

**EINFLUSS DES LICHTANGEBOTES UND DER TEMPERATUR  
AUF DIE ERTRAGSBILDUNG  
UND DIE BIOLOGISCHE STICKSTOFF-FIXIERUNG  
VON WEISSKLEE (*Trifolium repens* L.)**

**ABHANDLUNG**

zur Erlangung des Titels eines  
Doktors der technischen Wissenschaften  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von  
WILLY KESSLER  
dipl. ing. agr. ETH  
geboren am 9. Juli 1956  
von Mettmenstetten (ZH)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. J. Nösberger, Referent  
Prof. Dr. H. Hennecke, Kofreferent

J.

Zürich 1987

Diss ETH 8375



## INHALT

I.	Allgemeine Einführung und Problemstellung . . . . .	1
II.	Einfluss konstanter und wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken und der Tageslänge auf die Ertragsbildung und die biologische Stickstoff-Fixierung von Weissklee ( <u>Trifolium repens</u> L.) in Abhängigkeit des Nitratangebotes	
1.	EINLEITUNG . . . . .	3
2.	MATERIAL UND METHODEN . . . . .	5
2.1.	Pflanzenmaterial . . . . .	5
2.2.	Anzuchtbedingungen . . . . .	5
2.3.	Versuchsbedingungen . . . . .	6
2.4.	Ernteerhebungen . . . . .	7
3.	RESULTATE . . . . .	8
3.1.	Wachstum in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge . . . . .	8
3.2.	Trockensubstanzverteilung in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke . . . . .	12
3.3.	Nitrogenaseaktivität ( $C_2H_2$ -Reduktion) in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge . . . . .	14
4.	DISKUSSION . . . . .	18
4.1.	Wachstum in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge . . . . .	18
4.2.	Trockensubstanzverteilung in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke . . . . .	20
4.3.	Nitrogenaseaktivität ( $C_2H_2$ -Reduktion) in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge . . . . .	21
4.4.	Schlussfolgerungen . . . . .	26
5.	ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	28
III.	Einfluss der Temperatur auf die Ertragsbildung und die biologische Stickstoff-Fixierung von Weissklee ( <u>Trifolium repens</u> L.) in Abhängigkeit des Nitratangebotes	
1.	EINLEITUNG . . . . .	30
2.	MATERIAL UND METHODEN . . . . .	32
2.1.	Pflanzenmaterial . . . . .	32
2.2.	Anzuchtbedingungen . . . . .	32
2.3.	Versuchsbedingungen . . . . .	32
2.4.	Ernteerhebungen . . . . .	33

3.	RESULTATE . . . . .	36
3.1.	Einfluss von Luft- und Bodentemperaturen zwischen 13 und 23°C auf das Wachstum und die N <sub>2</sub> -Fixierung . . .	36
3.2.	Einfluss einer tiefen Bodentemperatur auf das Wachstum und die N <sub>2</sub> -Fixierung . . . . .	39
4.	DISKUSSION . . . . .	44
4.1.	Einfluss von Luft- und Bodentemperaturen zwischen 13 und 23°C auf das Wachstum und die N <sub>2</sub> -Fixierung . . .	44
4.2.	Einfluss einer tiefen Bodentemperatur auf das Wachstum und die N <sub>2</sub> -Fixierung . . . . .	46
4.3.	Schlussfolgerungen . . . . .	48
5.	ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	50
IV.	<b>Der Acetylenreduktionstest und die <sup>15</sup>N-Isotopenverdünnungstechnik zur Messung der biologischen Stickstoff-Fixierung: Ein Resultat- vergleich bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen</b>	
1.	EINLEITUNG . . . . .	52
2.	MATERIAL UND METHODEN . . . . .	53
3.	RESULTATE UND DISKUSSION . . . . .	54
4.	ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	59
V.	<b>Zusammenfassung . . . . .</b>	<b>60</b>
	<b>Summary . . . . .</b>	<b>62</b>
VI.	<b>Literaturverzeichnis . . . . .</b>	<b>64</b>

## I. Allgemeine Einführung und Problemstellung

---

Die wichtigsten Futterleguminosen des gemässigten Klimas sind in der Lage, zusammen mit Knöllchenbakterien der Gattung Rhizobium eine Symbiose einzugehen. Dadurch werden sie befähigt, ihren Stickstoffbedarf durch die aus dieser Symbiose resultierende biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) zu decken. Weissklee (Trifolium repens L.), eine der wichtigsten Futterpflanzen in der Schweiz, kommt natürlicherweise in fast allen Wiesentypen vor und ist in den meisten Kunstwiesen vertreten. Dank seiner Fähigkeit zur BNF kann er einen erheblichen Beitrag an die Stickstoffversorgung unserer Wiesen und Weiden liefern (Boller und Nösberger, 1987). Dadurch wird die Menge des im Futterbau einzusetzenden mineralischen Stickstoffs, dessen Produktion auf fossile Brennstoffe angewiesen ist, massiv reduziert.

Neben der Nährstoffversorgung und dem Wasserhaushalt des Bodens scheinen das Lichtangebot und die Temperatur die wichtigsten limitierenden Faktoren für das Weisskleewachstum zu sein. Der ausläufertreibende Weissklee mit seinen tiefer liegenden Blattspreiten sieht sich in der Regel einer grossen Ueberlegenheit von höher wachsenden Gräsern und Kräutern gegenüber, so dass nur ein kleiner Anteil des eingestrahlt Lichtes in tiefere Bestandesschichten vordringen kann. Die Lichtführung in einem Pflanzenbestand wird beeinflusst durch seine botanische Zusammensetzung. Diese wiederum wird mitbestimmt durch die Nutzungsart, Nutzungshäufigkeit und Düngung. Zwischen diesen Bewirtschaftungs- und den Umweltfaktoren bestehen komplexe Wechselwirkungen, und es ist schwierig, während einer Vegetationsperiode und über Jahre hinweg vorkommende Schwankungen des Weissklee-Ertragsanteils in Mischbeständen zu erklären.

In der Leguminosen-Rhizobium-Symbiose sind die Stoffwechsel der Wirtspflanze und der Bacteroiden in den Wurzelknöllchen eng miteinander verbunden. Dies wird erreicht durch eine Reihe komplexer Wechselwirkungen zwischen den Genomen beider Symbionten. Die Bacteroiden sind für ihre Nährstoff- und Energiebedürfnisse von der Wirtspflanze abhängig, die

ihrerseits von dem am Enzymkomplex Nitrogenase reduzierten Luftstickstoff profitiert. Zwischen dem  $N_2$ -Fixierungsvermögen einer Leguminosenpflanze und ihrem Kohlehydrathaushalt bestehen enge Beziehungen, die möglicherweise durch das Lichtangebot und die Temperatur beeinflussbar sind.

In dieser Arbeit soll abgeklärt werden, wie sich das Lichtangebot und die Temperatur auf die Leistung der Symbiose auswirken. An Weissklee-Einzelpflanzen in Wachstumskammern, bei einer starken und einer geringen Abhängigkeit von der BNF, wurde bei verschiedenen Licht- und Temperaturbedingungen, wie sie im Freiland anzutreffen sind, die  $N_2$ -Fixierung gemessen und mit der Reaktion des Wachstums verglichen. Anhand von Ertragserhebungen, Bestimmungen der Assimilatverteilungsmuster und Aufzeichnungen morphologischer Pflanzenmerkmale wurde versucht, die spezifische Wirkung der Umweltfaktoren Licht und Temperatur auf die BNF zu erfassen bzw. diese zu erklären.

Der erste Teil der Arbeit befasst sich mit dem Einfluss des Lichtangebotes auf die Ertragsbildung und die BNF von nodulierten Weisskleepflanzen. Neben der Wirkung konstanter und wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken wird die Bedeutung der Tageslänge für die Symbiose dargelegt. Im zweiten Teil der Arbeit wird gezeigt, wie sich das Wachstum und die BNF bei unterschiedlichen Temperaturen verhalten. Der Einfluss der Luft- und Bodentemperatur wird getrennt und ihre Bedeutung in Abhängigkeit des Temperaturniveaus gewichtet. Im dritten Teil werden die beiden zur Messung der  $N_2$ -Fixierung angewandten Methoden verglichen. Es wird gezeigt, dass die Resultate der Acetylenreduktionsmethode bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen zu falschen Aussagen führen können.

**II. Einfluss konstanter und wechselnder Photonen-  
Bestrahlungsstärken und der Tageslänge auf  
die Ertragsbildung und die biologische Stickstoff-  
Fixierung von Weissklee (*Trifolium repens* L.)  
in Abhängigkeit des Nitratangebotes**

---

**1. EINLEITUNG**

Die Energieversorgung für die biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) wird sichergestellt durch das Veratmen von Kohlehydraten in den Wurzelknöllchen. Es ist möglich, dass bei schwachen Lichtverhältnissen, wie sie in tieferen Schichten von Pflanzenbeständen vorkommen, die Kohlehydratversorgung der Knöllchen zum limitierenden Faktor für die BNF wird.

Die Wirkung des Lichtes auf die Leguminosen-Rhizobium-Symbiose erfolgt primär über die Photosynthese der Wirtspflanze. Die Photosynthese ihrerseits wirkt sich direkt auf das Pflanzenwachstum aus (Jelmini und Nösberger, 1978; Frey, 1978). Für die BNF dürfte die Verteilung der Assimilate innerhalb der Pflanze, insbesondere die Assimilatlieferung in die Wurzeln von Bedeutung sein. Bei Rotklee erhöht sich ihr Anteil an der Gesamttrockenmasse mit zunehmend besseren Lichtverhältnissen; gleichzeitig steigt der Gehalt an nichtstrukturbildenden Kohlehydraten in der Pflanze (Frey, 1978). Weissklee verlagert bei höheren Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) mehr Assimilate in die Wurzeln als bei tieferen (Scheidegger, 1983).

Faktoren, welche die Kohlehydratlieferung in die Wurzeln begünstigen, wirken sich positiv auf die Knöllchenmasse und die Knöllchenzahl aus (Hardy und Havelka, 1976; Phillips et al., 1976; Masterson und Sherwood, 1978; Murphy, 1986). Die Nitrogenaseaktivität pro Knöllchen bleibt bei gut entwickelten Futterleguminosen unverändert (Murphy, 1986). Diese Tatsache lässt vermuten, dass das Wurzelwachstum das BNF-Potential einer

Leguminosenpflanze beeinflusst. Ein grösseres Wurzelwerk bietet mehr Stellen für die Infektion durch Knöllchenbakterien und die anschliessende Knöllchenbildung.

Den Versuchen lag die Frage zugrunde, wie sich das Lichtangebot auf die Zusammenhänge zwischen der Ertragsbildung und der BNF bei Weissklee auswirkt. Als Kriterien wurden die Nitrogenaseaktivität ( $C_2H_2$ -Reduktion), die Trockensubstanzproduktion und ihre Verteilung auf die verschiedenen Pflanzenteile benutzt. Die Bedeutung des BNF-Stickstoffs für das Pflanzenwachstum wurde bei einem unterschiedlichen mineralischen N-Angebot geschätzt. Die Resultate liessen erkennen, dass sich das Lichtangebot hauptsächlich über das Wachstum der nodulierten Wurzel auf das  $N_2$ -Fixierungsvermögen der Weissleepflanzen auswirkte. Das Verhalten der Nitrogenaseaktivität bei schwachem Licht und kürzeren Tagen deutete auf eine Anpassung der BNF an einen kleineren Stickstoffbedarf hin.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Pflanzenmaterial

Die Versuche wurden mit Stecklingen von vegetativ vermehrten Mutterpflanzen eines Weissklee-Oekotyps (CH-Chur, 560 m ü.M.) in Wachstumskammern (CONVIRON PGV 36) durchgeführt. Pro Wachstumsgefäß (Kunststoffkistchen, 40x17.5x12.5 cm) wurden vier Stolonen spitzen so gepflanzt, dass sie knapp unter die Oberfläche des Quarzsandes (0.8 - 1.2 mm Körnung) zu liegen kamen. Bis auf das jüngste gefaltete wurden vorgängig alle Blätter weggeschnitten.

### 2.2. Anzuchtbedingungen

Die Stecklinge wurden während 20 Tagen bei einer Photonen-Bestrahlungsstärke ( $E_p$ ) von  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , einer Tag/Nacht-Temperatur von 18/13°C (16/8 h) und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 90/95% (Tag/Nacht) kultiviert.

Vier Tage nach dem Anlegen der Versuche und anschliessend in Wochenabständen wurde den Pflanzen eine Suspension mit Knöllchenbakterien (Rhizobium trifolii PN100 und destilliertes Wasser) verabreicht. Die Bakterienvermehrung erfolgte auf Hefeextrakt-Mannitol-Agar (Vincent, 1970) bei 28°C.

In der ersten Woche wurden die Stecklinge dreimal täglich mit entsalztem Wasser gegossen. Anschliessend erhielten sie bis zum 20. Tag zweimal täglich eine Nährlösung ähnlich der von Hammer et al. (1978), modifiziert nach Rüegg (1976) (d.h. mit Sequestrene NaFe 13% als Eisenquelle). Die Nitratkonzentration wurde durch Ersetzen von  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  durch  $\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  auf 2.5 mM reduziert. Durch einmaliges Giessen pro Woche mit entsalztem Wasser wurden Salzablagerungen in den Wachstumsgefässen verhindert.

