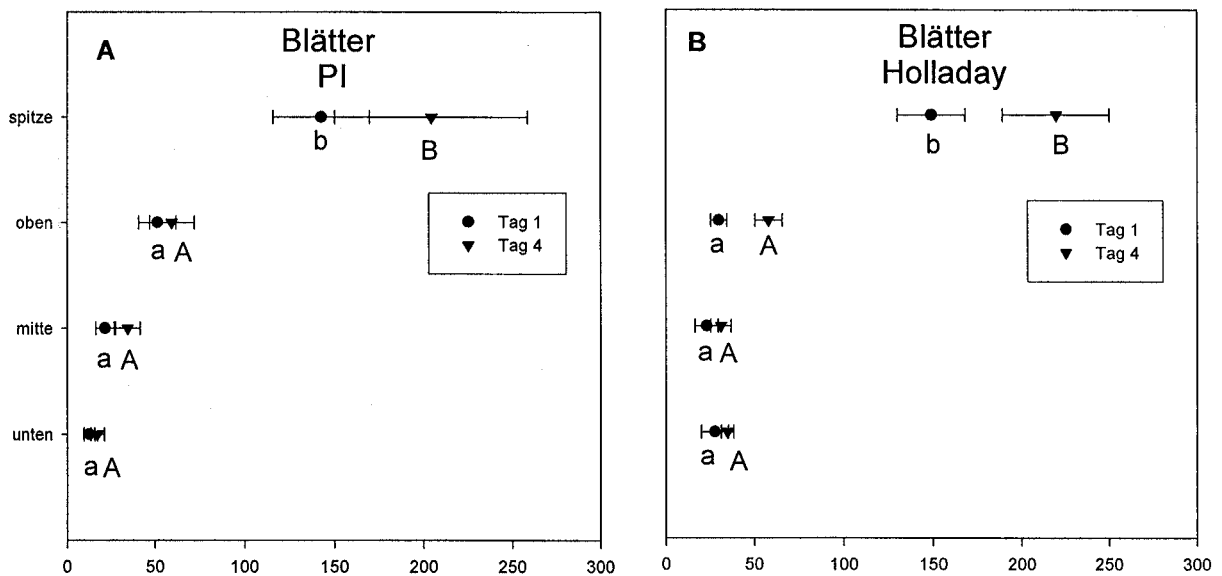


Abbildung 22: ^{15}N -Konzentration ($\mu\text{g } ^{15}\text{N}$ pro g Trockenmasse) in den Blättern von PI (A) und Holladay (B) 1 und 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation unter Feldbedingungen.

(Mittelwerte \pm Standardfehler, $n = 5$, North Carolina, Blüte (R2), unterschiedliche Buchstaben a:b entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 1, unterschiedliche Buchstaben A:B entsprechen signifikanter Differenz zwischen den Fraktionen Tag 4)

Um die unter Feldbedingungen (PI und Holladay) und unter kontrollierten Bedingungen (PI und Hutcheson, wd) erzielten Ergebnisse zu vergleichen, wurden die ^{15}N -Konzentrationen ($\mu\text{g } ^{15}\text{N}$ pro g TM) der Blätter und Stängel gegenüber gestellt. Das war u. a. deshalb möglich, da in beiden Untersuchungen (Feld/Klimakammer) ein Blattwasserpotential von -0.90 MPa gemessen wurde, und die Probensammlung 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation erfolgte.

Bei PI war das Muster der relativen ^{15}N -Konzentration in den Blättern zwischen den Untersuchungen im Feld (Blüte, R2) und in der Klimakammer (Samenfüllungsphase, R5) sehr ähnlich (Abb. 23). Die ^{15}N -Konzentration war in der Fraktion *unten* und *mitte* etwa gleich. Die Blätter der Fraktion *oben* wiesen jeweils eine höhere relative ^{15}N -Konzentration auf, als die in der Fraktion *mitte* und *unten*. Im Feld waren die jungen, noch nicht voll entwickelten Blätter zur Blüte deutlich stärkere Sinks für ^{15}N als in der Klimakammer, wo in der Samenfüllungsphase in der Fraktion *oben* neben den Blättern auch wachsende Hülsen und Samen ^{15}N akkumulierten. Zwischen den beiden Genotypen PI und Holladay traten hinsichtlich der ^{15}N -Konzentration in den Blättern im Feld keine Unterschiede auf. Durch die geringere Empfindlichkeit von Hutcheson gegenüber Wasserdefizit (siehe Kapitel 5.2, Klimakammer) waren die ^{15}N -Konzentrationen in den Blättern höher als bei PI.

Das Muster der relativen ^{15}N -Konzentration war bei PI in den Stängeln zwischen den Untersuchungen im Feld (Blüte, R2) und in der Klimakammer (Samenfüllungsphase, R5) ebenfalls sehr ähnlich (Abb. 24). In allen Fraktionen traten durch die gleichzeitige Abnahme an Trockenmasse und der ^{15}N -Gehalte (μg) in den Fraktionen von unten nach oben etwa gleich hohe ^{15}N -Konzentrationen auf. Die Stängel in den verschiedenen Fraktionen im Feld und in der Klimakammer hatten daher keine Wirkung als Sinks, und dienten als Transport- und Speicherorgan. Unterschiede zwischen den Genotypen waren nicht erkennbar.

Die Spross-Applikation erwies sich damit als eine praktikable Methode, um die Verlagerung von Stickstoff innerhalb der Pflanze unter verschiedenen Umweltbedingungen innerhalb kurzer Zeitabschnitte zu verfolgen.

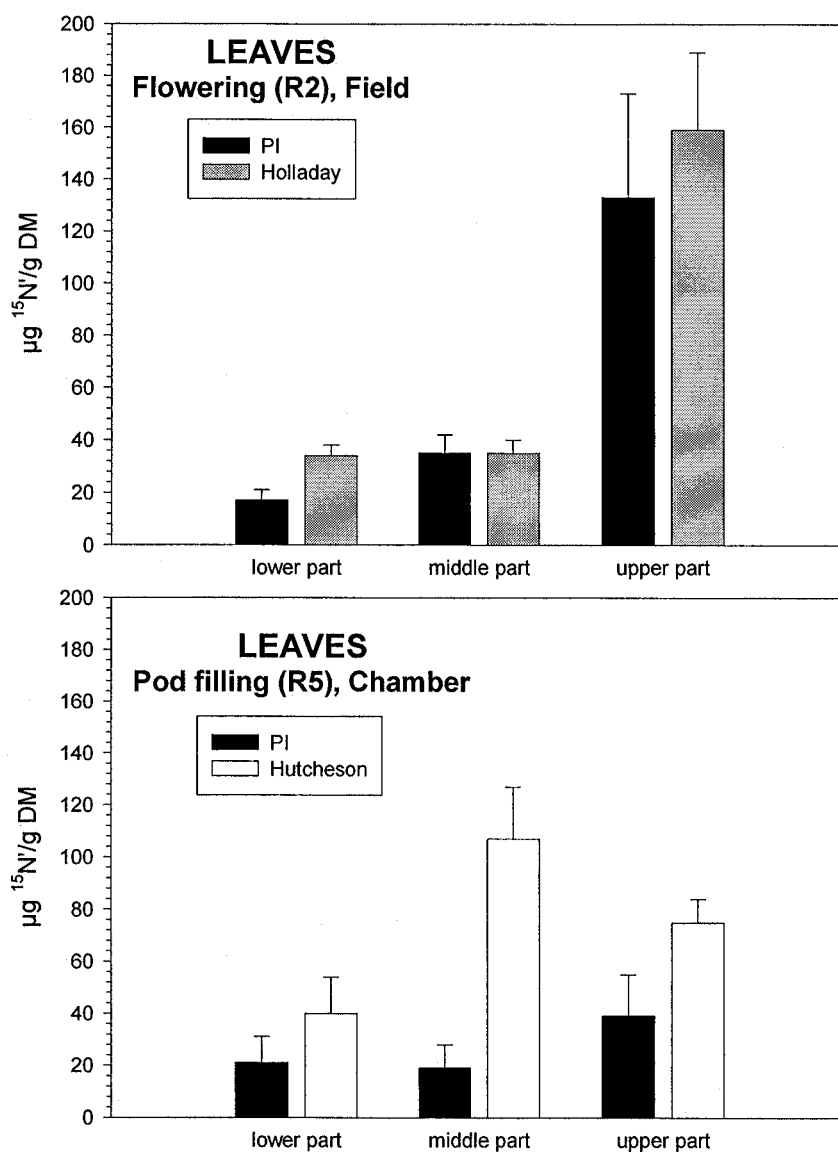


Abbildung 23: ^{15}N -Konzentration in Blättern unter Feldbedingungen (Blüte, R2) und unter Klimakammerbedingungen (Samenfüllungsphase, R5) 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation.