### 2.3. Versuchsbedingungen

Am 20. Tag hatten die Stecklinge nodulierte Wurzeln und drei bis vier Blätter. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Versuchsbedingungen eingestellt. Die Tag/Nacht-Lufttemperatur blieb auf 18/13°C und die relative Luftfeuchtigkeit wurde auf 70/85% (Tag/Nacht) reduziert. Am Morgen und am Abend wurden die Temperatur und das Licht in einem je zweistündigen Uebergang stufenweise den Tages- bzw. Nachtwerten angepasst. Den Pflanzen wurde weiterhin zweimal täglich Nährlösung verabreicht. Die Nitratkonzentrationen in den beiden gewählten Nitratverfahren betragen 1.0 und 7.5 mM. Bei der weiteren Reduktion des Nitratgehaltes von 2.5 auf 1.0 mM wurde  $\text{KNO}_3$  durch  $\text{KCl}$  und  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ersetzt. Die Temperatur im Wurzelbereich wurde mit Hilfe eines in die Kunststoffkistchen eingezogenen Kupferrohrs und darin zirkulierendem Wasser auf konstant 13°C gehalten. In den zwei nacheinander durchgeführten Versuchen wurden folgende Lichtverfahren gewählt:

**Versuch I.** Zwischen dem 21. und 62. Tag nach dem Pflanzen der Stecklinge wurden die  $E_p$  von 100, 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bei einer Tageslänge von 16 h konstant gehalten. Danach wurde die  $E_p$  in zwei Verfahren verändert; 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurde erhöht auf 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , und Pflanzen, die bisher 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ausgesetzt waren, mussten bei 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  weiterwachsen.

**Versuch II.** Zwischen dem 21. und dem 62. Tag nach dem Pflanzen der Stecklinge wurden bei einem Tag/Nacht-Rhythmus von 16/8 h Photonen-Bestrahlungsstärken von 200 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und bei einem solchen von 11/13 h eine  $E_p$  von 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  konstant gehalten. Die tägliche Quantenmenge des Kurztag-Verfahrens mit 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  entsprach der Quantenmenge, die während einer Lichtperiode von 16 h mit einer  $E_p$  von 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eingestrahlt würde.

## 2.4. Ernteerhebungen

Die Erhebungen wurden ab dem Pflanzenalter von 27 Tagen in wöchentlichen Abständen durchgeführt. Die pro Verfahren in fünf Wiederholungen geernteten Weisskleepflanzen wurden jeweils aus verschiedenen Kistchen ausgewählt, so dass den verbliebenen Pflanzen mit zunehmendem Alter mehr Platz zur Verfügung stand.

Die  $N_2$ -Fixierung wurde mit der Acetylenreduktionsmethode (Hardy et al., 1968) in geschlossenen Inkubationsgefäßen (Infusionsflaschen, 500 ml) mit 10% Acetylen in Luft gemessen. Die durch Eintauchen in Wasser (13°C) vom Sand befreite nodulierte Wurzel wurde während 30 min bei 13°C inkubiert. Die Äthylenkonzentration in den entnommenen Gasproben von 1 ml wurde in einem Gaschromatographen (SHIMADZU GC-8A PF) bestimmt. Die Messungen erfolgten isotherm bei 60°C in einer PORAPAK-N-Säule (4 ft x 1/8", 80/100) mit Stickstoff als Trägergas (20 ml·min<sup>-1</sup>) und unter Verwendung eines externen Standards (100 µl·l<sup>-1</sup> C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>).

Nach dem Erheben der phänologischen Merkmale wurde das Pflanzenmaterial in Wurzeln, Stolonen, Blattstiele, Blattspreiten und Blüten aufgeteilt, bei 65°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend gewogen. Die relative Wachstumsrate wurde berechnet mit einem Computerprogramm in Fortran IV (Glasshouse Crops Research Institute, Littlehampton, England), einer Version des Programms von Hunt und Parsons (1974).

## 3. RESULTATE

## 3.1. Wachstum in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge

## Wirkung konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken

**Versuch I.** Bei während 42 Tagen konstant gehaltenen Wachstumsbedingungen wurde bei den nodulierten Weisskleeplanzen mit zunehmender Photonen-Bestrahlungsstärke ( $E_p$ ) eine signifikante Zunahme der Trockensubstanz-(TS)-Produktion festgestellt (Tabelle 1). Die Wirkung der  $E_p$  fiel nicht bei beiden Nitratstufen gleich aus. Pflanzen mit dem tieferen Nitratangebot (1.0 mM) steigerten ihren Ertrag zwischen 100 und 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  um 1.2 g, zwischen 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  um 2.2 g. Bei den Pflanzen mit dem hohen Nitratangebot (7.5 mM) betragen die entsprechenden Steigerungen 3.9 bzw. 1.5 g.

**Tabelle 1:** Einfluss konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) auf die totale Trockensubstanzproduktion 62 Tage alter nodulierter Weisskleeplanzen bei einem tiefen und einem hohen Nitratangebot

Nitrat (mM)	$E_p$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )			kgD <sub>5%</sub>
	100	300	500	
	Trockensubstanz (g·Pflanze <sup>-1</sup> )			
1.0	1.821	2.994	5.235	1.012
7.5	2.238	6.146	7.615	

kgD<sub>5%</sub>: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

Durch die hohe Nitratkonzentration wurden die TS-Erträge im Vergleich zu denjenigen bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  angehoben. Am grössten war die ertragssteigernde Wirkung mit +105% bei  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; bei  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  betrug sie +45% (Tabelle 1). Die Ertragssteigerung von +23% bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  war nicht gesichert. Die Interaktion zwischen der Nitratkonzentration und der  $E_p$  war signifikant ( $P=0.0022$ ).

Die relativen Wachstumsraten (Tabelle 2) bis zum Lichtwechsel zeigen, wie die TS-Erträge der einzelnen Verfahren zustande gekommen sind. Im ersten Versuchsabschnitt, zwischen dem 20. und 41. Tag, waren die Wachstumsraten bei  $300$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  signifikant grösser als diejenige bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die Wirkung der hohen Nitratkonzentration auf die relative Wachstumsrate war in diesem Abschnitt nur tendenzmässig vorhanden, fehlte aber bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  vollständig.

Im zweiten Versuchsabschnitt vor dem Lichtwechsel waren die Unterschiede zwischen den Wachstumsraten weder bei den Licht- noch bei den Nitratverfahren signifikant. Bei  $300$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stimmten die Tendenzen mit den Ertragsunterschieden überein. Bei diesen  $E_p$  nahm die relative Wachstumsrate im zweiten Versuchsabschnitt im Vergleich zum ersten deutlich ab, am stärksten bei den Pflanzen mit  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und  $1.0 \text{ mM } \text{NO}_3^-$  (um -43%). Bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  blieben die Werte auf dem gleich tiefen Niveau wie im ersten Abschnitt.

### **Wirkung wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken**

Eine Reduktion der  $E_p$  von  $500$  auf  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bewirkte, unabhängig vom mineralischen N-Angebot, eine signifikante Abnahme der relativen Wachstumsrate um mehr als die Hälfte derjenigen vor dem Lichtwechsel (62.-83. Tag; Tabelle 2). Umgekehrt führte eine Erhöhung der  $E_p$  von  $100$  auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu einer Wachstumsbeschleunigung. Diese war etwas ausgeprägter bei den Pflanzen mit dem kleineren Nitratangebot.

**Tabelle 2:** Einfluss konstanter (100, 300, 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ; 100 $\rightarrow$ 500, 500 $\rightarrow$ 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) auf die relative Wachstumsrate von Weisskleepflanzen bei einem tiefen (1.0 mM) und einem hohen Nitratangebot (7.5 mM)

Nitrat (mM)	20.-41. Tag			41.-62. Tag			62.-83. Tag		
	Photonen-Bestrahlungsstärke ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )								
	100	300	500	100	300	500	100 $\rightarrow$ 500	300	500 $\rightarrow$ 100
	Relative Wachstumsrate ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{Tag}^{-1}$ ) ± Vertrauensintervall 95%								
1.0	0.050	0.094	0.090	0.057	0.054	0.072	0.098	0.082	0.030
	±0.022	±0.024	±0.016	±0.018	±0.014	±0.013	±0.019	±0.016	±0.013
7.5	0.049	0.112	0.109	0.061	0.073	0.077	0.079	0.062	0.037
	±0.014	±0.020	±0.021	±0.019	±0.011	±0.014	±0.023	±0.014	±0.013

### Wirkung der Tageslänge

**Versuch II.** Im Langtag (16/8 h Tag/Nacht) wurden nach 35 Tagen konstanter Bedingungen die in Versuch I zwischen 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  festgestellten Wirkungen der  $E_p$  und der Nitratkonzentration auf die TS-Erträge bestätigt (Tabelle 3). Die  $E_p$  von 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  steigerte die TS-Erträge gegenüber denjenigen bei 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bei beiden Nitratstufen um den gleichen Anteil. Die ertragssteigernden Wirkungen der hohen Nitratgabe unterschieden sich mit +111% bei 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und +102% bei 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  kaum voneinander. Im Gegensatz zu Versuch I war die Interaktion zwischen der  $E_p$  und dem Nitratangebot nicht signifikant.

**Tabelle 3:** Einfluss konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) und der Lichtperiode auf die totale Trockensubstanz-Produktion 55 Tage alter nodulierter Weisskleeplanzen bei einem tiefen und einem hohen Nitratangebot

Nitrat (mM)	$E_p$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) Tag/Nacht (h)			kgD5%
	200 16/8	500 11/13	500 16/8	
	Trockensubstanz (g·Pflanze <sup>-1</sup> )			
1.0	1.884	1.816	2.597	0.723
7.5	3.965	3.343	5.256	

kgD5%: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

Bei einer um fünf Stunden verkürzten Tageslänge lieferten die Weisskleeplanzen bei gleichen  $E_p$  (500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) bei beiden Nitratstufen signifikant tiefere Erträge. Die ertragssteigernde Wirkung der hohen Nitratgabe betrug beim 11 h-Tag +74% und war damit um 28% kleiner als im Langtag bei gleicher  $E_p$ . Verglichen mit dem Verfahren 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (16 h) waren die TS-Erträge im Kurztag (500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) bei 1.0 mM Nitrat gleich gross und bei 7.5 mM Nitrat wenig kleiner; dies trotz der grösseren, während 11 h mit 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eingestahlten Photonenmenge.

### 3.2. Trockensubstanzverteilung in Abhängigkeit der Photonen- Bestrahlungsstärke

**Versuch I.** Bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  investierten die Pflanzen anteilmäßig signifikant mehr Substanz in die Bildung von Blattspreiten und Blattstielen als diejenigen bei 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Abbildung 1). Entsprechend kleiner fielen die prozentualen TS-Anteile der Stolonen und der Wurzeln aus. Die Trockengewichte der Stolonen machten um 7 bis 9% kleinere Anteile an der gesamten Pflanzentrockenmasse aus und diejenigen der Wurzeln waren in diesem Verfahren mit 9.7 und 9.2% bei der tiefen bzw. hohen Nitratstufe deutlich am kleinsten.

Bei 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  unterschieden sich die pflanzeninternen Verteilungsmuster der Assimilate weniger voneinander. Die Photosyntheseprodukte wurden zu je ca. 30% für die Bildung von Blattfläche und Stolonen verwendet. Mit von 300 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zunehmender  $E_p$  steigerten sich die Wurzelanteile signifikant. Gleichzeitig gingen die Anteile der Blattstiele weiter zurück. Die Wurzeln waren die einzige Fraktion, deren TS-Anteil über den ganzen  $E_p$ -Bereich zwischen 100 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  mit steigender  $E_p$  zunahm.

Die hohe Nitratgabe wirkte sich lediglich auf die Anteile der Blattstiele und teilweise auf die Anteile der Wurzeln signifikant aus. Die ersteren stiegen bei allen  $E_p$  um 1.5 bis 2.0%, die letzteren sanken um 0.5% bei 100 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und um 1.8% bei  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

**Versuch II.** Das Verhalten der Pflanzen bezüglich Trockensubstanverteilung entsprach bei 200 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Versuch II) demjenigen bei 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  in Versuch I. Kurztag wirkte sich bei  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  signifikant auf den Anteil der Blattstiele aus. Dieser fiel im Kurztag-Verfahren grösser aus als im Langtag. Ansonsten änderte sich im Kurztag nichts an der TS-Verteilung. Auf ihre Darstellung wurde deshalb verzichtet.