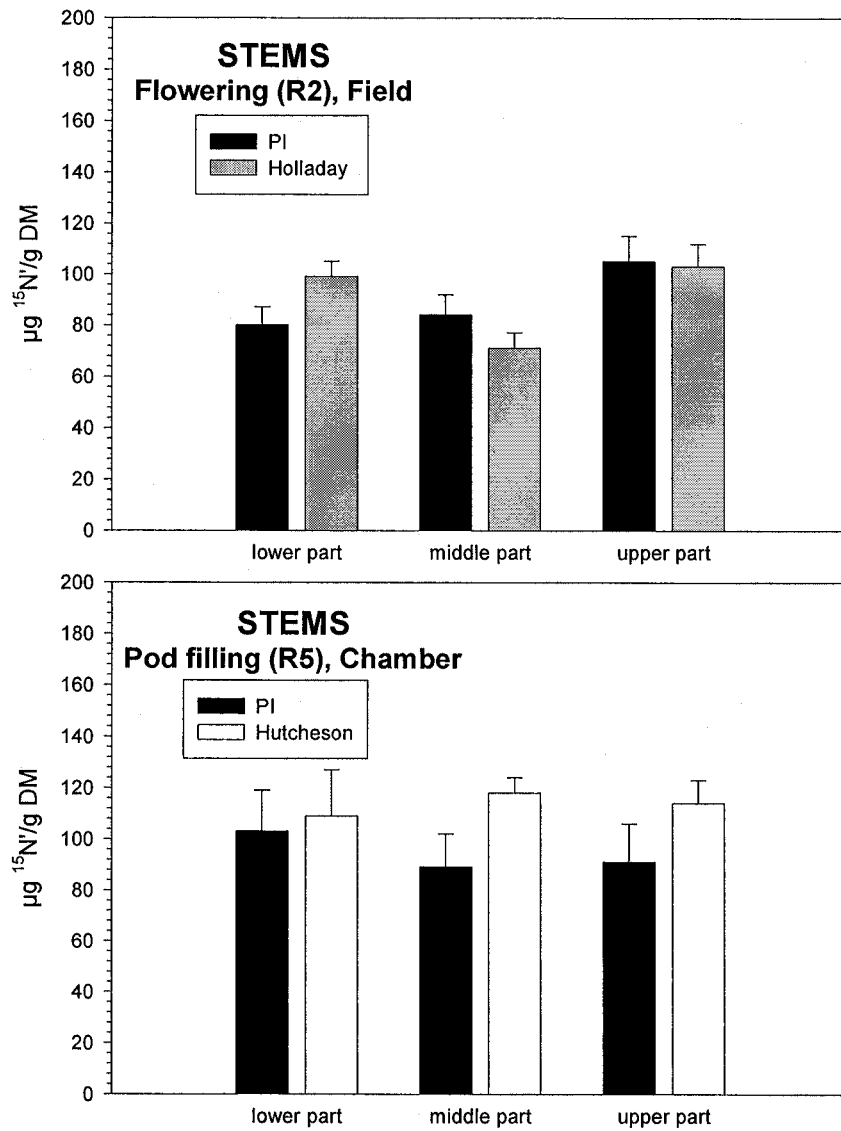


Abbildung 24: ¹⁵N-Konzentration in Stängeln unter Feldbedingungen (Blüte, R2) und unter Klimakammerbedingungen (Samenfüllungsphase, R5) 4 Tage nach der ¹⁵N-Applikation.

5.4. Verteilung und Verwertung von sprossappliziertem ^{15}N bei Kuhbohnen unter dem Einfluss von Wassermangel

A2: Götz, K.-P. and H. Herzog

Distribution and utilisation of ^{15}N in cowpeas injected into the stem under influence of water deficit. 2000

Isotopes in Environment and Health Studies, 36, 111-121

Die Kuhbohne (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ist eine bedeutende Leguminose in den warmen und heißen Regionen in Afrika, Asien und Amerika. Sie wird aber auch im südlichen Europa angebaut. Im Vergleich zu anderen Leguminosen ist die Kuhbohne allerdings relativ wenig erforscht.

Während der vegetativen Entwicklung, zur Blüte und während der Samenfüllungsphase wurde die Verteilung und die Verwertung von ^{15}N nach Sprossapplikation untersucht. In der Blühphase wurde außerdem der Einfluss von Wasserdefizit auf die ^{15}N -Translokation innerhalb der Pflanze bestimmt.

Bei optimaler Bewässerung wurden in der vegetativen Entwicklung nach 24 Stunden 42 % des wieder gefundenen ^{15}N in die Blätter und 13 % in die Wurzeln verlagert.

Im Stängel verblieben 45 %. Während der Blüte waren nach 4 Tagen 65 % des ^{15}N in die Blätter transloziert. Wasserdefizit erniedrigte diesen Anteil in den Blättern mit 42 % signifikant. Im Gegensatz dazu kam es in den Stängeln durch das Wasserdefizit mit 53 % zu einer erhöhten ^{15}N Akkumulation im Vergleich zur Kontrolle mit 30 %. Auf die ^{15}N -Translokation in die Wurzeln hatte der Stress keinen Effekt.

Um das unterschiedliche Alter der Blätter und Stängel am Hauptspross zu berücksichtigen erfolgte eine Einteilung in die Fraktionen *unten*, *mitte*, *oben*, *spitze*, die den Internodien bis 10, 11-13, 14-16 bzw. 17-21 entsprachen. Die Blätter und Stängel der Seitensprosse wurden zusammengefasst. Zur Blüte nahm die ^{15}N -Verwertung der Blätter in den Fraktionen am Hauptspross von unten nach oben deutlich zu. Die Verwertung der Blätter in der Fraktion *spitze* entsprach der in der Fraktion *mitte*. Durch die restriktive Bewässerung war die ^{15}N -Verwertung der Blätter in der Fraktion *unten* und *mitte* tendentiell, und in der Fraktion *oben* und *spitze* deutlich reduziert. An den Seitensprossen war die N-Verwertung der Blätter durch die Bewässerung nicht beeinflusst. Bei den Stängeln führte das Wasserdefizit in der Fraktion *unten* zur höchsten ^{15}N -Verwertung im Vergleich zu den anderen Fraktionen. Stress führte in den Fraktionen *mitte* und *oben*, sowie an den Seitensprossen zu tendentiell höherer N-Verwertung. Das Verteilungsmuster des ^{15}N in den Blättern, Stängeln und Wurzeln war zur Zeit der Blüte und in der Samenfüllungsphase sehr ähnlich. Während der Samenfüllungsphase waren nach 4 Tagen 62 % des ^{15}N in den Samen, 24 % in den Blättern und jeweils 2 % in den Hülsen und Wurzeln akkumuliert.

In diesen Experimenten konnte nachgewiesen werden, dass die ^{15}N Verteilung durch verschiedene Sinkaktivitäten der Blätter und Samen beeinflusst wird. Bei der Kuhbohne war es möglich, mit einer Applikationsmenge von 0.8 mg ^{15}N die Translokation zu verschiedenen Entwicklungsstadien und außerdem unter dem Einfluss von Wasserdefizit zu quantifizieren.

5.4.1. Genotypische Unterschiede bei Kuhbohnen bei der ^{15}N -Translokation aus der Sprossbasis

In einem weiteren Versuch sollten mögliche genotypische Unterschiede im Hinblick auf die Auslagerung von ^{15}N aus der Sprossbasis bei der Kuhbohne bei optimaler Wasserversorgung untersucht werden. Diese Daten sollten dann die Grundlage für später durchzuführende Untersuchungen bei Dürrestress bilden.

5.4.1.1. Methodik

Für dieses Experiment standen 8 Genotypen verschiedener Herkünfte zur Verfügung (Tab. 10). Die Pflanzen wurden im Gewächshaus in Gefäßen wie im Artikel 2 beschrieben angezogen und bei optimaler Bewässerung untersucht.

Im vegetativen Stadium, 62 Tage nach der Aussaat, erhielten pro Genotyp jeweils 3 Pflanzen ab 7.00 Uhr eine einmalige Dosis von 1 mg ^{15}N (25 μl) in die Sprossbasis injiziert. 24 Stunden nach der Injektion wurden die Pflanzen geerntet, und in die Fraktionen *unten* (bis Nodium 6), *mitte* (Nodien 7-9), *oben* (Nodien 10-11) (noch nicht voll entwickelte, junge Blätter) und Seitensprosse, und außerdem in die Organe Blätter und Stängel eingeteilt. Um die Auslagerung von ^{15}N aus der Injektionsstelle zu bestimmen, wurde ein Stück vom Hauptspross von $\pm 1,5$ cm um die Injektionsstelle abgeschnitten und extra analysiert. Die N- und ^{15}N -Bestimmung erfolgte wie in Kapitel 4 beschrieben.

5.4.1.2. Ergebnisse und Diskussion

Mit der Prozedur "GLM-Univariat" des Statistikprogramms SPSS, Version 10.0, wurden Varianzanalysen für 5 verschiedene abhängige Variablen mit 3 Faktoren durchgeführt (Tabelle 9). Bei dem Faktor Genotyp traten bei allen untersuchten Variablen, und bei dem Faktor Organ bzw. Fraktion traten bei 4 Variablen Signifikanzen auf. Die Wechselwirkungen von Genotyp und Organ waren bei 3 Variablen signifikant. Die Wechselwirkungen zwischen Genotyp bzw. Organ mit der Fraktion zeigten stets Signifikanz.

Tabelle 9: Varianzanalysen (GLM-Univariat) verschiedener abhängiger Variablen mit drei Faktoren und deren Wechselwirkungen bei verschiedenen Kuhbohnen (Signifikanzen von F; P<0.05)

	DM (g)	N (mg)	N (%)	¹⁵ N (mg)	¹⁵ N (mg g ⁻¹)
Genotyp (G)	.0001	.001	.0001	.002	.009
Organ (O)	.148	.0001	.0001	.0001	.0001
Fraktion (F)	.0001	.0001	.001	.0001	.130
G*O	.107	.650	.039	.035	.027
G*F	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001
O*F	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001
G*O*F	.372	.075	.468	.808	.936

Während der vegetativen Entwicklung bildeten die Pflanzen der acht Genotypen zwischen 30 g und 40 g Sprossmasse, die sich zwischen den Genotypen nicht unterschied (nicht dargestellt).

Im Durchschnitt der 8 Genotypen wurden 93 % des applizierten ¹⁵N innerhalb von 24 Stunden aus dem Applikationsort in der Sprossbasis (3 cm lang, 0.300 g ± 0.01 g Trockenmasse) ausgelagert. Von diesem ausgelagerten ¹⁵N wurden im Mittel 32 % in die Blätter transloziert, bei einer Spanne zwischen 22 % (IFH 27-8) und 37 % (Lagreen). Die ¹⁵N-Translokation in die Blätter war zwischen den Genotypen nicht unterschiedlich (nicht dargestellt). Die Genotypen hatten eine signifikant unterschiedliche Anzahl an Seitensprossen entwickelt, die zwischen 3 (UCR 328) und 7 (Vita 7) Seitensprossen lag (Tab. 10). Die größere Anzahl an Seitensprossen führte auch zu signifikant höheren prozentualen Seitensprossanteilen an der Gesamtmasse der Blätter und Stängel. Der Seitensprossanteil der Trockenmasse der Blätter (Tab. 10) variierte in einem Bereich zwischen 21 % (UCR 328) und 54 % (Ex Ukwala, IFH 27-8). Der Seitensprossanteil der Trockenmasse der Stängel lag ebenfalls in diesem Bereich zwischen 23 % (UCR 328) und 58 % (Ex Ukwala, IFH 27-8) (Tab. 10).

Die ¹⁵N-Translokation in die Blätter der Seitensprosse (Tab. 10) folgte der Trockenmasseverteilung. Der Anteil des in die Blätter verlagerten ¹⁵N lag zwischen 36 % (UCR 386, UCR 328) und 76 % (Ex Ukwala). Bei den Stängeln betrug der ¹⁵N Anteil bei UCR 328 17 % und bei UCR 1340 64 %, und lag bis auf eine Ausnahme (UCR 1340) unter dem Anteil des in den Blättern akkumulierten ¹⁵N. Der Genotyp UCR 1340 war der einzige Genotyp, bei dem der Anteil des im Seitenspross akkumulier-

ten ^{15}N über dem in den Blättern enthaltenen ^{15}N lag. Bei diesem Genotyp bestand allerdings bei der Trockenmasse auch ein höheres Stängel-Blattverhältnis (~ 1.5), welches bei den anderen Genotypen etwa 1 war. Bei der Kuhbohne war der Anteil des in die Organe der Seitensprosse translozierten ^{15}N , ebenso wie bei der Sojabohne (Kapitel 5.2), eng mit Trockensubstanzakkumulation verbunden.

Tabelle 10: Seitensprossanteil (%) an der Gesamttrockenmasse (TM) der Blätter und Stängel und Seitensprossanteil des ^{15}N (in % des Gesamt ^{15}N der Blätter und Stängel) verschiedener Genotypen der Kuhbohne.

(Mittelwerte, unterschiedliche Buchstaben entsprechen signifikanter Differenz, VA)

Genotyp	Herkunft	Anzahl SP*	Blätter	Stängel	Blätter	Stängel
			TM (%)	TM (%)	^{15}N (%)	^{15}N (%)
Vita 7	Nigeria	7 ^c	35.9 ^{abc}	43.5 ^{bc}	59.6 ^{ab}	45.2 ^{ab}
UCR 386	Nigeria	3 ^a	33.4 ^{ab}	32.6 ^{ab}	35.9 ^a	29.9 ^{ab}
IFH 27-8	Nigeria	6 ^{bc}	50.6 ^{cd}	56.2 ^c	59.9 ^{ab}	47.5 ^{ab}
Lagreen	USA	4 ^{abc}	41.1 ^{bcd}	45.6 ^{bc}	66.0 ^{ab}	44.9 ^{ab}
UCR 328	Nigeria	3 ^a	21.0 ^a	22.9 ^a	34.6 ^a	17.1 ^a
Ex Ukwala	Kenya	6 ^{abc}	53.6 ^d	58.0 ^c	75.5 ^b	53.0 ^{ab}
UCR 1340	India	4 ^{ab}	29.3 ^{ab}	46.4 ^{bc}	48.2 ^{ab}	63.5 ^b
IT 18	Zimbabwe	6 ^{abc}	44.6 ^{bcd}	50.4 ^c	62.4 ^{ab}	54.0 ^{ab}

*Seitensprosse

5.5. Einfluss von Wasserdefizit auf die Aufnahme und Verteilung von ^{15}N aus dem Boden

A3: Herzog, H. and K.-P. Götz

Influence of water limitation on uptake and distribution of nitrogen in soybeans monitored by soil injected ^{15}N . 2003

Journal of Agronomy and Crop Science, 190, 161-167

Das Wurzelwachstum und das Eindringen in tiefere Bodenschichten ermöglicht Pflanzen die Aufnahme von Wasser und Nährstoffen. Da bei Trockenheit die oberen Bodenschichten meist stärker betroffen sind als tiefere Schichten kann der Wasser- und Nährstoffhaushalt dadurch besser aufrechterhalten werden. Über die N-Aufnahme aus tieferen Bodenschichten ist relativ wenig bekannt.

In einem Gefäßversuch in der Klimakammer wurde der Einfluss eines 13tägigen Wasserdefizites auf die Aufnahme, Verlagerung und Wiederfindung von ^{15}N an der

Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) zur Blüte (R2) untersucht. Eine Gruppe wurde optimal bewässert. Bei der anderen Gruppe wurde zu Blühbeginn die Bewässerung für 3 Tage eingestellt und in den darauffolgenden 10 Tagen so bemessen, dass ein Bodenwassergehalt von ~3 % (-750 hPa) gehalten wurde. Zehn oder 40 mg ^{15}N (500 oder 2000 ppm ^{15}N) wurden 3 Tage nach dem Beginn der Blüte in einer Tiefe von 0.4 m appliziert. 7 und 13 Tage nach dem Blühbeginn wurden jeweils Probenahmen vorgenommen. Zu diesen Zeitpunkten wurden die Pflanzen in verschiedene Organe und in die Fraktionen *unten*, *mitte*, *oben* und *spitze* (jeweils 2 Internodien) eingeteilt.

Die tägliche ^{15}N -Aufnahme bei der 10 mg ^{15}N -Dosis betrug bei optimalem Wasserangebot im Intervall 3.-7. Tag ~1.2 mg ^{15}N und im Intervall 7.-13. Tag ~0.5 mg ^{15}N . Dadurch wurden 50 % bzw. 80 % nach 7 bzw. 13 Tagen nach Blühbeginn in den Spross verlagert. Die verbliebene niedrige Menge an ^{15}N im Boden limitierte die Aufnahme von ^{15}N in die Pflanzenorgane. Daher wurden die Ergebnisse anhand der 40 mg ^{15}N -Dosis dargestellt. Die tägliche ^{15}N -Aufnahme betrug bei optimalem Wasserangebot ~2.5 mg ^{15}N und war 7 Tage nach Blühbeginn signifikant, und nach 13 Tagen tendentiell höher als bei Wasserdefizit, welches zu diesem Zeitpunkt auch zu einer niedrigeren Wiederfindung von ^{15}N führte (55 % gegenüber 75 %).

In den Blättern und Hülsen der Fraktion *oben* und *spitze* war bei Wasserdefizit ein Trend geringerer ^{15}N -Translokation (mg ^{15}N pro Organ), im Vergleich zu optimaler Bewässerung 7 und 13 Tage nach Blühbeginn erkennbar. Die relative ^{15}N -Akkumulation (mg ^{15}N g⁻¹DM) nahm bei Blättern, Stängeln und Hülsen von der Fraktion *unten* bis zur Fraktion *oben* zu. Wasserdefizit erniedrigte die relative ^{15}N -Akkumulation tendentiell bei allen Blättern und Hülsen 7 Tage und 13 Tage nach Blühbeginn, und reduzierte sie signifikant in den oberen Blättern und Hülsen nach 7 Tagen. Wasserdefizit beeinflusste die absolute und relative ^{15}N -Akkumulation in den Stängeln durch eine tendentielle Zunahme 13 Tage nach Blühbeginn.

Auch dieses Experiment bestätigte das bekannte Wachstums- und Translokationsmuster zwischen jungen Organen an der Spitze und älteren Organen im unteren Sprossbereich, aber auch zwischen verschiedenen Organen. Außerdem konnte abgeleitet werden, dass es bei Untersuchungen mit begrenztem Wasserangebot erforderlich ist, die ^{15}N -Applikationsmenge und das Zeitintervall der Probenahmen anzupassen.