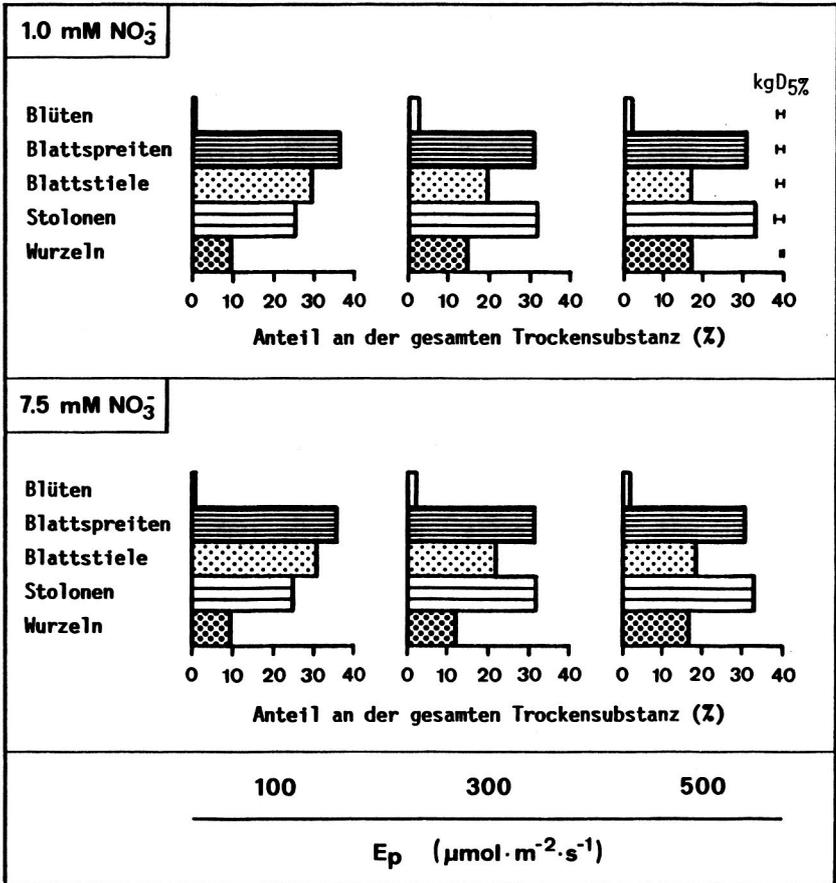


Abbildung 1: Einfluss konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) auf die Verteilung der Trockensubstanz bei 62 Tage alten nodulierten Weisskleeplflanzen bei einem tiefen und einem hohen Nitratangebot

### 3.3. Nitrogenaseaktivität ( $C_2H_2$ -Reduktion) in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge

#### Wirkung konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken

**Versuch I.** Die spezifischen Nitrogenaseaktivitäten der nodulierten Wurzeln ( $C_2H_2$ -Reduktionsraten pro Einheit Wurzel- und Knöllchen-Trockengewicht) waren bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bis zum Zeitpunkt des Lichtwechsels signifikant kleiner als in den Verfahren mit höheren  $E_p$  (Abbildung 2). Die Differenz blieb bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$  über die ganze Periode vor dem Lichtwechsel konstant. Bei  $7.5 \text{ mM NO}_3^-$  halbierte sie sich zwischen dem 48. und dem 55. Tag, da die spezifische Nitrogenaseaktivität bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  auf einem tiefen Niveau unverändert blieb.

Bei  $300$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  unterschieden sich die spezifischen Nitrogenaseaktivitäten bei beiden Nitratverfahren im ganzen Versuchsabschnitt vor dem Lichtwechsel nie signifikant voneinander. Bei den Pflanzen dieser Verfahren verliefen die Zunahmen der Wurzel-TS und der gesamten Nitrogenaseaktivität mit zunehmender  $E_p$  parallel.

Die hohe Nitratkonzentration in der Nährlösung ( $7.5 \text{ mM}$ ) hemmte die Nitrogenaseaktivität bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stärker als bei den Verfahren mit höheren  $E_p$ . Die hohe Nitratkonzentration reduzierte die bei  $1.0 \text{ mM}$  Nitrat gemessenen spezifischen Nitrogenaseaktivität um Faktoren von etwa 7 bei  $100$  und 3.5 bei  $300$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

#### Wirkung wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken

Der Lichtwechsel (Abbildung 2) wirkte sich innerhalb einer Woche deutlich auf die spezifische Nitrogenaseaktivität aus. Pflanzen, bei denen die  $E_p$  von  $500$  auf  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  gesenkt wurde, reduzierten ihre Aktivitätswerte auf das gleich tiefe Niveau, das bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  vor dem Wechsel vorhanden war. Die plötzliche Steigerung des Lichtes von  $100$  auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bewirkte umgekehrt einen markanten Anstieg der spezifischen Nitrogenaseaktivität. Die Pflanzen mit den bisher tiefsten

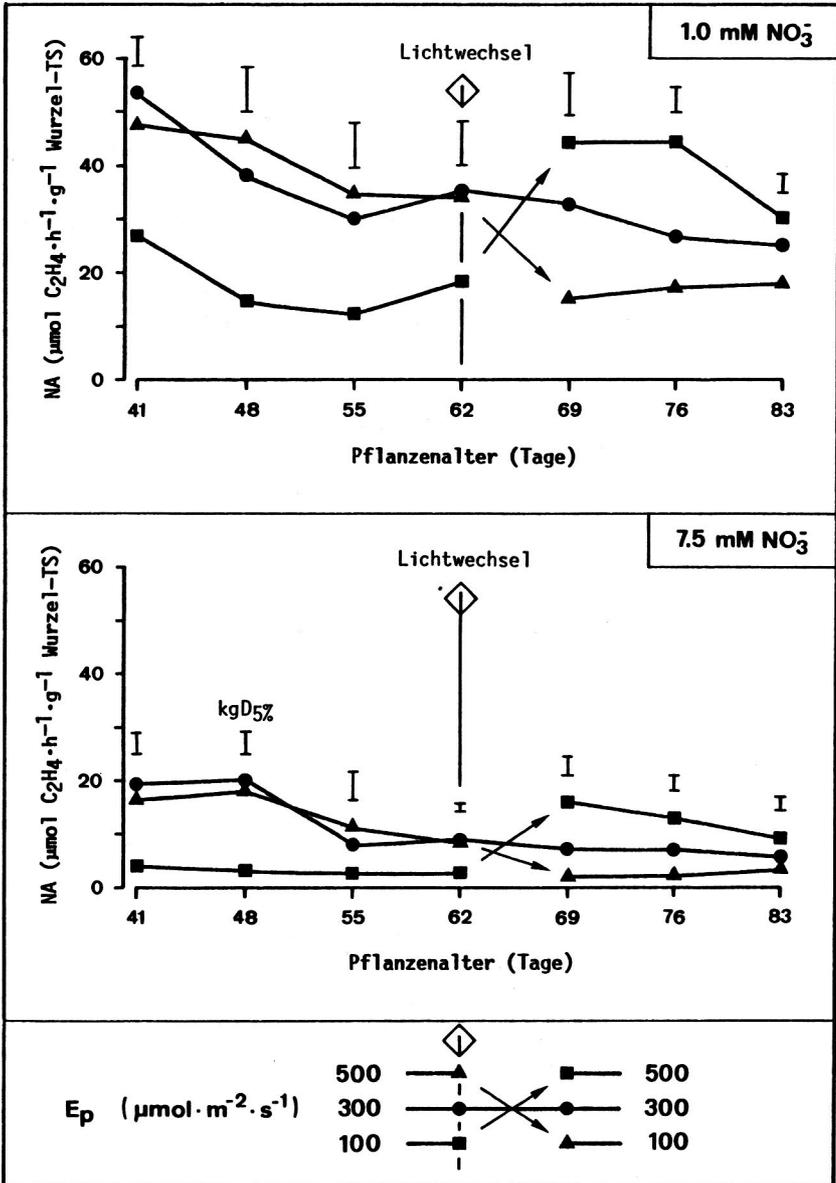


Abbildung 2: Einfluss konstanter (100, 300, 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) und wechselnder (100→500, 500→100  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) Photonen-Bestrahlungsstärken auf die spezifische Nitrogenaseaktivität (NA;  $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  Wurzel-TS) nodulierter Weissklee-pflanzen bei einem tiefen und einem hohen Nitratangebot

Werten hatten nun höhere Aktivitäten als bei  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  vor dem Wechsel erreicht worden waren, höhere auch als die Pflanzen, bei denen die  $E_p$  nicht verändert wurde ( $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ).

Die Reaktion der spezifischen Nitrogenaseaktivität auf Veränderungen der Photonen-Bestrahlungsstärke war bei den Pflanzen beider Nitrat-Verfahren gleich stark. Die durch die hohe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bewirkte Hemmung der Nitrogenase wurde bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  durch die Steigerung der  $E_p$  auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  von  $-86\%$  auf  $-63\%$  abgeschwächt. Der umgekehrte Lichtwechsel verstärkte die Hemmung von  $-75\%$  auf  $-87\%$ .

### Wirkung der Tageslänge

**Versuch II.** Bei den Pflanzen im Kurztag (11 h,  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) wurde eine signifikant kleinere spezifische Nitrogenaseaktivität gemessen als bei denjenigen im Langtag (16,  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; Tabelle 4). In Versuch I wurde vor und nach dem Lichtwechsel bei der tiefsten  $E_p$  ( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; Abbildung 2) eine ähnliche Reduktion beobachtet.

**Tabelle 4:** Einfluss der Tageslänge bei konstanten Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) auf die spezifische Nitrogenaseaktivität 55 Tage alter nodulierter Weiskleefpflanzen bei einem tiefen und einem hohen Nitratangebot

Nitrat (mM)	$E_p$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) Tag/Nacht (h)			kgD5%
	200 16/8	500 11/13	500 16/8	
	spezifische Nitrogenaseaktivität ( $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ Wurzel-TS)			
1.0	39.2	25.4	37.2	9.7
7.5	7.6	6.0	10.8	3.0

kgD5%: kleinste gesicherte Differenz ( $P=0.05$ )

Die spezifischen Nitrogenaseaktivitäten der beiden Langtag-Verfahren mit 200 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Tabelle 4) unterschieden sich bei der Schlussernte am 55. Tag nicht. Dieses Verhalten entsprach demjenigen bei 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  in Versuch I (Abbildung 2). Die Aktivitätswerte dieser Verfahren lagen am 55. Tag in beiden Versuchen auf einem ähnlichen Niveau.

Die hohe Nitratkonzentration in der Nährlösung (7.5 mM) verringerte die  $\text{N}_2$ -Fixierungsaktivität pro Gramm Wurzel-TS im Kurztag-Verfahren (500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) auf weniger als einen Viertel derjenigen bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$ . Die Faktoren bei den Langtag-Verfahren betragen bei 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  etwa 3.5 und bei 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wenig über 5. Damit nahm die nitratbedingte Hemmung der Nitrogenaseaktivität im Kurztag und bei einer kleineren  $E_p$  zu.

## 4. DISKUSSION

### 4.1. Wachstum in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge

#### Wirkung konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken

**Versuch I.** Zwischen  $100$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  steigende konstante Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) förderten die Trockensubstanz(TS)-Bildung (Tabelle 1). Diese Wirkung der  $E_p$  entsprach derjenigen, die von Jelmini und Nösberger (1978) und Frey (1978) bei Rot- und Weissklee bzw. Rotklee festgestellt wurde. Die TS-Unterschiede zwischen den Lichtverfahren kamen vor allem in den ersten drei Wochen der Versuchsperiode zustande (Tabelle 2). Die anschließende Abnahme der relativen Wachstumsrate im zweiten Versuchsabschnitt, im Pflanzenalter zwischen 41 und 62 Tagen, könnte auf eine Limitierung des Wachstums durch die Stickstoff-Versorgung hindeuten. Mit zunehmendem Alter reichte das mineralische N-Angebot scheinbar nicht mehr aus, um den rasch wachsenden N-Bedarf der Pflanzen zu decken.

Bei  $E_p$  über  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  konnten stärker auf biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) angewiesene Pflanzen (bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$ ) ihr Wachstumspotential nicht voll ausnutzen (Tabelle 1). In Übereinstimmung mit diesen Resultaten findet man in der Literatur, dass Futterleguminosen, welche ihren Bedarf an Stickstoff mit Hilfe von BNF decken müssen, in der Regel langsamer wachsen und kleinere Erträge liefern als solche, die mit ausreichend mineralischem Stickstoff versorgt werden (Maag und Nösberger, 1980; Wedderburn, 1983; Arnott, 1984; Davidson und Robson, 1986). Nach Ryle et al. (1978) vermag die symbiotische Gemeinschaft für ein optimales Wachstum wahrscheinlich nicht genügend Stickstoff zu fixieren. Zudem könnte die Assimilation des in den Knöllchen fixierten Stickstoffs in Bezug auf den Kohlehydratverbrauch aufwendiger sein als die Assimilation von in der Pflanze reduziertem Nitrat. Die ertragssteigernde Wirkung der höheren Nitratgabe von bis zu +105% spricht dafür, dass die Pflanzen bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$  nicht genügend Stickstoff zur Verfügung hatten. Der Kohlehydrataufwand zur Deckung des N-Bedarfs ist bei  $\text{N}_2$ -fixierenden Pflanzen

10 bis 13% höher als bei solchen, die mit mineralischem Stickstoff ernährt werden (Ryle et al., 1979; Haystead et al., 1980). Die Beeinträchtigung der Pflanzen bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$  gegenüber denjenigen bei  $7.5 \text{ mM NO}_3^-$  war zeitlich begrenzt und bei höheren  $E_p$  schwächer als bei tieferen, wenn man sich auf die  $E_p$  von 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beschränkt (Tabelle 2).

Die in der Zeit vor dem Lichtwechsel bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bei beiden Nitratstufen festgestellte kleine relative Wachstumsrate (Tabelle 2) und die fehlende ertragssteigernde Wirkung der hohen mineralischen N-Gabe auf den TS-Ertrag (Tabelle 1) weisen darauf hin, dass bei dieser  $E_p$  nicht der Stickstoff wachstumslimitierend war. In den Arbeiten von Jelmini und Nösberger (1978) und Frey (1978) erwiesen sich  $140 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  für das Wachstum von Rot- und Weissklee ebenfalls als suboptimal. Bei solch tiefen  $E_p$  sind zum Beispiel bei Rotklee nur sehr geringe Photosyntheseraten möglich (Hofer, 1986), so dass bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  schon relativ kleine N-Mengen ausgereicht haben dürften, um den Bedarf zu decken.