5.6 Einfluss von Wasserdefizit auf Ertragsparameter und die Verdaulichkeit von Sojabohnen

A4: Götz, K.-P. und H. Herzog

Einfluss von Wasserdefizit auf Ertragsparameter und die Verdaulichkeit von Sojabohnen. 2003

UFOP-Schriften, Heft 20, 267-276

Der Ertrag, der Proteingehalt und die Verdaulichkeit von Leguminosen ist durch eine große Variabilität gekennzeichnet und kann durch genetische Faktoren und Umweltbedingungen beeinflusst werden. Der Zusammenhang zwischen Bodenwasserdefizit und Futterqualität ist in der Literatur sehr wenig dokumentiert. Der Effekt von Wassermangel auf die Verdaulichkeit verschiedener Pflanzenorgane der Sojabohne ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.

In einem Experiment wurde der Einfluss eines Wasserdefizits auf die Trockenmasse der Blätter, Stängel, Hülsen und Samen, sowie auf die Ertragsbildung der deutschen Sorte Gieso unter kontrollierten Bedingungen untersucht. Dazu wurde zur Blüte (R2) ein 10tägiges Wasserdefizit bei -750 hPa induziert, und danach wieder optimal bewässert. Nach der Abreife der Pflanzen wurde der in situ Abbau von Trockenmasse und Stickstoff der Blätter, Hülsen und Samen mittels Nylonbeuteltechnik im Rinder-Pansen bestimmt.

Das Wachstum aller Organe war durch die restriktive Wasserversorgung signifikant erniedrigt. Die Abnahme bei den Blättern und Stängeln betrug nur 32 % bzw. 30 %, und war dagegen bei den Samen und Hülsen mit 53 % bzw. 54 % stärker ausgeprägt. Der N-Gehalt war durch das Wasserdefizit bei den Blättern im Vergleich zur Kontrolle um 5 %, bei den Stängeln um 26 %, bei den Samen um 10 %, und bei den Hülsen um 14 % erhöht.

Die Anzahl der Hülsen pro Pflanze, die Samenmasse pro Pflanze, die Einzelsamenmasse und der Harvest-Index wurden durch das Wasserdefizit signifikant erniedrigt.

Der in situ gemessene Trockenmasse-Abbau bei den Blättern betrug unabhängig von der Inkubationszeit (4 bzw. 8 h) und Behandlung im Mittel 57 % und der N-Verlust 49 %, d. h. Wasserdefizit hatte keinen Einfluss. Die Hülsen wiesen mit 20 % bzw. 30 % (4 bzw. 8 h) den niedrigsten Trockenmasse-Abbau auf. Der N-Abbau war bei Wasserdefizit nach 4 und 8 h höher ($P < 0.05$), und nach 8 h in beiden Gruppen durch einströmenden Fremd-N um 5 % niedriger als nach 4 h.

Mit 64 % bzw. 91 % Trockenmasse-Abbau (8 bzw. 12 h) und mit 58 % bzw. 90 % N-Verlust (8 bzw. 12 h) war bei den Samen eine signifikante Erhöhung durch das Wasserdefizit zu verzeichnen.

Wasserdefizit bewirkte bei den Samen eine erhöhte Abbaubarkeit von Trockenmasse und Stickstoff, wodurch die Menge an Durchflussprotein bei Wiederkäuern zusätzlich erniedrigt werden kann. Das sollte bei der Kalkulation von Rationen mit optimierter Energie- und Nährstoffverwertung Berücksichtigung finden.

6. Zusammenfassung

Stickstoff ist quantitativ der wichtigste Nährstoff für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen. Für die Kalkulation des Bedarfs der Kulturpflanzen an Stickstoff finden verschiedene Methoden und Modelle Anwendung. Ein häufig in der Pflanzenproduktion auftretender Stressfaktor mit reduzierender Wirkung auf Wachstum und Ertrag ist Wassermangel. Die Simulation von Wachstum und Ertrag unter verschiedenen Umweltbedingungen erfordert auch die Quantifizierung der N-Akkumulation und N-Verteilung innerhalb der Pflanzen. Die Anwendung der ^{15}N -Verdünnungsmethode ist hierbei eine geeignete Methode. Die Anreicherung oder Abreicherung von ^{15}N reflektiert dann wohin und in welchem Umfang ^{15}N verlagert wurde.

Die Erweiterung der Kenntnisse des Verhaltens bezüglich des N-Haushaltes der Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) und der Kuhbohne (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) war der Gegenstand dieser Dissertation. Sie wurde auf der Grundlage von veröffentlichten Schriften zusammengefaßt. Methodisch bedeutsame Untersuchungen und Ergebnisse die im Wesentlichen noch unveröffentlicht sind, wurden in eigenen Kapiteln dargestellt.

Um grundlegende Daten des N-Haushaltes eines Genotyps von *Glycine max* (L.) Merr. zu bestimmen, wurden inokulierte Samen der Plant Introduction 416937 (PI) mit 0, 2, 4 und 8 mM N sowie einer N-freien Nährstofflösung versorgt. Zum Zeitpunkt des Blütenansatzes wurde den Behandlungen 2, 4 und 8 mM N einmalig 7, 14 bzw. 28 mg ^{15}N verabreicht. 4 Tage nach der Tracerapplikation wurden die Pflanzen in die Blätter, Stängel, Wurzeln und Knöllchen eingeteilt. Jeweils die Hälfte aller vorhandenen Blätter und Stängel wurde der Fraktion *unten* bzw. *oben* zugeordnet.

In den Blättern der Fraktion *oben* folgte der ^{15}N -Gehalt (mg ^{15}N pro Organ) und die relative ^{15}N -Akkumulation (mg ^{15}N g⁻¹ Trockenmasse) der gesteigerten ^{15}N -Applikation von 7, 14 bzw. 28 mg ^{15}N . Da diese Fraktion auch die jüngsten, noch

nicht voll differenzierten Blätter enthielt, die starke Sinks für N darstellen, wurden hier die höchsten Gehalte an ^{15}N bestimmt. Die ^{15}N -Translokation in die vergleichsweise älteren Blätter der Fraktion *unten* war bedeutend niedriger als in die Fraktion *oben*, jedoch ebenfalls durch einen zunehmenden Trend der Translokation in Folge der steigenden ^{15}N -Gaben gekennzeichnet.

Bei den Stängeln beider Fraktionen folgte der ^{15}N -Gehalt und die relative ^{15}N -Akkumulation ebenfalls der gesteigerten ^{15}N -Applikation. Die Applikation von 28 mg ^{15}N führte zu signifikant höheren Werten im Vergleich zu den Gaben von 7 und 14 mg ^{15}N . Im Gegensatz zu den Blättern waren die ^{15}N -Gehalte in der Stängel-Fraktion *unten* höher als in der Fraktion *oben*. Da diese Fraktion jedoch die größere Menge an Trockenmasse enthielt, ergab sich eine niedrigere ^{15}N -Konzentration als in der Stängel-Fraktion *oben*.

Die Ergebnisse bestätigten, dass der Stickstoff zielgerichtet und vorrangig in die intensiv wachsenden Pflanzenteile wie junge Blätter und Stängel transportiert wird, und die N-Aufnahme bei heranwachsenden Organen dem Massezuwachs voraus eilt. Übersteigt die N-Akkumulation die Anforderungen der Blätter an N, verbleibt der Überschuss in den Stängeln.

Im Hinblick auf Zuwachs und Entwicklung können sich bei konstanter und ausreichender N-Versorgung über eine größere Spanne Unterschiede im Nährstoffangebot kaum bemerkbar machen. Das konnte auch durch die Kalkulation der Verwertung in Prozent des applizierten ^{15}N nachgewiesen werden (Gleichung 3).

Sie berechnet sich aus dem Quotienten: Anteil* (%) des N vom ^{15}N markierten Tracer x N im Organ dividiert durch die Rate des applizierten Tracer. Der Anteil* des N vom ^{15}N markierten Tracer ergibt sich aus dem Quotienten der ^{15}N -Markierung der Probe die dividiert durch die ^{15}N -Markierung des Tracers.

Ein Angebot von mehr als 7 mg ^{15}N hatte bei den Blättern in der Fraktion *oben* und *unten* keinen Einfluss auf die Verwertung des ^{15}N . Bei den Stängeln kam es bei 28 mg ^{15}N in der Fraktion *unten* zu einer signifikant höheren Verwertung im Vergleich zu 7 und 14 mg ^{15}N .

Die N_2 -Fixierung aus der Luft, mit der Bezugsbasis des Stickstoffs, der von inokulierten und mit N-freier Nährstofflösung versorgten Pflanzen akkumuliert wurde, war schon bei einer Gabe von 2 mM N sehr deutlich auf 37 % reduziert, und betrug bei 4 und 8 mMol N lediglich noch 9 % bzw. 2 % (gemäß eigener Gleichung 4). Die Berechnungen auf der Basis von ^{15}N (gemäß eigener Gleichung 5) ergaben mit 36 %, 6 % und 1 % gut übereinstimmende Werte für den Einfluss von mineralischem Stickstoff auf die N_2 -Fixierung. Da ein steigendes mineralisches N-Angebot sowohl die Anzahl, als auch die Trockenmasse der Knöllchen stark erniedrigte, wurde die N_2 -Fixierung in exponentieller Weise abgeschwächt. Zur Gewährleistung einer hohen

Stickstofffixierungsleistung, und um mineralischen Stickstoffdünger effizient einzusetzen, kann daher bei PI 416937 bis zum Zeitpunkt des Blütenansatzes ein mineralisches N-Angebot nicht empfohlen werden.