### **Wirkung wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken**

Die Veränderung der  $E_p$  schlug sich in einer markanten Veränderung der relativen Wachstumsrate nieder (Tabelle 2). Interessant scheint die Tatsache, dass in der Periode nach dem Lichtwechsel bei dem von 100 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  gesteigerten Verfahren die höchsten relativen Wachstumsraten festgestellt wurden und dass die hohe Nitratgabe keine positive Wirkung mehr zeigte. Im Gegensatz zur Lichtsteigerung am 20. Tag konnten die Pflanzen bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$  die besseren Lichtbedingungen nach der Erhöhung der  $E_p$  von 100 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  am 62. Tag effizienter ausnützen als diejenigen bei  $7.5 \text{ NO}_3^-$  (Tabelle 2). Der umgekehrte Wechsel, eine Reduktion der  $E_p$ , bewirkte bei beiden Nitratstufen eine ähnliche Abnahme der relativen Wachstumsrate. Damit wird bestätigt, dass das Wachstum bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  durch die für die Photosynthese verfügbare Strahlungsenergie limitiert wurde und nicht durch den Stickstoff.

## Wirkung der Tageslänge

**Versuch II.** Eine Verkürzung der Lichtperiode bei gleicher  $E_p$  wirkte sich negativer auf die TS-Bildung aus als eine Reduktion der  $E_p$  bei gleicher Tageslänge. Die im Kurztag-Verfahren während 11 h mit  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eingestrahlte Photonenmenge entsprach einer Lichtperiode von 16 h mit  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die TS-Erträge der Pflanzen im Kurztag-Verfahren waren nicht grösser als diejenigen der Pflanzen im Langtag-Verfahren mit  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Für die Substanzproduktion war also sowohl die tägliche Photonenmenge als auch die Tageslänge entscheidend. Während höhere  $E_p$  die TS-Akkumulation förderten, dürfte während der längeren Dunkelperiode ein grösserer Anteil des während der Lichtperiode fixierten Kohlenstoffs wieder veratmet worden sein.

### 4.2. Trockensubstanzverteilung in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke

Die Lichtverhältnisse hatten einen grösseren Einfluss auf die Verteilung der Trockensubstanz als die N-Ernährung (Abbildung 1). Der Lichtmangel ( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) veranlasste die Pflanzen dazu, die knapp vorhandenen Assimilate vor allem in die Bildung von Blattfläche zu investieren. Die Blattspreiten wurden mit einem grösseren Aufwand an Trockenmasse und mit längeren Stielen als in den übrigen Verfahren in die Höhe gehoben, um günstigere Lichtbedingungen zu finden. Für die Stolonen und Wurzeln blieben dadurch verhältnismässig weniger Photosyntheseprodukte übrig. Zwischen  $100$  und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  reagierten die Wurzel- und Blattstielanteile am stärksten auf unterschiedliche  $E_p$ . Jede Steigerung der  $E_p$  bewirkte, dass die Pflanzen verhältnismässig mehr Assimilate in die nodulierte Wurzel verlagerten. Eine positive Wirkung der  $E_p$  auf den Wurzelanteil an der Pflanzen-TS wurde auch bei Jelmini (1976) und Frey (1978) gefunden. Scheidegger (1983) konnte mit Hilfe von  $^{14}\text{CO}_2$  zeigen, dass Weisskleepflanzen bei einer höheren  $E_p$  einen grösseren Anteil ihrer Photosyntheseprodukte in die Wurzeln verlagern als bei einer tieferen.

Die Wirkung der hohen Nitratgabe auf die Wurzel-Anteile an der Pflanzentrockenmasse war relativ gering. Anhand der TS-Verteilung stellten Maag und Nösberger (1980), Davidson und Robson (1986) bei Rot- bzw. Weissklee bezüglich der Verteilung der Assimilate innerhalb der Pflanze eine deutliche Bevorzugung der unterirdischen Pflanzenteile fest, wenn die Pflanzen ihren Stickstoffbedarf statt mit mineralischem Stickstoff mit Hilfe der BNF decken mussten. Arnott (1984) führt das höhere Wurzel/Spross-Verhältnis  $N_2$ -fixierender Pflanzen vor allem auf die Knöllchenmasse zurück, die 25 bis 30% des Brutto-Wurzelgewichtes ausmachte. Eine Erhöhung des Wurzelanteils könnte sich nachteilig auf die Ertragsbildung  $N_2$ -fixierender Pflanzen auswirken, da dadurch zusätzlich zu den durch die Nitrogenaseaktivität bedingten höheren Atmungsverlusten nodulierter Wurzeln (Ryle et al., 1979; Haystead et al., 1980) das Sprosswachstum und damit die Photosynthese-Kapazität beeinträchtigt werden könnte. Der Mehraufwand für das Knöllchenwachstum führte bei Rot- und Weissklee dazu, dass weniger Assimilate in die Nebentriebe bzw. Nebenstolonen gelangten (Ryle et al., 1981).

Die im Vergleich zur Literatur festgestellte kleine Wirkung der N-Ernährung auf die Wurzelanteile an der Gesamt-TS kann damit erklärt werden, dass die Pflanzen bis zum Zeitpunkt, ab welchem unterschiedliche Nährlösungen verabreicht wurden, bereits nodulierte Wurzeln hatten. Die höhere Nitratkonzentration dürfte mit 7.5 mM zudem nicht hoch genug gewesen sein, um eine weitere Bildung von Knöllchen vollständig zu unterdrücken.

#### **4.3. Nitrogenaseaktivität ( $C_2H_2$ -Reduktion) in Abhängigkeit der Photonen-Bestrahlungsstärke und der Tageslänge**

##### **Wirkung konstanter Photonen-Bestrahlungsstärken**

**Versuch I.** Das Verhältnis zwischen der Nitrogenaseaktivität und der Trockenmasse der nodulierten Wurzel war bei Photonen-Bestrahlungsstärken über  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nicht lichtabhängig (Abbildung 2). Da die Pflanzen sowohl bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  als auch bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  im Wachstum eingeschränkt waren (Tabellen 1 und 2), wird angenommen, dass die gemessene Acetylen-

reduktionsaktivität dem bei diesen Wachstumsbedingungen maximal möglichen  $N_2$ -Fixierungsvermögen der Pflanzen entsprach. Eine Steigerung der BNF-Kapazität konnte demnach bei  $E_p$  über  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nur über das Pflanzenwachstum, über die gleichzeitige Ausdehnung des Wurzelsystems und des Knöllchenapparates erfolgen. Um diese Aussage zu stützen, muss nachgewiesen werden, dass die BNF nicht durch die Versorgung mit Produkten der laufenden Photosynthese limitiert wurde.

Die Abhängigkeit der Nitrogenase von der Versorgung mit Produkten der laufenden Photosynthese variiert sowohl mit der Leguminosenart als auch mit dem Pflanzenalter. Junge Weissklee-Sämlingspflanzen reagierten auf eine Erhöhung der  $E_p$  mit einem Anstieg ihrer Nitrogenaseaktivität, ohne Veränderung der Knöllchenzahl (Carroll und Gresshoff, 1983). In diesem Fall beruhte die Aktivitätssteigerung bei einer relativ geringen Zunahme der Knöllchenmasse vor allem auf einer Steigerung der Nitrogenaseaktivität pro Einheit Knöllchenmasse. Entsprechend reagierten Erbsenpflanzen nach einer Erhöhung des Luft- $\text{CO}_2$ -Gehaltes von 300 auf 1000 ppm (Murphy, 1986). Bei einjährigen und jungen überwinternden Leguminosen scheint die BNF stärker von der laufenden Photosynthese abzuhängen als bei älteren Futterleguminosen. Die Erhöhung des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes in der Luft bewirkte bei Luzerne, Rot- und Weissklee wohl ebenfalls eine Zunahme der Nitrogenaseaktivität pro Pflanze, doch kam diese Steigerung durch eine Erhöhung der Knöllchenzahl zustande, ohne die Aktivität pro Knöllchen zu verändern (Murphy, 1986). Das Verhalten dieser Futterleguminosen in Abhängigkeit des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes könnte demjenigen der Weisskleepflanzen bei 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  entsprechen, da eine lichtbedingte Steigerung der Photosynthese die BNF ebenfalls über das Wachstum der nodulierten Wurzel beeinflusste. Bezieht man bei Murphy (1986) die Nitrogenaseaktivität der drei Futterleguminosen auf die Wurzel-TS, zeigt sich, dass die spezifische Nitrogenaseaktivität der nodulierten Wurzel durch die Erhöhung der  $\text{CO}_2$ -Konzentration in der Luft nicht beeinflusst wurde.

Bei einer fehlenden Abhängigkeit der BNF von der Versorgung mit Produkten der laufenden Photosynthese, müsste die Energieversorgung der Knöllchen aus Kohlehydratreserven bestritten werden können. In einem zusätzlich durchgeführten Experiment mit Wachstumsbedingungen wie in Versuch II (Seite 6), wurden während der Nacht keine Abnahmen der spezi-

fischen Nitrogenaseaktivitäten festgestellt. Tag/Nacht-Verläufe der Nitrogenaseaktivität wurden in der Literatur schon mehrfach beschrieben. Keine Aktivitätsabnahmen wurden in der Regel dort festgestellt, wo die Temperatur im Wurzelmedium konstant war; im Feld bei Luzerne und Weissklee (Martensson und Ljunggren, 1984 bzw. Masterson und Murphy, 1976) und unter kontrollierten Bedingungen bei Weissklee (Haystead et al., 1979), wo die Rate der Acetylenreduktion während 21.5 h Dunkelheit konstant blieb. Weil eine Aufrechterhaltung der Nitrogenaseaktivität während der Nacht möglich war, muss die Energieversorgung der Knöllchen durch während der Lichtperiode akkumulierte Kohlehydrate erfolgt sein.

Die bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  festgestellte kleinere spezifische Nitrogenaseaktivität (Abbildung 2) könnte auf einer Anpassung der  $\text{N}_2$ -Fixierungsaktivität an einen reduzierten N-Bedarf beruhen. Bei dieser  $E_p$  war der Stickstoff nicht im Minimum (Tabellen 1 und 2). Das Nitratangebot reichte zur Deckung eines grösseren Anteils des N-Bedarfs aus als bei 300 und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , so dass die der Wurzelmasse entsprechende BNF-Kapazität nur teilweise ausgenutzt werden musste und die BNF deshalb reduziert wurde. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Feststellung von Wery et al. (1986), dass sich die Nitrat-Assimilation und die BNF antagonistisch verhalten, wenn der N-Bedarf der Pflanzen klein ist. In diesem Fall förderte eine Verabreichung von mineralischem Stickstoff bei Luzerne-Pflanzen die Nitrat-Assimilation auf Kosten der BNF.

### **Wirkung wechselnder Photonen-Bestrahlungsstärken**

Die  $\text{N}_2$ -Fixierungsaktivität reagierte rasch und deutlich auf den Lichtwechsel (Abbildung 2). Die Abnahmen der spezifischen Nitrogenaseaktivität und der relativen Wachstumsrate nach dem Herabsetzen der  $E_p$  von 500 auf  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  deuten ebenfalls auf eine Anpassung der BNF an einen kleiner gewordenen N-Bedarf hin. Umgekehrt reagierten die bisher bei schwachem Licht ( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) gewachsenen Pflanzen auf eine Erhöhung der  $E_p$  mit einer beachtlichen Steigerung der Nitrogenaseaktivität. Die vor dem Lichtwechsel festgestellte Reduktion der BNF konnte bis sieben Tage nach dem Lichtwechsel rückgängig gemacht werden. Der gleichzeitige Anstieg der relativen Wachstumsrate (Tabelle 2) weist auf den grösseren

N-Bedarf hin. Damit wurde bestätigt, dass die bei  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beobachtete kleinere spezifische Nitrogenaseaktivität auf einer Anpassung der BNF an einen reduzierten Stickstoffbedarf beruhte. Die bei beiden Nitratstufen nach der Steigerung der  $E_p$  von 100 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  festgestellten vorübergehend höheren spezifischen Nitrogenaseaktivitäten könnten vom geringeren physiologischen Alter dieser vor dem Lichtwechsel langsamer gewachsenen Pflanzen (Tabelle 2) herrühren.

### Wirkung der Tageslänge

**Versuch II.** Die im Kurztag bei  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beobachtete Reduktion der spezifischen Nitrogenaseaktivität (Tabelle 4) kann ebenfalls mit einer Anpassung der BNF begründet werden. So könnte die der Wurzelmasse entsprechende BNF-Kapazität deshalb reduziert worden sein, weil die Nitrogenaseaktivität keinem Tag/Nacht-Rhythmus folgte, die Photosynthese aber nur während der Lichtperiode stattfindet und die Substanzproduktion deshalb kleiner ausfiel. Da der Anteil der nodulierten Wurzel an der Gesamt-TS nicht mitverändert wurde, war der an die nodulierte Wurzel gestellte N-Bedarf im Kurztag kleiner als im Langtag. Zum gleichen Schluss gelangt man über den Vergleich der Werte des Kurztag- ( $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und des Langtagverfahrens mit  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Bei gleichen TS-Erträgen (bei  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$ ) hatten die Pflanzen im Kurztag verhältnismässig grössere Wurzeln. Bei einem anhand der Pflanzentrockenmasse ähnlichen N-Bedarf wie im Langtag konnte die der nodulierten Wurzel entsprechende BNF-Kapazität im Kurztag reduziert werden.