Die Samenfüllungsphase der Sojabohne ist durch ein schnelles Samenwachstum durch Mobilisierung und Remobilisierung von C- und N-haltigen Assimilaten innerhalb der Pflanze gekennzeichnet. Während der Samenfüllungsphase besteht bei Sojabohnen eine maximale Empfindlichkeit gegenüber Wasserdefizit. In einem Experiment sollte die Verlagerung und Verteilung von ^{15}N in Abhängigkeit vom Wasserangebot bei zwei Genotypen in drei zeitlichen Abschnitten während der Samenfüllungsphase untersucht werden.

Das Experiment wurde an den Genotypen PI 416937 (PI) und Hutcheson in Klimakammern als 2faktorieller Versuch (Genotyp x Bewässerung) durchgeführt. Die Pflanzen der Kontrolle wurden optimal mit Wasser und Nährstoffen versorgt. Die Pflanzen der Behandlung (Wasserdefizit, wd) wurden 8 Tage lang, beginnend am 56. Tag nach der Aussaat, durch eine restriktive Bewässerung gestresst. Nach dem Stressende wurden die Pflanzen der Behandlung (wd) wieder optimal versorgt. Zu 3 Terminen (56, 60 und 64 Tage nach der Aussaat) erhielten die Pflanzen der Kontrolle (ww) und der Behandlung (wd) eine einmalige Dosis von 2 mg ^{15}N (50 μl) in die Sprossbasis injiziert. Jeweils 4 Tage nach der Injektion wurden die Pflanzen geerntet, und in die Organe Blätter, Stängel, Hülsen, Samen und Wurzeln am Hauptspross und an den Seitensprossen eingeteilt. Da die restriktive Bewässerung nach 4 Tagen noch keinen Effekt auf die untersuchten Parameter hatte, wurden ausgewählte Daten am Stressende (8. Tag) und 4 Tage nach Stressende (12. Tag) dargestellt.

Das Wasserdefizit hatte bei PI zum Stressende eine tendentiell niedrigere Trockenmasse des Sprosses zur Folge und führte 4 Tage danach zu einer signifikanten Abnahme im Vergleich zur Kontrolle. Bei Hutcheson dagegen war die Substanzbildung durch das eingeschränkte Wasserangebot zu keinem der beiden Termine beeinflusst.

Die Samenmassen der Kontrollpflanzen von PI und Hutcheson waren am 8. Tag etwa gleich. Zwischen dem 8. und 12. Tag war der Zuwachs an Samenmasse (Hutcheson 4.5 g und PI 3.1 g) und die absolute Menge bei Hutcheson höher als bei PI. Die Samenmasse von PI war durch Stress am Stressende (Tag 8) und 4 Tage danach (Tag 12) tendentiell erniedrigt. Bei Hutcheson war dagegen keinerlei Wirkung durch den Stress auf die Samentrockenmasse zu verzeichnen.

Um die ^{15}N -Verlagerung vom Applikationsort an der Stängelbasis in die verschiedenen Organe, aber auch um den Einbau in die Proteine zu betrachten, wurden die

^{15}N -Gehalte und die ^{15}N -Gehalte in der Trichloressigsäure (TCE) unlöslichen Fraktion am Stressende und 4 Tage danach ermittelt.

Die Werte an diesen zwei Terminen repräsentieren die ^{15}N -Verlagerung und den ^{15}N -Einbau während des jeweils davor liegenden Abschnitts, wobei sie bezüglich der Kontrolle (ww) rein zeitliche Veränderungen widerspiegeln, bezüglich des Wassermangels dessen unmittelbare Wirkung (4.-8. Tag) bzw. dessen Nachwirkung während der Wiederanfeuchtung (8.-12. Tag).

Unabhängig vom Wasserangebot (ww/wd) lagen die ^{15}N -Gehalte zwischen den beiden Genotypen PI und Hutcheson zu den beiden Terminen Stressende und 4 Tage danach in den Blättern, Stängeln und Hülsen in einem sehr engen Bereich. 4 Tage nach Stressende enthielt PI in den Stängeln tendentiell mehr ^{15}N als Hutcheson.

^{15}N wurde erwartungsgemäß am stärksten in die Samen verlagert. Hierbei wies Hutcheson sowohl absolut, als auch relativ tendentiell höhere Werte auf. Der Anteil des in den Samen akkumulierten ^{15}N lag bei PI zwischen 53 % und 62 %, und bei Hutcheson zwischen 58 % und 74 %. Wasserdefizit führte sowohl bei PI als auch bei Hutcheson in den Blättern am Stressende und 4 Tage danach zu signifikant zu niedrigeren ^{15}N -Gehalten. Bei Hutcheson war der Einbau von ^{15}N in die Samenproteine am Stressende unabhängig vom Wasserangebot (ww/wd) signifikant höher als bei PI. Bei PI wurde 4 Tage nach Stressende bei Wasserdefizit (wd) ein höherer ^{15}N -Gehalt in der TCE unlöslichen Fraktion der Stängel als bei Hutcheson bestimmt. Die restriktive Bewässerung (wd) führte bei beiden Genotypen bei den Blättern am Stressende zu einer tendentiellen, und 4 Tage danach zu einem signifikant niedrigeren Einbau in die Blattproteine. Im Vergleich zur Kontrolle kam es durch das Wasserdefizit bei PI und Hutcheson in den Stängeln am Stressende (Tag 8) zu signifikant niedrigeren ^{15}N -Gehalten in der TCE unlöslichen Fraktion.

Die Effekte von Trockenstress auf das Wachstum und den Ertrag von Seitensprossen sind bisher wenig untersucht. Daher wurde der Anteil der Trockenmasse der Blätter, Stängel, Hülsen und Samen der Seitensprosse an der Gesamttrockenmasse, und der Seitensprossanteil von ^{15}N am Gesamt ^{15}N im jeweiligen Organ an den Seitensprossen verglichen. Bei Hutcheson führte eine signifikant größere Anzahl von Seitensprossen auch zu einem signifikant höheren prozentualen Seitensprossanteil an der Gesamtmasse der Blätter, Stängel, Hülsen und Samen.

Der Seitensprossanteil (ww/wd) der Blatt- und Stängelmasse betrug etwa 50 % bei Hutcheson und 30 % bei PI, und der Anteil der Hülsen- und Samenmasse betrug etwa 64 % bei Hutcheson und 33 % bei PI. Wasserdefizit hatte keinen Einfluss auf den Seitensprossanteil der Trockenmasse aller Organe. Die ^{15}N -Translokation in die Blätter, Stängel, Hülsen und Samen der Seitensprosse war bei Hutcheson signifikant höher als bei PI. Die Behandlung (wd) hatte bei den Blättern, Stängeln und Samen keinen Einfluss auf den Anteil des in die Seitensprosse verlagerten ^{15}N . Stress hatte

zeitweilig einen Effekt auf die Hülsen. Der Anteil des in die Seitensprosse translozierten ^{15}N war bei allen untersuchten Organen eng mit der Bildung von Trockensubstanz verbunden.

In diesem Experiment wurde mit Hutcheson ein Genotyp untersucht, der tendenziell besser als PI in der Lage ist, die Syntheseprozesse bei einem zeitlich und mengenmäßig begrenzten Wasserangebot während der Samenfüllungsphase unbeeinträchtigt weiter zu führen. Hutcheson verfügt offensichtlich über Mechanismen die ein besseres Widerstehen gegenüber Stress während des Untersuchungszeitraumes in der Samenfüllungsphase erlaubten. Mit dem Wurzelwachstum, der Blattflächenentwicklung oder anhand der ^{15}N -Translokation und waren die Ursachen nicht zu erklären. Daher wäre es lohnenswert, durch Kombination biochemischer und physiologischer Techniken in weiter gehenden Untersuchungen an Hutcheson die Ursachen dieser Fähigkeiten aufzuklären.

Die Praktikabilität der Injektion von ^{15}N in die Sprossbasis zur Bestimmung der ^{15}N -Translokation sollte ebenfalls unter Feldbedingungen geprüft werden. Zunächst wurde der zeitliche Verlauf der Auslagerung von ^{15}N aus der Sprossbasis innerhalb eines Tages in verschiedene Organe dargestellt.

^{15}N war schon 2 Stunden nach der Applikation in allen Organen nachweisbar. Die Verlagerung aus dem Injektionsabschnitt der Sprossbasis in die Stängel zeigte von der 2. bis zur 12. Stunde den deutlichsten Anstieg und die höchsten ^{15}N -Gehalte. In den Samen, Hülsen und Blättern kam es bis zur 8. Stunde parallel zu einem leichten, kontinuierlichen Anstieg der ^{15}N -Gehalte. Ab der 10. Stunde lag die Translokation von ^{15}N in die Samen über der Translokation in die Hülsen und Blätter.

Die ^{15}N -Akkumulation aller Organe folgte einem exponentiellen Verlauf mit einem Plateau zwischen der 12. und 24. Stunde. Da zu dieser Zeit etwa 75 % des applizierten ^{15}N aus dem Applikationsort in den Stängel ausgelagert wurden, war die Translokation aus der Sprossbasis nach 24 Stunden noch nicht beendet.

In einem weiteren Experiment sollten die Veränderungen der ^{15}N -Translokation zwischen zwei Terminen erfasst, und mit Resultaten die unter kontrollierten Bedingungen erzielt wurden, verglichen werden.

Im Rahmen von Feldversuchen der Central Crops Research Station, Clayton, North Carolina, USA, standen die Genotypen PI 416937 und Holladay zur Verfügung. Die Pflanzen erhielten zur Blüte eine Injektion von 0.8 mg ^{15}N (20 μl) in die Sprossbasis. Sie wurden 1 und 4 Tage später geerntet und in die Blätter und Stängel, sowie in die Fraktionen *unten*, *mitte*, *oben* und *spitze* eingeteilt.

Einen Tag nach der ^{15}N -Applikation nahmen die ^{15}N -Gehalte (mg) in den Stängeln bei PI und Holladay von der Fraktion *unten*, dem Applikationsort, bis zur Fraktion *spitze* ab. Bei beiden Genotypen enthielten die Fraktionen *mitte* und *oben* etwa gleiche Mengen an ^{15}N , die sich signifikant von der darüber bzw. darunter liegenden Fraktion unterschieden.

Entgegengesetzt zu den Stängeln nahmen die ^{15}N -Gehalte bei PI und Holladay in den Blättern von unten nach oben zu. Sie unterschieden sich bei PI zwischen einzelnen Fraktionen signifikant, was bei Holladay nicht der Fall war.

Vier Tage nach der ^{15}N -Applikation kam es in den Blättern zu erhöhten ^{15}N -Gehalten. Bei PI waren die signifikanten Unterschiede zwischen den Fraktionen wie sie sich einen Tag nach der ^{15}N -Applikation zeigten, weniger ausgeprägt. Wie am Tag 1 unterschieden sich bei Holladay die Fraktionen hinsichtlich ihres ^{15}N -Gehaltes ebenfalls nicht.

Das verstärkte Erscheinen von ^{15}N in den Blättern führte bei den Stängeln in allen Fraktionen zu einer Auslagerung von ^{15}N . Bei PI unterschied sich der ^{15}N -Gehalt nicht mehr zwischen der Fraktion *unten* und *mitte*. Wie am Tag 1 enthielt bei Holladay die Fraktion *mitte* und *oben* etwa gleiche Mengen an ^{15}N und unterschied sich damit signifikant von der darüber bzw. darunter liegenden Fraktion.

Um die unter Feldbedingungen (PI und Holladay) und unter kontrollierten Bedingungen (PI und Hutcheson) erzielten Ergebnisse zu vergleichen, wurden die ^{15}N -Konzentrationen ($\mu\text{g }^{15}\text{N}$ pro g TM) der Blätter und Stängel gegenüber gestellt. Das war deshalb möglich, da bei den Pflanzen durch das Abhalten von Niederschlägen im Feld und die restriktive Wasserversorgung in der Klimakammer ein vergleichbares Blattwasserpotential von etwa -0.90 MPa gemessen wurde, und die Probensammlung 4 Tage nach der ^{15}N -Applikation erfolgte.

Bei PI war das Muster der relativen ^{15}N -Konzentration ($\mu\text{g g}^{-1}$ Trockenmasse) in den Blättern zwischen den Untersuchungen im Feld (Blüte) und in der Klimakammer (Samenfüllungsphase) sehr ähnlich. Im Feld waren die jungen, noch nicht voll entwickelten Blätter zur Blüte stärkere Sinks für ^{15}N , als in der Samenfüllungsphase in der Klimakammer, wo in der Fraktion *oben* neben den Blättern auch wachsende Samen ^{15}N akkumulierten.

Zwischen den beiden Genotypen PI und Holladay traten hinsichtlich der ^{15}N -Konzentration in den Blättern im Feld (Blüte) keine Unterschiede auf. Durch die geringere Empfindlichkeit von Hutcheson gegenüber Wasserdefizit waren die ^{15}N -Konzentrationen in den Blättern höher als bei PI (Samenfüllungsphase). Bei PI war das Muster der relativen ^{15}N -Konzentration in den Stängeln zwischen den Untersuchungen im Feld (Blüte) und in der Klimakammer (Samenfüllungsphase) ebenfalls sehr ähnlich.

In allen Fraktionen traten durch die gleichzeitige Abnahme an Trockenmasse und der ^{15}N -Gehalte (μg) in den Fraktionen von unten nach oben etwa gleich hohe ^{15}N -Konzentrationen auf. Die Stängel hatten unabhängig von der Umwelt (Feld oder Klimakammer) keine Wirkung als Sinks, sondern dienten als Transport- und Speicherorgan. Unterschiede zwischen den ^{15}N -Konzentrationen der Stängel der Genotypen bestanden nicht. Die Beobachtung der Verlagerung von Stickstoff in Pflanzen innerhalb kurzer Zeitabschnitte war mit Hilfe der Spross-Applikation unter Feldbedingungen möglich.

Die Kuhbohne (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) wurde während der vegetativen Entwicklung, zur Blüte und während der Samenfüllungsphase im Hinblick auf die Verteilung und die Verwertung von ^{15}N nach Sprossapplikation untersucht. In der Blühphase wurde außerdem der Einfluss von Wasserdefizit auf die ^{15}N -Translokation innerhalb der Pflanze bestimmt.

Bei optimaler Bewässerung wurden in der vegetativen Entwicklung nach 24 Stunden 42 % des ^{15}N in die Blätter, 13 % in die Wurzeln verlagert, während 45 % im Stängel verblieben.

In der Blüte waren nach 4 Tagen 65 % des ^{15}N in die Blätter transloziert, was durch Stress auf 42 % signifikant reduziert wurde. Im Gegensatz dazu kam es in den Stängeln durch den Stress mit 53 % zu einer erhöhten ^{15}N Akkumulation im Vergleich zur Kontrolle mit 30 %. Zur Blüte nahm die ^{15}N -Aufnahme der Blätter in den Fraktionen am Hauptspross von unten nach oben deutlich zu. Die ^{15}N -Aufnahme der Blätter in der Fraktion *spitze* entsprach der in der Fraktion *mitte*.

Durch die restriktive Bewässerung war die ^{15}N -Aufnahme der Blätter in der Fraktion *unten* und *mitte* tendentiell, und in der Fraktion *oben* und *spitze* deutlich reduziert. An den Seitensprossen war die ^{15}N -Aufnahme der Blätter durch die Bewässerung nicht beeinflusst. Bei den Stängeln führte das Wasserdefizit in der Fraktion *unten*, dem Applikationsort, zur höchsten ^{15}N -Aufnahme im Vergleich zu den anderen Fraktionen. Stress führte in den Fraktionen *mitte* und *oben*, sowie an den Seitensprossen zu tendentiell höherer ^{15}N -Aufnahme.

Das Verteilungsmuster des ^{15}N in den Blättern, Stängeln und Wurzeln war zur Zeit der Blüte und in der Samenfüllungsphase sehr ähnlich. Während der Samenfüllungsphase waren nach 4 Tagen 62 % des ^{15}N in den Samen, 24 % in den Blättern und jeweils 2 % in den Hülsen und Wurzeln akkumuliert. Die ^{15}N -Akkumulation war von der Art und der Zahl der verschiedenen Sinks abhängig. Zu Beginn der Blüte waren junge Blätter bedeutende Sinks für Stickstoff. Mit dem Beginn des Wachstums der Samen erlangten diese eine höhere Attraktion für Stickstoff.

In einem weiteren Versuch sollten mögliche genotypische Unterschiede im Hinblick auf die Auslagerung von ^{15}N aus der Sprossbasis bei der Kuhbohne bei optimaler Wasserversorgung untersucht werden. Diese Daten sollten dann die Grundlage für später durchzuführende Untersuchungen bei Dürrestress bilden.

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus bei optimaler Bewässerung in der vegetativen Entwicklung untersucht. Sie erhielten eine einmalige Dosis von 1 mg ^{15}N (25 μl) in die Sprossbasis injiziert. Einen Tag danach wurden die Pflanzen geerntet, und in die Fraktionen *unten*, *mitte*, *oben* und *Seitensprosse*, und außerdem in die Organe Blätter und Stängel eingeteilt. Von dem aus der Sprossbasis ausgelagerten ^{15}N wurden zwischen 22 % und 37 % in die Blätter transloziert. Die ^{15}N -Translokation in die Blätter der Seitensprosse entsprach der Trockenmasseverteilung. Der Anteil des in die Blätter der Seitensprosse verlagerten ^{15}N unterschied sich zwischen den Genotypen signifikant, und lag zwischen 36 % (UCR 386, UCR 328) und 76 % (Ex Ukwala). Bei den Stängeln betrug der ^{15}N Anteil bei UCR 328 17 % und bei UCR 1340 64 %, und lag bis auf eine Ausnahme (UCR 1340) unter dem Anteil des in den Blättern akkumulierten ^{15}N . Bei der Kuhbohne war der Anteil des in die Organe der Seitensprosse translozierten ^{15}N , ebenso wie bei der Sojabohne eng mit Trockensubstanzakkumulation verbunden.

Bisher stehen nur wenige Informationen zur N-Aufnahme und deren Verteilung bei Sojabohnen aus tieferen Bodenschichten zur Verfügung, die für die Nährstoffversorgung bei Austrocknung oberer Bodenschichten von Bedeutung sein kann.

In einem Gefäßversuch in der Klimakammer wurde der Einfluss eines 13tägigen Wasserdefizites auf die Aufnahme, Verlagerung und Wiederfindung von ^{15}N an PI 416937 (PI) zur Blüte untersucht. Eine Gruppe wurde optimal bewässert (ww).