Ein Angebot von  $7.5 \text{ mM NO}_3^-$  in der Nährlösung reduzierte die BNF-Kapazität der nodulierten Wurzel gegenüber  $1.0 \text{ mM NO}_3^-$  deutlich, hinderte die Weisskleepflanzen aber nicht daran, ihren Knöllchenapparat auszudehnen. Währenddem sich die Trockenmasse der nodulierten Wurzel zwischen dem 27. und dem 62. Tag um mehr als verzwanzigfache, nahm ihre spezifische Nitrogenaseaktivität nur um die Hälfte ab (Abbildung 2).

Bei einem über längere Zeit konstanten Nitratangebot wird die Knöllchenzahl pro Pflanze reduziert (Carroll und Gresshoff, 1983; Wedderburn, 1983; Davidson und Robson, 1986). Dadurch sinkt die BNF-Kapazität der

Leguminosen-Pflanze. Wie stark die BNF-Kapazität abnimmt, ist in erster Linie abhängig von der Nitratkonzentration im Wurzelmedium. Ist das Wachstum trotz einer mineralischen N-Gabe durch das Stickstoffangebot eingeschränkt (bei  $E_p$  von 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), nützt die Pflanze ihre gesamte reduzierte BNF-Kapazität aus. Ist es aber nicht limitiert durch die N-Ernährung, so wie es bei 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  der Fall war, fördert eine Applikation von mineralischem Stickstoff die Nitrat-Assimilation auf Kosten der BNF (Gibson, 1977; Wery et al., 1986). Die Menge des akkumulierten Stickstoffs, welche der Wachstumsgeschwindigkeit angepasst ist, bleibt unverändert (Wery et al., 1986). Deshalb konnte sich bei 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  die hohe Nitratkonzentration stärker hemmend auf die spezifische Nitrogenaseaktivität auswirken.

Die Kurzzeitwirkung einer mineralischen N-Gabe auf die BNF wurde in diesen Versuchen zwar nicht untersucht, doch lassen sich anhand einiger Erkenntnisse aus anderen Arbeiten Hypothesen über eine mögliche Regulation der BNF innerhalb der vorhandenen Kapazität ableiten. Wurde den Pflanzen Nitrat nur während wenigen Tagen verabreicht und anschließend wieder entzogen, wurde eine vorübergehende Hemmung der Nitrogenaseaktivität und parallel dazu eine Zunahme der Nitratreduktaseaktivität festgestellt. Nach der Rückkehr zu den ursprünglichen Nitratbedingungen konnten die Pflanzen ihre volle Nitrogenaseaktivität wiedererlangen (Carroll und Gresshoff, 1983; Silsbury et al., 1986). Bei diesem Verhalten spielt es offenbar keine Rolle, ob das Nitrat über die Wurzeln oder über die Blätter verabreicht wird (Carroll und Gresshoff, 1983). Für die Regulation der BNF scheint deshalb die N-Konzentration im Pflanzengewebe von Bedeutung zu sein.

Bei der Anpassung der BNF an einen veränderten N-Bedarf könnte die Regulation der Sauerstoffzufuhr zu den Bacteroiden ein Rolle spielen. So stellten Minchin et al. (1986) bei Knöllchen nodulierter etablierter Weissklee-Pflanzen nach einer Applikation von Nitrat-Stickstoff einen markanten Anstieg des Sauerstoff-Diffusionswiderstandes fest. Für den Zusammenbruch der Nitrogenaseaktivität nach einer vollständigen Entblätterung ist nach Hartwig et al. (1987) ebenfalls eine Erhöhung des Sauerstoff-Diffusionswiderstandes verantwortlich.

Da die BNF-Kapazität der Weisskleepflanzen eng mit der Masse der nodulierten Wurzeln korreliert war, spielte das Spross/Wurzel-Verhältnis für die N-Versorgung eine grosse Rolle. Dies wurde sichtbar durch die in Versuch I bei 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  festgestellte unterschiedliche Wirkung der hohen Nitratkonzentration auf das Wachstum (Tabellen 1 und 2). Da die  $E_p$  den Wurzelanteil an der Pflanzentrockenmasse erhöhte, war die nitratbedingte Ertragssteigerung bei 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  kleiner als bei 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Nitrat dürfte sich demzufolge vor allem dann positiv auf das Weisskleewachstum ausgewirkt haben, solange bei jungen Pflanzen der Knöllchenapparat noch nicht leistungsfähig und das Spross/Wurzel-Verhältnis für die Deckung des N-Bedarfes durch BNF ungünstig war. In dieser Beziehung waren die Stecklingspflanzen ein Sonderfall, da die Stolonenstücke beim Setzen nicht bewurzelt waren. Dadurch dürften die Pflanzen, die ihren N-Bedarf später zum grössten Teil durch BNF-N decken mussten gegenüber denjenigen, die Nitrat in höheren Konzentrationen angeboten erhielten, während Wochen benachteiligt gewesen sein.

#### 4.4. Schlussfolgerungen

Das Wachstum der Weisskleepflanzen war lichtabhängig. Zwischen 100 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  steigende Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) steigerten die Trockensubstanz-Erträge, kürzere Lichtperioden reduzierten diese.

Pflanzen, deren Stickstoff-Versorgung vorwiegend auf der biologischen Stickstoff-Fixierung (BNF) beruhte, konnten ihr Wachstumspotential anfänglich nicht voll ausnützen, da sie für ein optimales Wachstum nicht genügend Stickstoff zu fixieren vermochten. Diese Benachteiligung gegenüber Pflanzen mit einem höheren mineralischen N-Angebot beschränkte sich bei Pflanzen aus einer Stecklingsanzucht auf die ersten Wochen der Jugendentwicklung. Ausmass und Dauer des relativ langsameren Wachstums waren umso geringer, je günstiger die Lichtverhältnisse waren. Nur bei sehr tiefen  $E_p$ , bei denen der N-Bedarf wegen des geringen Wachstums klein war, vermochte sich eine höhere mineralische N-Gabe in keiner Phase der Entwicklung beschleunigend auf das Wachstum auszuwirken.

Das Lichtangebot beeinflusste die BNF bei gut entwickelten Weisskleepflanzen vor allem über das Wachstum der nodulierten Wurzel. Die BNF-Kapazität der Pflanzen verhielt sich unter dem Einfluss unterschiedlicher  $E_p$  ( $200-500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) proportional zur Trockenmasse der nodulierten Wurzel. Mit steigenden  $E_p$  nahmen die TS-Anteile der nodulierten Wurzel zu. Auf dieser Zunahme beruhte die von 300 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beobachtete abnehmende ertragssteigernde Wirkung der höheren Nitratkonzentration in der Nährlösung.

Bei einer  $E_p$  von  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  war nur ein geringes Wachstum möglich. Hier wurde die vorhandene BNF-Kapazität dem reduzierten Bedarf an BNF-Stickstoff angepasst. Dieser Bedarf an BNF-Stickstoff war abhängig von der Konzentration des Nitrat-Stickstoffs im Wurzelmedium. Deshalb reduzierte  $\text{NO}_3^-$  die BNF-Kapazität der nodulierten Wurzel. Nach einer abrupten Verbesserung der Lichtbedingungen konnte die der BNF-Kapazität der nodulierten Wurzel entsprechende Nitrogenaseaktivität innerhalb einer Woche erlangt werden.

Alle Massnahmen, die dem Weissklee zu besseren Lichtbedingungen verhelfen, begünstigen sein Wachstum und steigern dadurch gleichzeitig seinen Beitrag zur Stickstoffversorgung unserer Wiesen und Weiden. Da die Deckung des N-Bedarfs durch die BNF an das Spross/Wurzel-Verhältnis gebunden war, könnte sich eine Verabreichung von mineralischem Stickstoff positiv auf die Jugendentwicklung des Weissklees auswirken. Das  $\text{N}_2$ -Fixierungsvermögen wurde durch das mineralische N-Angebot reduziert. Die Reduktion war dann ausgeprägter, wenn das Weisskleewachstum nicht durch Stickstoff limitiert war.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

An nodulierten Weisskleeplanzen in Wachstumskammern wurde untersucht, wie sich das Lichtangebot auf den wirkungsvollen Einsatz der Assimilate für die biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) auswirkt. Bei unterschiedlicher Abhängigkeit von BNF-Stickstoff (1.0 und 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$ ) wurde das Wachstum und die Nitrogenaseaktivität ( $\text{C}_2\text{H}_2$ -Reduktion) bei konstanten (100, 300, 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und wechselnden Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ; 100→500, 500→100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und verschiedenen langen (16/8, 11/13 h Tag/Nacht) Lichtperioden verfolgt. Die Tag/Nacht-Lufttemperatur betrug in allen Verfahren 18/13°C. Die aus einer Stecklingsanzucht stammenden Pflanzen wurden in Wochenabständen geerntet.

Zwischen 100 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zunehmende  $E_p$  steigerten die totale Trockensubstanzproduktion um das Dreifache. Bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  wurde weniger Trockensubstanz (TS) gebildet als bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$ . Die Ertragssteigerung durch die hohe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration war am grössten bei 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (+111%) und nahm mit steigender  $E_p$  und zunehmendem Pflanzenalter ab.

Bei 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  war das Wachstum gering, die hohe Nitratkonzentration wirkte sich nicht positiv auf die TS-Produktion aus. Bei dieser  $E_p$  wurde verhältnismässig mehr Substanz in die Bildung von Blattspreiten und Blattstielen investiert; dies vor allem auf Kosten des Stolonenwachstums. Mit von 100 auf 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  steigenden  $E_p$  nahmen die Wurzelanteile an der TS der ganzen Pflanze von 9 auf 17% zu; die Tageslänge beeinflusste diese nicht.

Die totale Nitrogenaseaktivität ( $\text{C}_2\text{H}_2$ -Reduktion) war eng mit der Wurzelmasse korreliert. Bei tiefer  $E_p$  (100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und bei Kurztag (11/13 h Tag/Nacht) war die Nitrogenaseaktivität pro Einheit nodulierter Wurzelmasse kleiner als in den übrigen Verfahren. Die hohe Nitratkonzentration (7.5 mM) reduzierte die spezifische Nitrogenaseaktivität der nodulierten Wurzeln. Die Reduktion war bei 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  doppelt so stark wie bei 300 und 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Eine Erhöhung der  $E_p$  von 100 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und eine Reduktion von 500 auf  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  führte bei beiden Nitratstufen zu einer parallelen Steigerung bzw. Abnahme der spezifischen Nitrogenaseaktivität und der relativen Wachstumsrate.

Aus diesen Resultaten wurde ersichtlich, dass das Lichtangebot die  $\text{N}_2$ -Fixierungsleistung von Weisskleepflanzen vor allem über das Wachstum der nodulierten Wurzel beeinflusste. Dieses wurde durch günstige Lichtbedingungen gefördert, weshalb sich eine höhere Nitratkonzentration bei höheren Photonen-Bestrahlungsstärken weniger stark positiv auf das Wachstum auswirkte. Nitrat im Wurzelmedium reduzierte die BNF-Kapazität der Pflanzen. Wenn Stickstoff wegen schlechten Lichtbedingungen nicht wachstumslimitierend war, wurde die der Wurzelmasse entsprechende BNF-Kapazität reduziert und somit dem kleineren Bedarf an BNF-N angepasst.

Unter dem Einfluss unterschiedlicher Lichtverhältnisse wurde die BNF von Weissklee vor allem über das Wachstum der Pflanzen beeinflusst. Bei einem mineralischen N-Angebot konnte die BNF einen kleineren Anteil zur Stickstoffversorgung der Pflanzen beitragen. Bei Lichtverhältnissen, die den Stickstoffbedarf verringerten, wurde die BNF zugunsten der Nitrat-aufnahme reduziert.

**III. Einfluss der Temperatur auf die Ertragsbildung und die biologische Stickstoff-Fixierung von Weissklee (*Trifolium repens* L.) in Abhängigkeit des Nitratangebotes**

---

**1. EINLEITUNG**

Die Temperatur kann sich auf vielfältige Art und Weise auf die Leguminosen-Rhizobium-Symbiose auswirken. Neben der Aktivität des  $N_2$ -fixierenden Enzyms (Hardy et al., 1968; Cralle und Heichel, 1982) scheinen alle Entwicklungsstadien temperaturabhängig zu sein (Lie, 1981). Dadurch wird die Bildung von Wurzelknöllchen bei tiefen Temperaturen verzögert (Gibson, 1963; Roughley und Dart, 1970; Fyson und Sprent, 1982; Roughley und Date, 1986) und zusätzlich die Aktivität der Nitrogenase reduziert. Es ist möglich, dass eine solche Beeinträchtigung durch eine Vergrößerung der Knöllchen oder der Gesamtmenge an Knöllchengewebe (Fyson und Sprent, 1982 bzw. Gibson, 1969) und damit einer grösseren Enzymmenge (Roughley und Dart, 1969) zumindest teilweise kompensiert werden kann. Unklar bliebe dann, weshalb nodulierte  $N_2$ -fixierende Pflanzen empfindlicher auf extreme Temperaturen reagieren als solche, die mit kombiniertem Stickstoff versorgt werden (Mulder et al., 1977).