Bei der anderen Gruppe (wd) wurde ab Blühbeginn die Bewässerung so bemessen, dass 10 Tage lang ein Bodenwassergehalt von 3 % (-750 hPa) in der Schicht zwischen 10 und 20 cm gehalten wurde.

Zehn oder 40 mg ^{15}N (500 oder 2000 ppm ^{15}N) wurden 3 Tage nach dem Beginn der Blüte in einer Tiefe von 0.4 m appliziert. 7 und 13 Tage nach dem Blühbeginn wurden die Pflanzen geerntet und in Blätter, Stängel und Hülsen, sowie in die Fraktionen *unten*, *mitte*, *oben* und *spitze* eingeteilt.

Bei der Dosis 10 mg ^{15}N waren 50 % bzw. 80 % nach 7 bzw. 13 Tagen nach Blühbeginn in den Spross verlagert, so dass die verbliebene geringe Menge an ^{15}N im Boden die Aufnahme limitierte. Die Ergebnisse wurden daher anhand der 40 mg ^{15}N -Dosis dargestellt. Die tägliche ^{15}N -Aufnahme betrug bei optimalem Wasserangebot ~ 2.5 mg ^{15}N , und war 7 Tage nach Blühbeginn signifikant, und nach 13 Tagen ten-

dentiell höher als bei Wasserdefizit. Zu diesem Zeitpunkt führte Wasserdefizit zu einer niedrigeren Wiederfindung von ^{15}N (wd: 55 % gegenüber ww: 75 %).

In den Blättern und Hülsen der Fraktion *oben* und *spitze* war bei Wasserdefizit ein Trend geringerer ^{15}N -Translokation (mg ^{15}N pro Organ), im Vergleich zu optimaler Bewässerung 7 und 13 Tage nach Blühbeginn erkennbar. Die relative ^{15}N -Akkumulation (mg ^{15}N g⁻¹ DM) nahm bei Blättern, Stängeln und Hülsen von der Fraktion *unten* bis zur Fraktion *oben* zu. Wasserdefizit erniedrigte die relative ^{15}N -Akkumulation tendentiell bei allen Blättern und Hülsen 7 Tage und 13 Tage nach Blühbeginn, und reduzierte sie signifikant in den oberen Blättern und Hülsen nach 7 Tagen. Wasserdefizit beeinflusste die absolute und relative ^{15}N -Akkumulation in den Stängeln durch eine tendentielle Zunahme 13 Tage nach Blühbeginn.

Auch dieses Experiment bestätigte das bekannte Wachstums- und Translokationsmuster zwischen jungen Organen an der Spitze und älteren Organen im unteren Sprossbereich, aber auch zwischen verschiedenen Organen. Außerdem konnte abgeleitet werden, dass es bei Untersuchungen mit begrenztem Wasserangebot erforderlich ist, die ^{15}N -Applikationsmenge und das Zeitintervall der Probenahmen anzupassen.

Der Effekt von Wassermangel auf die Zusammensetzung verschiedener Pflanzenorgane der Sojabohne und somit auf die Verdaulichkeit im Wiederkäuerorganismus ist bisher in der Literatur nicht beschrieben. In einem Experiment sollte der Einfluss eines Bodenwasserdefizits auf die Ertragsparameter untersucht werden, und anschließend der in situ Abbau von Trockenmasse und N der Blätter, Hülsen und Samen quantifiziert werden

Dazu wurde zur Blüte bei der Sorte Gieso in der Klimakammer ein 10tägiges Wasserdefizit bei -750 hPa induziert und danach wieder optimal bewässert. Nach der Abreife der Pflanzen wurde der in situ Abbau von Trockenmasse und Stickstoff der Blätter, Hülsen und Samen mittels Nylonbeuteltechnik im Pansen bestimmt. Das Wachstum aller Organe war durch die restriktive Wasserversorgung signifikant erniedrigt. Die Samen waren durch das Wasserdefizit zur Blüte durch eine veränderte C- und N-Allokation am stärksten beeinflusst. Die Sorte Gieso war im Vergleich mit anderen Sorten als dürreempfindlich einzustufen.

Der in situ gemessene Trockenmasse-Abbau bei den Blättern betrug unabhängig von der Inkubationszeit (4 bzw. 8 h) und Behandlung im Mittel 57 % und der N-Verlust 49 %. Die Hülsen wiesen mit 20 % bzw. 30 % (4 bzw. 8 h) den niedrigsten Trockenmasse-Abbau auf. Der N-Abbau war bei Wasserdefizit nach 4 und 8 h höher (P<0.05). Bei den Samen war der Trockenmasse-Abbau und der N-Verlust durch das Wasserdefizit nach 8 bzw. 12 h um etwa 10 % signifikant erhöht. Dadurch kann die

Menge an Durchflussprotein in den Dünndarm bei Wiederkäuern zusätzlich erniedrig werden. Das sollte bei der Kalkulation von Rationen mit optimierter Energie- und Nährstoffverwertung Berücksichtigung finden.

7. Literaturverzeichnis

- Blankenau, K., H. Kuhlmann and H.-W. Olf: Effect of increasing rates of ¹⁵N-labelled fertilizer on recovery of fertilizer N in plant and soil pools in a pot experiment with winter wheat.
J. Plant Nutr. Soil Sci. 163:475-480, 2000.
- Bottner, P., F. Austrui, J. Cortez, G. Billes and M. M. Couteaux: Decomposition of ¹⁴C- and ¹⁵N-labelled plant material, under controlled conditions, in coniferous forest soils from a north-south climatic sequence in western Europe.
Soil Biology and Biochemistry 30:597-610, 1998.
- Bradbury, N. J., A. P. Whitmore, P. B. S. Hart and D. S. Jenkinson: Modelling the fate of nitrogen in crop and soil in the years following application of ¹⁵N-labelled fertilizer to winter wheat.
J. of Agriculture Sci. 121:363-379, 1993.
- Burton, J. W.: Soyabean (*Glycine max* (L.) Merr.)
Field Crops Research 53:171-186, 1997.
- Chalk, P. M.: Estimation of N₂ fixation by ¹⁵N isotope dilution - The A-value approach.
Soil Biology and Biochemistry 28:1123-1130, 1996.
- Chotte, J. L., C. Feller, J. M. Hetier and A. Mariotti: The fate of fertilizer N in field studies in the volcanic Lesser Antilles with ¹⁵N-urea.
Trop. Agric. (Trinidad) 75:330-336, 1998.
- Clark, F. E. and T. Rosswall: Terrestrial nitrogen cycles.
Ecological Bulletins 33, 1981
- Clough, T. H., S. C. Jatvis, Dixon, R. J. Stevens, R. J. Laughlin and D. J. Hatch: Carbon induces subsoil denitrification of ¹⁵N-labelled nitrate in 10 m deep soil columns.
Soil Biology and Biochemistry 31:31-41, 1999.
- Costa Franca, M. G., A. T. Pham Thi, C. Pimentel, R. O. Pereyra Rossiello, Y. Zuily-Fodil and D. Laffray: Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress.
Environmental and Experimental Botany 43:227-237, 2000.

- Crozier, C. R., D. L. King and R. J. Volk: Tracing nitrogen movement in corn production systems in the North Carolina Piedmont. A nitrogen-15 study. *Agron. J.* 90:171-177, 1998.
- Davis, D. D.: Factors affecting protein turnover in plants. In: *Nitrogen assimilation of plants.*, edited by E. J. and C. V. Cutting Hewitt, Academic Press, London New York San Francisco, Chapter IV.3.369-396, 1979.
- De Costa, W. A. J. M., M. D. Dennett, U. Ratnaweera and K. Nyalemegbe: Effects of different water regimes on field-grown determinate and indeterminate faba bean (*Vicia faba* L.). I. Canopy growth and biomass production. *Field Crops Research* 49:83-93, 1997.
- De Souza, P. I., D. B. Egli and W. P. Bruening: Water stress during seed filling and leaf senescence in soybean. *Agron. J.* 89:807-812, 1997.
- Deibert, E. J., M. Bijeriego and R. A. Olson: Utilization of ¹⁵N fertilizer by nodulating and nonnodulating soybean isolines. *Agron. J.* 717-723, 1979.
- Desclaux, D. and P. Roumet: Impact of drought stress on the phenology of two soybean (*Glycine max.* L.) cultivars. *Field Crops Research* 46:61-70, 1996.
- Elowad, H. O. A., A. E. Hall and W. M. Jarrell: Comparison of ureide and acetylene reduction methods for estimating biological nitrogen fixation by glasshouse-grown cowpea. *Field Crops Research* 15:215-227, 1987.
- Fabre, F. and C. Plachon: Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean. *Plant Science* 152:51-58, 2000.
- Faust, H., H. Bornhak, K. Hirschberg, K. Jung, P. Junghans und P. Krumbiegel: ¹⁵N-Anwendung in der Biochemie, Landwirtschaft und Medizin. *Isocommerz Schriftenreihe* Heft 5, Berlin, 1981.
- Fehr, W. E. and C. E. Caviness: Stages of soybean development. Cooperative Extension Service and Agriculture and Home Economics Experiment Station. *Special Report* 80. Iowa State University, Ames, IA. 1977