Da die biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) für die Deckung ihrer Kohlehydratbedürfnisse von der Wirtspflanze abhängig ist, könnte sich die Temperatur indirekt über die Stoffwechselvorgänge der Pflanze auf die Stickstoff-Fixierungsleistung auswirken. Die Beeinflussung von pflanzenphysiologischen Prozessen wie Photosynthese, Respiration, Translokation und Transpiration durch die Temperatur widerspiegelt sich schlussendlich in einem veränderten Wachstum. Unter 25°C liefert Weissklee mit steigenden Temperaturen höhere Trockensubstanz-Erträge (Boller und Nösberger, 1983). Diese Wirkung beruht auf einer Wachstumsbeschleunigung (Jelmini, 1976), für welche bei Luzerne eine raschere Zunahme aller Pflanzenteile

und eine höhere Blattbildungsrate verantwortlich sind (Harding und Sheehy, 1980). Tiefe Temperaturen führen bei Weissklee zu einer Akkumulation von nichtstrukturbildenden Kohlehydraten auf Kosten der Meristemtätigkeit, was sich in einer verminderten Blatt- und Stolonenbildungsrate niederschlägt (Boller und Nösberger, 1983). Bei einer relativ geringen Abhängigkeit der blattflächenbezogenen Netto-Photosyntheserate von der Wachstumstemperatur (Woledge und Dennis, 1982) kommen solche Wachstumsunterschiede vor allem über die Beeinflussung der Sink/Source-Verhältnisse innerhalb der Pflanze zustande. Unter der Annahme, dass bei tiefen Temperaturen die TNC-Akkumulation ein stärkerer Sink ist als der Kohlehydratbedarf der BNF, könnte die für die BNF verfügbare Kohlehydratmenge und damit die Stickstoffversorgung für das Wachstum limitierend werden.

Veränderungen des Assimilataufwandes für Erhaltung, Wachstum und Reservebildung äussern sich in einer Beeinflussung der phänologischen Entwicklung der Pflanze, der Trockensubstanzverteilung auf die einzelnen Pflanzenteile und der spezifischen Blatt- und Stolonengewichte. Unter Berücksichtigung dieser Kriterien wurde an nodulierten Weisskleepflanzen untersucht, wie sich die Temperatur auf die Beziehung zwischen der Ertragsbildung und der BNF ( $^{15}\text{N}$ -Verdünnung) auswirkt. Um die Temperaturempfindlichkeit der Symbiose beurteilen zu können, wurden unterschiedlich stark von der BNF abhängige Pflanzen benutzt und Luft- und Bodentemperaturen ausgesetzt, wie sie bei uns während der Vegetationszeit im Freiland anzutreffen sind. Aus den Resultaten wurde abgeleitet, dass sich die Temperatur hauptsächlich indirekt, das heisst über das Pflanzenwachstum, auf die BNF auswirkte.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Pflanzenmaterial

Das in den Temperaturversuchen verwendete Pflanzenmaterial und die Anzuchtmethode waren identisch mit der Beschreibung auf Seite 5.

### 2.2. Anzuchtbedingungen

Die Anzuchtbedingungen entsprachen weitgehend denjenigen, die im vorangehenden Kapitel (Seite 5) beschrieben wurden. Die Dauer der Anzuchtphase betrug 28 Tage. Die Photonen-Bestrahlungsstärke ( $E_p$ ) wurde nach der ersten Woche bis zum 28. Tag in drei Schritten von 100 auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  erhöht.

### 2.3. Versuchsbedingungen

Bei Versuchsbeginn am 29. Tag wurde die Temperatur im Wurzelbereich mit Hilfe eines in die Kunststoffkistchen eingezogenen Kupferrohrs und darin zirkulierendem Wasser aus einem Kryostaten auf den gewünschten Wert eingestellt. Um die Temperaturgradienten im Wurzelraum klein zu halten, wurden die Kistchen mit isolierendem Material (STYRODUR, 2 cm dick) umgeben und der Quarzsand mit einer 1 cm dicken Schicht PERLIT abgedeckt.

Die Pflanzen erhielten weiterhin zweimal täglich Nährlösung (Seiten 5 und 6). Es wurden zwei Stufen der Nitraternahrung verglichen, nämlich 1.0 mM und 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  (Atom%-Überschuss an  $^{15}\text{N}$  ca. 1%). Die relative Luftfeuchtigkeit wurde reduziert auf 70/85% (Tag/Nacht). Die  $E_p$  von  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und der Tag/Nacht-Verlauf (16/8 h) wurden beibehalten. Die Luft- und Bodentemperaturen wurden wie folgt gewählt:

**Versuch I.** Die Tag/Nacht-Lufttemperaturen in den einzelnen Wachstumskammern betragen 13/13, 18/13 und 23/13°C. Bei jeweils der Hälfte der Pflanzen wurde die Temperatur im Wurzelmedium auf 13°C (24 h) eingestellt. Bei der anderen Hälfte wurde sie nicht beeinflusst, so dass die Bodentemperaturen den gleichen Tag/Nacht-Verlauf hatten wie die Lufttemperaturen. Wegen der Wärmestrahlung des Lichtes lag die Temperatur sowohl in den gekühlten als auch in den ungekühlten Kistchen tagsüber um 0,5–1,5°C über dem Sollwert.

**Versuch II.** Die Tag/Nacht-Lufttemperatur betrug einheitlich 18/13°C. Die Temperatur im Wurzelmedium wurde im einen Verfahren auf konstant 5°C und im anderen auf konstant 15°C eingestellt. Die Abweichungen der Bodentemperaturen vom Sollwert bewegten sich während des Tag/Nacht-Verlaufes in einem Bereich von  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

#### 2.4. Ernteerhebungen

Die Ernten wurden entsprechend der Beschreibung auf den Seiten 6 und 7 ab dem Pflanzenalter von 35 Tagen in Abständen von einer bis zwei Wochen durchgeführt. Bei vier (Versuch I) oder fünf (Versuch II) Wiederholungen pro Verfahren wurden die gleichen Parameter erhoben wie in den Lichtversuchen (Seite 7).

Die  $\text{N}_2$ -Fixierungsleistung der nodulierten Weisskleepflanzen wurde mit der  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik bestimmt. Die Anteile an Stickstoff aus der Nährlösung bzw. aus der Atmosphäre ( $\text{N}_2$ -Fixierung) wurden durch den Vergleich der  $^{15}\text{N}$ -Anreicherung in den Pflanzen mit derjenigen in der Nährlösung ermittelt. Zur  $^{15}\text{N}$ -Analyse wurde das Pflanzenmaterial gemahlen (Siebmaschenweite 1,0 mm) und nachgetrocknet. Für die Kjeldahl-Stickstoffbestimmung wurden Proben von 500 mg verwendet, welche unter Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}_2$  in Schwefelsäure mit 0,18 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  und 0,18 mg Se pro ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aufgeschlossen wurden. Nach der Destillation wurde titrimetrisch der Ammoniumgehalt in der Vorlage bestimmt, bevor diese auf 8 ml eingedampft wurde. Teilproben dieses Konzentrats wurden in Rittenberg-Gefäßen (Sprinson und Rittenberg, 1949) unter Vakuum mit Lithium-Hypobromit ( $\text{LiOBr}$ ) zur Reaktion gebracht;  $\text{NH}_4^+$  wurde oxidiert zu  $\text{N}_2$ .

Die  $^{15}\text{N}$ -Anreicherung (Atom%-Überschuss an  $^{15}\text{N}$ ) wurde gemessen mit einem Massenspektrometer (Consolidated Nier, modifiziert durch das EIR Würnlingen). Der in der Nährlösung enthaltene Nitrat-Stickstoff wurde mit der Salicylsäure-Methode nach Bremner (1965) in die Ammonium-Form umgewandelt und anschliessend gleich behandelt wie das gemahlene Pflanzenmaterial.

Der BNF-Anteil an dem zwischen dem 29. und 63. Tag nach dem Pflanzen (Versuchsperiode) aufgenommenen Gesamtstickstoff wurde nach McAuliffe et al. (1958) berechnet. Statt dem Atom%-Überschuss  $^{15}\text{N}$  einer Referenzpflanze wurde der Atom%-Überschuss  $^{15}\text{N}$  der Nährlösung in die Gleichung eingesetzt.

$$\%N_{\text{sym}(29-63)} = \frac{N_{\text{tot}(63)} \cdot \left( 1 - \frac{\text{At}\% \text{-Übersch. } ^{15}\text{N}(\text{Pfl.})}{\text{At}\% \text{-Übersch. } ^{15}\text{N}(\text{NL})} \right) - N_{\text{tot}(28)}}{N_{\text{tot}(63)} - N_{\text{tot}(28)}} \cdot 100$$

$\%N_{\text{sym}(29-63)}$  : BNF-Anteil am Gesamtstickstoff pro Pflanze, der zwischen dem 28. und 63. Tag aufgenommen wurde

$N_{\text{tot}(28)}$  : Gesamtstickstoffmenge pro Pflanze am 28. Tag

$N_{\text{tot}(63)}$  : Gesamtstickstoffmenge pro Pflanze am 63. Tag

At%-Übersch.  $^{15}\text{N}(\text{Pfl.})$ : Atom%-Überschuss  $^{15}\text{N}$  im Pflanzenmaterial

At%-Übersch.  $^{15}\text{N}(\text{NL})$  : Atom%-Überschuss  $^{15}\text{N}$  in der Nährlösung

Mit den spezifischen Absorptionsraten (SAR) (Hunt, 1982) konnten relative Veränderungen der  $\text{N}_2$ -Fixierung gegenüber der Nitrataufnahme aufgezeigt werden. Für die Berechnung der SAR für die Zeit zwischen dem 29. und 63. Tag wurden die wöchentlich erhobenen Trockengewichte der nodulierten Wurzeln und die am 63. Tag ermittelten Stickstofferträge pro Pflanze (BNF-N, Nährlösungs-N) verwendet.

$$\text{SAR(Nährlösung)} = \frac{\text{N aus Nährlösung}}{\int \text{Wurzel-TS} \cdot dt} ; \quad [\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$$

$$\text{SAR(BNF)} = \frac{\text{N aus BNF}}{\int \text{Wurzel-TS} \cdot dt} ; \quad [\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}]$$

## 3. RESULTATE

3.1. Einfluss von Luft- und Bodentemperaturen zwischen 13 und 23°C auf das Wachstum und die N<sub>2</sub>-Fixierung (Versuch I)Trockensubstanz- und Stickstofferträge  
spezifische Stickstoff-Absorptionsraten

Zwischen 13 und 23°C bewirkte eine Zunahme der Tages-Lufttemperatur bei beiden Nitratstufen eine signifikante Ertragssteigerung (Tabelle 1). Eine Erhöhung der Lufttemperatur von 13/13 auf 23/13°C (Tag/Nacht) verursachte bei 1.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> eine Zunahme der Trockensubstanzerträge um +130% und bei 7.5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> um +70%.

Die hohe Nitratgabe (7.5 mM) wirkte sich signifikant positiv auf die Pflanzentrockenmasse aus, wobei die ertragssteigernde Wirkung gegenüber

**Tabelle 1:** Einfluss der Lufttemperatur auf den Trockensubstanz(TS)- und Stickstoffertrag und dessen Anteil aus der BNF bei 63 Tage alten nodulierten Weisskleeplanzen (Pfl.) bei unterschiedlicher Nitratversorgung

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mM)	Luft- temperatur (Tag/Nacht) (°C)	TS-Ertrag (g·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Ertrag (mg·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Anteil aus BNF (%)
1.0	13/13	4.820	185	86.0
	18/13	7.967	286	89.0
	23/13	11.112	377	91.1
	kgD <sub>5%</sub>	1.698	59	3.9
7.5	13/13	7.221	278	48.1
	18/13	9.303	323	49.3
	23/13	12.266	393	49.6
	kgD <sub>5%</sub>	2.499	87	6.7

kgD<sub>5%</sub>: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

der tiefen Nitratkonzentration (1.0 mM) mit +10% bei 23/13°C, +17% bei 18/13°C und +50% bei 13/13°C bei tieferen Temperaturen zunahm. Die Interaktion zwischen den Faktoren Temperatur und Nitrat war nicht gesichert.

Die Stickstofferträge verhielten sich ähnlich wie diejenigen der Trockensubstanz (Tabelle 1). Bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  wurden 86 bis 91% des Stickstoff-Bedarfs durch BNF-Stickstoff gedeckt. Der BNF-Anteil an der Gesamtstickstoffmenge pro Pflanze war bei dieser Nitratkonzentration bei 23/13°C signifikant grösser (+5%) als bei 13/13°C. Bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  deckten die Weisskleepflanzen ihren N-Bedarf zur Hälfte mit BNF-Stickstoff. Das Verhältnis zwischen den Stickstoffmengen aus der BNF und aus der Nährlösung wurde bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  durch die Temperatur nicht beeinflusst.

Die spezifischen Absorptionsraten (SAR; Tabelle 2) für Stickstoff geben Aufschluss über die Temperaturabhängigkeit des Stickstoffaufnahme- und Stickstoff-Fixierungsvermögens nodulierter Wurzeln.

**Tabelle 2:** Einfluss der Lufttemperatur auf die spezifischen Absorptionsraten (SAR) für Nährlösungs(NL)- und BNF-Stickstoff von nodulierten Weisskleepflanzen bei unterschiedlicher Nitratversorgung (29. bis 63. Wachstumstag)

$\text{NO}_3^-$ (mM)	Luft- temperatur (Tag/Nacht) (°C)	SAR ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ Wurzel-TS $\cdot \text{d}^{-1}$ )		
		BNF	NL	total
1.0	13/13	13.9	2.2	16.1
	18/13	18.1	2.2	20.2
	23/13	20.9	2.1	22.9
	kgD5%	4.0	0.6	4.3
7.5	13/13	10.1	11.3	21.5
	18/13	10.4	10.5	20.9
	23/13	11.3	11.4	22.7
	kgD5%	3.1	3.5	5.9

kgD5%: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

Die Wurzeln der Pflanzen bei 23/13°C hatten bei beiden Nitratstufen eine gleich hohe totale SAR. Diese wurde bei 1.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mit sinkenden Temperaturen verringert und war bei 13/13°C signifikant kleiner (-30%) als bei 23/13°C. Diese Abnahme der totalen SAR wurde bei unveränderter SAR für Nährlösungsstickstoff durch eine Abnahme der spezifischen Absorptionsrate für BNF-Stickstoff verursacht. Bei 7.5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> wurden die spezifischen Absorptionsraten für BNF- und Nährlösungsstickstoff durch die Temperatur von 13/13°C kaum beeinflusst (-5% bzw. -1%).

In den Verfahren mit 18 und 23°C Tages-Lufttemperatur wirkten sich um 5 bzw. 10°C tiefere Temperaturen im Wurzelmedium bei den stärker auf BNF-Stickstoff angewiesenen Pflanzen nicht nachteilig auf die Trockensubstanz- und Stickstofferträge aus (Tabelle 3). Die Anteile des BNF-Stickstoffs an der gesamten N-Menge blieben durch die Kühlung des Wurzelmediums (13/13°C Tag/Nacht) im Vergleich zu den ungekühlten Verfahren (Bodentemperatur 18 bzw. 23/13°C Tag/Nacht) ebenfalls unbeeinflusst.

**Tabelle 3:** Einfluss der Bodentemperatur auf den Trockensubstanz(TS)- und Stickstoffertrag und dessen Anteil aus der BNF bei 63 Tage alten nodulierten Weisskleepflanzen (Pfl.) bei Lufttemperaturen von 18/13°C und 23/13°C Tag/Nacht (16/8 h) und einem Nitratangebot von 1.0 mM

Luft-temperatur (Tag/Nacht) (°C)	Boden-temperatur (Tag/Nacht) (°C)	TS-Ertrag (g·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Ertrag (mg·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Anteil aus BNF (%)
18/13	13/13	8.098	284	89.4
	18/13	7.835	288	88.6
	kgD <sub>5%</sub>	4.769	141	7.7
23/13	13/13	10.573	357	91.1
	23/13	11.650	398	91.0
	kgD <sub>5%</sub>	5.378	202	0.8

kgD<sub>5%</sub>: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

### 3.2. Einfluss einer tiefen Bodentemperatur auf das Wachstum und die N<sub>2</sub>-Fixierung (Versuch II)

#### Trockensubstanz- und Stickstofferträge

Bei Bodentemperaturen von 5/5°C (Tag/Nacht) fielen die Trockensubstanz- und Stickstofferträge pro Pflanze im Vergleich zu 15/15°C markant tiefer aus. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Pflanzen stärker oder weniger stark auf BNF-Stickstoff angewiesen waren (Tabelle 4). Durch die tiefere Bodentemperatur wurden die TS-Erträge um etwa 70% und die N-Erträge um über 80% reduziert. Bei 5/5°C Bodentemperatur nahm, im Vergleich zu 15/15°C, der N-Anteil aus der BNF bei 1.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> um 40% und bei 7.5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> um 44% ab, zugunsten eines grösseren N-Anteils aus der Nährlösung. Der BNF-Anteil am Gesamtstickstoff pro Pflanze war bei 1.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> unabhängig von der Bodentemperatur dreimal grösser als bei 7.5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

**Tabelle 4:** Einfluss der Bodentemperatur auf den Trockensubstanz(TS)- und Stickstoffertrag und dessen Anteil aus der BNF bei 63 Tage alten nodulierten Weisskleepflanzen (Pfl.) bei einer Lufttemperatur von 18/13°C Tag/Nacht (16/8 h) und einem unterschiedlichen Nitratangebot

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mM)	Boden- temperatur (Tag/Nacht) (°C)	TS-Ertrag (g·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Ertrag (mg·Pfl. <sup>-1</sup> )	N-Anteil aus BNF (%)
1.0	5/5	4.078	74	52.3
	15/15	12.883	476	86.4
	kgD5%	4.555	178	4.5
7.5	5/5	5.977	137	18.5
	15/15	20.475	725	33.3
	kgD5%	2.776	123	6.3

kgD5%: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

Im Vergleich zum TS-Ertrag wurde der N-Ertrag bei 5/5°C durch die geringere Nitratgabe (1.0 mM) stärker reduziert (-46%) als bei 15/15°C Bodentemperatur (-34%). Dies manifestierte sich in einer geringeren Stickstoffkonzentration (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Einfluss der Bodentemperatur auf die Stickstoffkonzentration in der Trockenmasse von 63 Tage alten nodulierten Weissklee-pflanzen bei 18/13°C Lufttemperatur (16/8 h Tag/Nacht) und einem unterschiedlichen Nitratangebot

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mM)	Boden- temperatur (Tag/Nacht) (°C)	Stickstoff- Konzentration (%)	kgD <sub>5%</sub>
1.0	5/5	1.82	0.21
	15/15	3.67	
7.5	5/5	2.28	0.23
	15/15	3.54	

kgD<sub>5%</sub>: kleinste gesicherte Differenz (P=0.05)

### Morphologische Pflanzenmerkmale

Unter dem Einfluss der tiefen Bodentemperatur wurde die Morphologie der Weisskleepflanzen stark verändert. So wurden bei 5/5°C Bodentemperatur weniger Seitenstolonen gebildet (-75%) als bei 15/15°C. Die Länge des Stolonensystems wurde dadurch massiv verkürzt (-81%). Trotz einer gleichzeitigen Verkürzung der Internodien (-42%) wurden bei 5/5°C weniger Blätter (-76%) gebildet als bei 15/15°C. Die Blattspreiten der Hauptstolon-Blätter waren bei der tiefen Bodentemperatur nur halb so gross wie diejenigen bei der höheren. Zusammen mit der reduzierten Blattzahl verringerte sich dadurch die gesamte Blattfläche pro Pflanze (-88%) (Abbildung 1).

Bodentemperatur (°C)	5/5		15/15	
Nitrat (mM)	1.0	7.5	1.0	7.5
Anzahl Seitenstolonen pro Pflanze	kgD <sub>5%</sub> I 15 21		76	73
Stolonenlänge pro Pflanze (cm)	89 143		463	763
Internodienlänge (cm)	1.2	1.4	2.3	2.2
Anzahl Blätter pro Pflanze	51	76	201	323
Blattgröße am Hauptstolon (cm <sup>2</sup> )	3.8	4.6	7.7	9.8
Blattfläche pro Pflanze (cm <sup>2</sup> )	140	206	648	1422
spezifische Stolonenlänge (cm·g <sup>-1</sup> TS)	65	65	121	120
spezifische Blattfläche am Hauptstolon (cm <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> TS)	157	154	166	227

Abbildung 1: Einfluss der Bodentemperatur (Tag/Nacht) auf ausgewählte Wachstumsparameter von 63 Tage alten nodulierten Weissklee-pflanzen (Lufttemperatur 18/13°C Tag/Nacht) in Abhängigkeit des Nitratangebotes

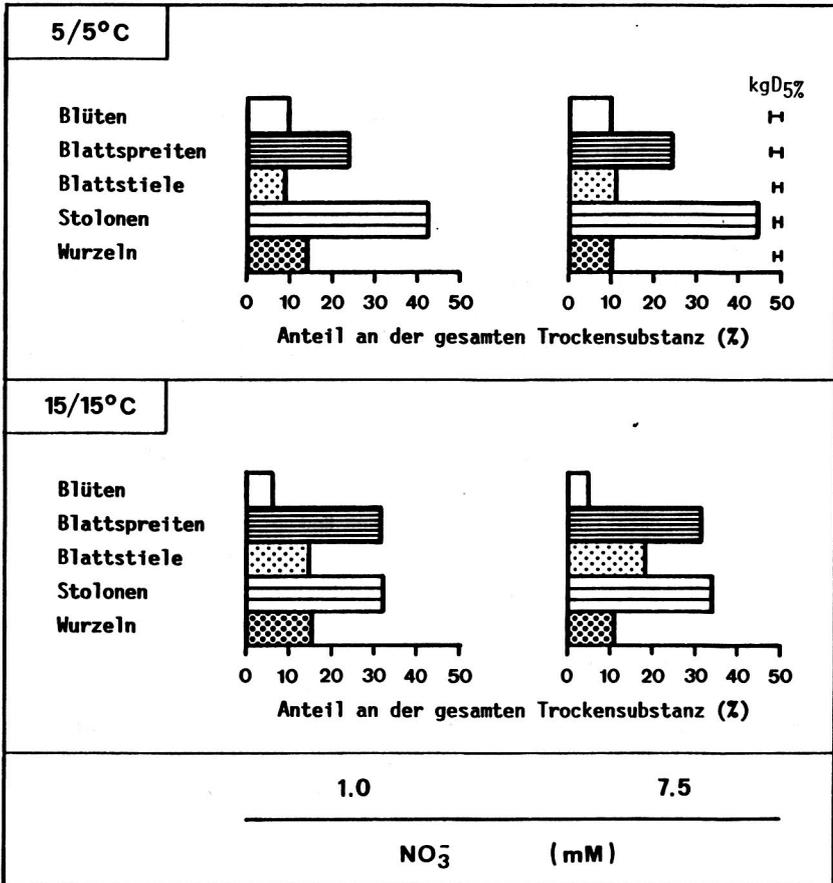
Die spezifische Stolonenlänge als reziprokes Mass für die Substanzeinlagerung in die Stolonen war bei 5/5°C nur halb so gross wie bei 15/15°C Bodentemperatur. Die spezifische Blattfläche reagierte weniger deutlich. Bei 15°C hatten die Pflanzen mit 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  eine signifikant höhere spezifische Blattfläche als in den übrigen Verfahren.

Die höhere Nitratgabe (7.5 mM) bewirkte gegenüber den Pflanzen bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  eine Steigerung der Anzahl Blätter (+55). Bei gleichbleibender Internodienlänge und Stolonenzahl führte die hohe Nitratkonzentration in der Nährlösung so zu einer Verlängerung der Seitenstolonen. Die Blattspreiten der Hauptstolonblätter hatten bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  eine um 21 bis 27% grössere Fläche, was sich zusammen mit der Blattzahl ebenfalls positiv auf die Gesamtblattfläche auswirkte. Die spezifische Stolonenlänge zeigte keine Abhängigkeit von der Versorgung der Pflanze mit Nitrat-N. Bei 15/15°C wurde die spezifische Blattfläche durch die hohe Nitratgabe gesteigert.

### Trockensubstanzverteilung

Gleichzeitig mit der Morphologie veränderte sich bei der tiefen Bodentemperatur die Verteilung der Trockensubstanz auf die einzelnen Pflanzenteile (Abbildung 2). Als auffälligster Unterschied wurde bei der Temperatur von 5/5°C im Vergleich zu 15/15°C im Wurzelmedium signifikant mehr Substanz (+10%) in die Stolonen verlagert. Im Gegensatz dazu machten die Blattspreiten und Blattstiele bei 5/5°C deutlich kleinere Anteile an der Gesamttrockenmasse aus (-6%) als bei 15/15°C. Die Anteile der Wurzeln am Gesamtertrag blieben durch die Bodentemperatur unbeeinflusst.

Die Nitratversorgung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Anteile der Blattstiele und der nodulierten Wurzeln an der Gesamt-TS. Die Pflanzen bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  hatten für die Wurzel- und Knöllchenbildung 3 bis 4% weniger und für die Bildung von Blattstielen 2 bis 4% mehr von der Gesamttrockenmasse aufgewendet als diejenigen bei 1.0 mM Nitrat.



**Abbildung 2:** Einfluss der Bodentemperatur (Tag/Nacht) auf die Trockensubstanzverteilung bei 63 Tage alten nodulierten Weissklee-pflanzen (Lufttemperatur 18/13°C Tag/Nacht) in Abhängigkeit des Nitratangebotes

## 4. DISKUSSION

### 4.1. Einfluss von Luft- und Bodentemperaturen zwischen 13 und 23°C auf das Wachstum und die N<sub>2</sub>-Fixierung

#### Trockensubstanz- und Stickstofferträge

Die ertragssteigernde Wirkung der Temperatur (Tabelle 1) wurde allein durch die Lufttemperatur verursacht. Unterschiedliche Tages-Bodentemperaturen wirkten sich zwischen 13 und 23°C nicht auf die TS-Erträge aus (Tabelle 3).

Bei Jelmini (1976) wuchsen Weisskleeplanzen bei 26/21°C Tag/Nacht-Temperaturen rascher als bei 14/9°C. Harding und Sheehy (1980) untersuchten an Luzerneplanzen den Einfluss der Boden- und der Lufttemperatur auf das Blattwachstum und die Photosynthese. Bei zwischen 5 und 25°C oszillierenden Boden- und Lufttemperaturen bestand zwischen der Lufttemperatur und dem Längenwachstum der einzelnen Pflanzenteile eine positive Beziehung. Diese fehlte, wenn nur die Bodentemperatur schwankte. Bei einer relativ geringen Abhängigkeit der Photosynthese von der Wachstumstemperatur (Harding und Sheehy, 1980; Woledge und Dennis, 1982; Walsh und Layzell, 1986) dürfte sich die Lufttemperatur vor allem über die Beeinflussung der Blattbildungsrate auf die Trockensubstanzerträge ausgewirkt haben.