- Frederick, J. R., C. R. Camp and P. J. Bauer: Drought-stress effects on branch and mainstem seed yield and yield components of determinate soybean.
Crop Sci. 41:759-763, 2001.
- Geisler, G.: Pflanzenbau, Ein Lehrbuch – Biologische Grundlagen und Technik der Pflanzenproduktion, 2., neubearbeitete und erweiterte Auflage, 1988.
- George, T. and P. W. Singleton: Nitrogen assimilation traits and dinitrogen fixation in soybeans and common bean.
Agron. J. 84:1020-1028, 1992.
- Grusak, M. A.: Intrinsic stable isotope labelling of plants for nutritional investigations in humans.
J. Nutr. Biochem. 8:164-171, 1997.
- Hoffmann-Bahnsen, R.: Wassermangelstressempfindlichkeit bei fünf ausgewählten tropischen und subtropischen Körnerleguminosen.
Shaker Verlag, Aachen, 1998.
- Høgh-Jensen, H. and J. K. Schjoerring: Below-ground nitrogen transfer between different grassland species: Direct quantification by ^{15}N leaf feeding compared with indirect dilution of soil ^{15}N .
Plant and Soil 227:171-183, 2000.
- Imsande, J.: Nitrogen deficit during soybean pod fill and increased plant biomass by vigorous N_2 fixation.
European J. of Agronomy (8):1-11, 1998.
- Jeuffroy, M. H. and F. Devienne: A simulation model for assimilate partitioning between pods in pea (*Pisum sativum* L.) during the period of seed set; validation in field conditions.
Field Crops Research 41:79-89, 1995.
- Jeuffroy, M. H. and B. Ney: Crop physiology and productivity.
Field Crops Research 53:3-16, 1997.
- Khan, D. F., M. B. Peoples, P. M. Chalk and D. F. Herridge: Quantifying below-ground nitrogen of legumes. 2. A comparison of ^{15}N and non isotopic methods.
Plant and Soil 239:277-289, 2002.

King, C. A. and L. C. Purcell: Soybean nodule size and relationship to nitrogen fixation response to water deficit.
Crop Sci. 41:1099-1107, 2001.

Krumbiegel, P. und H. Bornhak,: ^{15}N Experiments in fertilization research.
Isocommerz-Schriftenreihe Heft 13, Berlin, 1983.

Kurdali, F., K. Kalifa, and M. Al-Shammaa: Cultivar differences in nitrogen assimilation, partitioning and mobilization in rain-feed grown lentil.
Field Crops Research 54:235-243, 1997.

Levitt, J.: Responses of plants to environmental stresses.
Academic Press, New York, 1980, p. 395-434.

Lösch, R.: Wasserhaushalt der Pflanzen.
Quelle & Meyer Verlag GmbH, 1. Auflage, Wiebelsheim, 2001

MacKown, C. T. and T. G. Sutton: Nitrate assimilation in tobacco leaves treated with Malein Hydrazide to control axillary bud growth.
Crop Sci. 35:195-199, 1995.

Marschner, H.: Mineral Nutrition of Higher Plants.
Academic Press Inc., San Diego, 1995.

Masclaux, C., M.-H. Valadier, N. Brugiere, J.-F. Morot-Gaudry and B. Hirel: Characterization of the sink/source transition in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) shoots in relation to nitrogen management and leaf senescence.
Planta 211:510-518, 2000.

Merbach, W.: Beziehungen zwischen ^{15}N -Translokation und ^{15}N -Verarbeitung in Körnerleguminosen.
ZALF-Bericht Nr. 23:64-72, 1995.

Merbach, W., J. Schulze, M. Richert, E. Rocco and K. Mengel: A comparison of different ^{15}N application techniques to study the N net rhizodeposition in the plant-soil system.
J. Plant Nutr. Soil Sci. 163:375-379, 2000.

Morris, D. R. and R. W. Weaver: Absorption and translocation of foliar applied ^{15}N by soybeans.
Agron. J. 75:572-574, 1983.

Mwanamwenge, J., S. P. Loss, K. H. M. Siddique and P. S. Cocks: Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.).

European J. of Agronomy 11:1-11, 1999.

Norsworthy J. K. and E. R. Shipe: Effect of row spacing and soybean genotype on mainstem and brach yield.

Agron. J. 97:919-923 2005.

Patterson, R. P. and C. M. Hudak: Drought-avoidant soybean germplasm maintains nitrogen-fixation capacity under water stress.

Plant and Soil 186:39-43, 1996.

Pausch, R. C., C. L. Mulchi, E. H. Lee and J. J. Meisinger: Use of ¹³C and ¹⁵N isotopes to investigate O₃ effects on C and N metabolism in soybean. Part II. Nitrogen uptake, fixation and partitioning.

Agr. Ecosys. Environ. 60:61-69, 1996.

Pazdernik, D. L., P. H. Graham and J. H. Orf: Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean.

Crop Sci. 37:1482-1486, 1997.

Peoples, M. B., Faizah, A.W., Rerkasem, B, Herridge, and D.F.:

Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. *ACIAR Monograph* No. 11, Australian Centre for International Agricultural Research Canberra, 1989.

Reiter, K., K. Schmidtke and R. Rauber: Estimation of symbiotic N₂ fixation by a lowlevel, largescale ¹⁵N application technique.

Soil Biology and Biochemistry 34:303-314, 2002.

Rennie, R. J.: Comparison of N balance and ¹⁵N isotope dilution to quantify N₂ fixation in field-grown legumes.

Agronomy J. 76:785-790, 1984.

Rennie, R. J. and S. Dubetz: Nitrogen-15-determined nitrogen fixation in field-grown chickpea, lentil, fababean and field pea.

Agron. J. 78:654-660, 1986.

- Ritchie, S. W., J. J. Hanway, H. E. Tompson and G. O. Benson: How a soybean plant develops. Special Report No. 53, Iowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service Ames, Iowa, 1989.
- Russel, C. A. and I. R. P. Fillery: In situ labelling of below-ground biomass.
Aust. J. Agric. Res. 47:1035-1046, 1996.
- Schmidt, O. and C. M. Scrimgeour: A simple urea leaf-feeding method for the production of ^{13}C and ^{15}N labelled plant material.
Plant and Soil 229:197-202, 2001.
- Serraj, R., V. Valdez, R. F. Denison and T. R. Sinclair: Involvement of ureides in nitrogen fixation inhibition in soybean.
Plant Phys. 119:289-296, 1999.
- Sinclair, T. R., Farias, J.R., Neumaier, N., Nepomuceno, and A.L.: Modeling nitrogen accumulation and use by soybean.
Field Crops Research 81:149-158, 2003.
- Sionit, N. and P.J. Kramer: Effect of water stress during different stages of growth of soybean.
Agronomy Journal 69: 274-278, 1977.
- Tan, X. W., H. Ikeda and M. Oda: The absorption, translocation, and assimilation of urea, nitrate or ammonium to tomato plants at different plant growth stages in hydroponic culture.
Scientia Horticulture 84:275-283, 2003.
- Thomas J. F. and R. J. Down. Phytotron procedural manual. Technical Bulletin 244 (Revised) North Carolina Agricultural Research Service. (1991).
- Vasilas, B. L., J. O. Legg and D. C. Wolf: Foliar fertilization of soybeans: Absorption and translocation of ^{15}N -labeled urea.
Agronomy J. 72:271-275, 1980.
- Viera-Vargas, M. S., O. C. De Oliveira, C. M. Souto, G. Cadisch, S. Urquiara, and R. M. Boddey: Use of different ^{15}N labelling techniques to quantify the contribution of biological N_2 fixation to legumes.
Soil Biology and Biochemistry 27:1185-1192, 1995.

Voisin, A. S., C. Salon, N. Munier-Jolain, and B. Ney: Effect of mineral nitrogen on nitrogen nutrition and biomass partitioning between the shoot and roots of pea (*Pisum sativum* L.).
Plant and Soil 242:251-262, 2002.

Werner, R. A. and H. L. Schmidt: The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds.
Phytochemistry 61:465-484, 2002.

Witte, C-P., S. A. Tiller, M. A. Taylor and H. V. Davies: Leaf urea metabolism in potato. Urease activity profile and patterns of recovery and distribution of ¹⁵N after foliar urea application in wild-type and urease-antisense transgenics.
Plant Phys. 128:1129-1136, 2002.

Zapata, F., S. K. A. Danso, G. Hardarson and M. Fried: Time course of nitrogen fixation in field grown soybean using nitrogen-15 methodology.
Agron. J. 79:172-176, 1987.

Danksagung

Mein großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Herzog, der mir die Gelegenheit gab, diese Arbeit zu verfassen. Seine wissenschaftliche Betreuung, die fachlichen Hinweise und Ratschläge sind dabei zu wesentlichen persönlichen Erfahrungen geworden.

Herrn PD Dr. G. Ebert danke ich für seine Tätigkeit als Gutachter.

Bei der Chemisch-Technischen Assistentin Frau R. Loeper möchte ich mich für die Durchführung der zahlreichen Analysen und ihre stete Einsatzbereitschaft bedanken.

Herr Dipl. Ing (FH) R. Jaensch hat bei technischen Schwierigkeiten beim Emissionsspektrometer immer eine Lösung gefunden. Dafür danke ich ihm.

Herrn Dipl. Ing. H.-J. Seekamp möchte ich für seine Hilfe bei der Formatierung der Arbeit danken.