Der Anteil des BNF-N am gesamten Stickstoffgehalt wurde hauptsächlich durch die Nitratkonzentration in der Nährlösung bestimmt und nahm mit steigendem Angebot an mineralischem N in ähnlichem Masse ab, wie dies von der Crone (1987) feststellte.

Die fehlende Wirkung der Bodenkühlung auf den Trockensubstanz- und Stickstoffertrag und den Anteil BNF-Stickstoff (Tabelle 3) zeigt, dass die BNF bei Bodentemperaturen zwischen 13/13 und 23/13°C (Tag/Nacht) nicht temperaturabhängig war. Da die Aktivität der Nitrogenase zwischen 5 und 25°C mit einem Q<sub>10</sub> von 1.3 bis 2.4 (Cralle und Heichel, 1982; Layzell et al., 1984) temperaturabhängig ist, muss bei tieferen Bodentem-

peraturen eine Kompensation der geringeren Aktivität stattgefunden haben. Dies umso mehr, als kühlere Bedingungen im Wurzelraum zusätzlich eine Verzögerung der Nodulation bewirken können (Roughley und Dart, 1970; Roughley und Date, 1986). Eine Kompensation kann über eine Vergrößerung der Knöllchen (Fyson und Sprent, 1982), eine Erhöhung der Knöllchenmasse (Gibson, 1969) und gleichzeitige Zunahme der Enzymmenge (Roughley und Date, 1969) erfolgt sein.

Die ertragssteigernde Wirkung der hohen Nitratgabe war relativ klein (Tabelle 1), bestätigt aber, dass  $N_2$ -fixierende Pflanzen geringere Erträge liefern als solche, die mit mineralischem Stickstoff ernährt werden (Maag und Nösberger, 1980; Arnott, 1984; Davidson und Robson, 1986). Die grössere Nitratwirkung bei tieferen Temperaturen wird im folgenden mit der spezifischen Absorptionsrate für BNF-Stickstoff erklärt.

### Spezifische Stickstoff-Absorptionsraten

Die parallel zur Temperatur festgestellte Abnahme der durchschnittlichen spezifischen Absorptionsrate für BNF-Stickstoff bei 1.0 mM  $NO_3^-$  (Tabelle 2) zeigt, dass diese Pflanzen bei tieferen Temperaturen im Verhältnis zur Masse der nodulierten Wurzel weniger Stickstoff aufnehmen konnten. Diese Temperaturempfindlichkeit der Stickstoffaufnahme könnte für das geringere Wachstum bei diesen Bedingungen verantwortlich gewesen sein. Es ist möglich, dass sich die Reduktion der Nitratkonzentration von 2.5 auf 1.0 mM  $NO_3^-$  zu Beginn der Versuchsperiode bei tieferen Lufttemperaturen stärker negativ auf die BNF ausgewirkt hatte. Mit dem während der Anzuchtperiode bei 2.5 mM  $NO_3^-$  gebildeten Knöllchenapparat schienen die Pflanzen nach der Reduktion der Nitratkonzentration um -60% nicht mehr in der Lage gewesen zu sein, ihren N-Bedarf zu decken. Dieser Zustand dauerte bei tieferen Lufttemperaturen offenbar länger an und war bei 7.5 mM  $NO_3^-$  nicht festzustellen, da hier die am Ende der Anzuchtperiode vorhandene BNF-Kapazität reduziert wurde und nicht erhöht werden musste wie bei 1.0 mM  $NO_3^-$ . Mit diesem Verhalten liesse sich die bei 1.0 mM  $NO_3^-$  beobachtete Erhöhung des BNF-Anteils mit steigender Temperatur erklären.

Das Nitrataufnahme- und  $N_2$ -Fixierungsvermögen der nodulierten Wurzeln war bei den Pflanzen bei 7.5 mM  $NO_3^-$  nicht abhängig von der Temperatur (Tabelle 2). Offenbar konnten diese Pflanzen den wachsenden N-bedarf bei höheren Temperaturen nur durch eine Ausdehnung des Wurzelwerkes decken. Es scheint, dass beide N-Quellen der Wurzelmasse entsprechend maximal ausgenutzt wurden. Die bei 7.5 mM  $NO_3^-$  festgestellten spezifischen Absorptionsraten für BNF-Stickstoff bestätigen die früheren Aussagen (Seite 24), dass Nitrat im Wurzelmedium die BNF-Kapazität der nodulierten Wurzel reduziert. Ähnlich wie bei Photonen-Bestrahlungsstärken über 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Abbildung 2, Seite 15), bewirkten unterschiedliche Temperaturen bei 7.5 mM  $NO_3^-$  keine Veränderung des auf die Trockenmasse der nodulierten Wurzel bezogenen  $N_2$ -Fixierungsvermögens.

Nachdem bei Bodentemperaturen zwischen 13/13 und 23/13°C (Tag/Nacht) keine direkte Temperaturabhängigkeit der BNF bestand, kann gefolgert werden, dass die BNF einer Weisskleepflanze in diesem Temperaturbereich (13 bis 23°C) nur indirekt über das von der Lufttemperatur abhängige Pflanzenwachstum beeinflusst werden konnte.

#### **4.2. Einfluss einer tiefen Bodentemperatur auf das Wachstum und die $N_2$ -Fixierung**

##### **Trockensubstanz- und Stickstofferträge morphologische Merkmale Trockensubstanzverteilung**

Bei weniger stark auf BNF-Stickstoff angewiesenen Pflanzen reagierte das Wachstum gleich empfindlich auf Bodentemperaturen von 5/5°C wie bei solchen, die einen grösseren Anteil ihres Stickstoff-Bedarfs durch BNF decken mussten. Die Reduktion der Trockensubstanz- und Stickstofferträge durch die tiefe Bodentemperatur war bei beiden Nitratstufen markant, wobei bei 1.0 mM  $NO_3^-$  der Stickstoffertrag etwas stärker reagierte als bei 7.5 mM  $NO_3^-$  (Tabelle 4).

Im Gegensatz zum Temperaturbereich zwischen 13 und 23°C (Tabelle 1) nahm bei von 15/15 auf 5/5°C (Tag/Nacht) abnehmenden Bodentemperaturen

nicht nur der TS-Ertrag, sondern auch die N-Konzentration (Tabelle 5) stark ab. Ein ähnliches Verhalten gegenüber tiefen Bodentemperaturen stellte Gibson (1963; 1969) bei Trifolium subterraneum L. fest.

Für die Interpretation dieser unterschiedlichen Temperaturwirkung auf den TS- und den Stickstoffertrag pro Pflanze bei tiefen Bodentemperaturen kommen grundsätzlich zwei Möglichkeiten in Frage. Erstens könnte die bei 5/5°C festgestellte Reduktion der N-Konzentration darauf hindeuten, dass neben der Bodentemperatur die Stickstoffversorgung das Wachstum der Pflanzen limitierte. Zweitens führen tiefe Temperaturen wegen eines Ungleichgewichtes zwischen Meristemaktivität und Photosynthese zu einer Anhäufung von Kohlehydratreserven (Boller und Nösberger, 1983), so dass ein Verdünnungseffekt auf N-haltige Verbindungen aufgetreten sein könnte. Die vorliegenden Resultate lassen keinen eindeutigen Schluss auf die Bedeutung dieser beiden Erklärungsmöglichkeiten zu.

Für einen Stickstoffmangel sprechen die eingeschränkte Meristemaktivität (Blattzahl) und die geringere Ausdehnung des Stolonensystems und der Blattfläche pro Pflanze (Abbildung 1). Da die Stickstoffkonzentration in der Wurzel höher war als in den übrigen Pflanzenteilen, könnte der Stickstoffmangel auf eine verlangsamte N-Translokation in den Spross zurückzuführen sein (Gibson, 1966; Gibson, 1969; Walsh und Layzell, 1986). Andererseits deuten der hohe Anteil der Stolonen an der Gesamt-TS und die geringere spezifische Stolonenlänge (Abbildung 2, Abbildung 1) auf eine Akkumulation von Reservekohlehydraten hin. Einen ähnlichen Effekt stellten Walsh und Layzell (1986) bei Soyabohnen fest.

Die tiefe Bodentemperatur wirkte sich bei beiden Nitratstufen sehr stark hemmend auf den N-Ertrag aus. Die ungünstige Einwirkung der tiefen Temperatur war zum grossen Teil unabhängig davon, wie stark die Pflanzen auf BNF-Stickstoff angewiesen waren, beruhte also auf einem von der N-Ernährung unabhängigen Prozess. Bei der Absenkung der Bodentemperatur von 18 auf 5°C zeigten die Pflanzen Welkeerscheinungen. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass die Wirkung der tiefen Bodentemperatur teilweise über den Wasserhaushalt erfolgte. Bei Wasserstress reduziert Weissklee die Grösse seiner Blätter (Bucher, 1981). Eine Reduktion der Blattflächenbildung und der Transpiration als Effekt tiefer Bodentemperaturen

wurde auch bei Soyabohnen (Walsh und Layzell, 1986) festgestellt.

Die BNF selbst schien durch die tiefe Bodentemperatur zusätzlich zur allgemeinen Wachstumsreduktion etwas beeinträchtigt. Bei 5/5°C war der BNF-Anteil am Gesamtstickstoff geringer als bei 15/15°C (Tabelle 4) und die N-Konzentration der Pflanzen, die stärker auf BNF-Stickstoff angewiesen waren (1.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), reagierte empfindlicher auf die tiefe Bodentemperatur (Tabelle 5). Der Unterschied in der N-Konzentration zwischen 1.0 und 7.5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> war aber weit geringer als der Unterschied zwischen den Temperaturverfahren. Es ist deshalb anzunehmen, dass die Abnahme des BNF-Anteils zum Teil auf der Anpassung an einen reduzierten N-Bedarf beruhte (vgl. Seite 23). Die Bildung von Wurzelknöllchen war bei Trifolium subterraneum bei 5°C noch möglich (Gibson; 1963). Nitrogenaseaktivität war bei Rotklee und Luzerne bei Bodentemperaturen von 1.5°C noch feststellbar (Lindström, 1984).

#### 4.3. Schlussfolgerungen

Im Bereich zwischen 13/13 und 23/13°C (Tag/Nacht) steigerten zunehmende Temperaturen die Trockensubstanzproduktion von Weissklee. Diese Wirkung erfolgte vorwiegend über die Lufttemperatur. Stärker auf BNF-Stickstoff angewiesene Pflanzen konnten ihr Wachstumspotential nicht voll ausnutzen. Die Dauer der Beeinträchtigung gegenüber Pflanzen mit einer besseren Nitratversorgung war abhängig von der Wachstumstemperatur und äusserte sich in einer reduzierten spezifischen Absorptionsrate für BNF-Stickstoff.

Bodentemperaturen zwischen 13/13 und 23/13°C (Tag/Nacht) vermochten sich bei nodulierten Weisskleepflanzen nicht auf die BNF auszuwirken. Die Stickstoff-Absorptionsraten sowohl für BNF- als auch für Nitratstickstoff waren nicht temperaturabhängig, wenn die Pflanzen ihren Stickstoffbedarf je zur Hälfte mit Nitrat- und BNF-Stickstoff deckten.

Die Steigerung der BNF pro Pflanze erfolgte zwischen 13/13 und 23/13°C hauptsächlich über das Wachstum der nodulierten Wurzel. Nitrat im Wurzelmedium wirkte sich negativ auf die BNF-Kapazität aus.

Bei Bodentemperaturen von 5/5°C (Tag/Nacht) war das Weisskleewachstum stark beeinträchtigt. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Pflanzen stark oder weniger stark auf biologisch fixierten Stickstoff angewiesen waren. Im Vergleich zu 15/15°C war bei der tiefen Bodentemperatur die Aktivität der Meristeme stark eingeschränkt. Als Folge reduzierten sich die Länge des Stolonensystems und der Internodien, die Anzahl Blätter, die Grösse der Blattspreiten und damit die gesamte Blattfläche. Die Assimilate wurden bevorzugt in den Stolonen akkumuliert. Bei 5/5°C Bodentemperatur wurde ein grösserer Anteil des N-Bedarfs durch das im Wurzelmedium vorhandene Nitrat gedeckt als bei einer höheren.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

In zwei Experimenten in Wachstumskammern wurde an unterschiedlich stark von der biologischen Stickstoff-Fixierung (BNF) abhängigen (bei 1.0 und 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$ ) nodulierten Weisskleeplanzen (Trifolium repens L., Oekotyp) untersucht, wie sich die Temperatur auf die Beziehungen zwischen der Ertragsbildung und der BNF auswirkt. Die Pflanzen wuchsen bei 13/13, 18/13 und 23/13°C Tag/Nacht (16/8 h) Lufttemperaturen je in ungekühlten und gekühlten Wachstumsgefässen bei Bodentemperaturen von 13/13, 18/13 und 23/13 bzw. 13/13°C Tag/Nacht. Im zweiten Versuch betrug die Lufttemperatur 18/13°C Tag/Nacht (16/8 h), die Bodentemperaturen wurden auf 5/5 und 15/15°C (Tag/Nacht) eingestellt.

Zwischen 13/13 und 23/13°C steigende Lufttemperaturen bewirkten eine parallele, verhältnismässig gleich starke Zunahme der Trockensubstanz- (+100%) und Stickstofferträge pro Pflanze. Bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  waren die TS- und N-Erträge 20% höher als bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$ . Nitrat reduzierte den BNF-Anteil am Gesamtstickstoff von 86 bis 91% bei 1.0 mM  $\text{NO}_3^-$  auf 49% bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$ . Die spezifischen Absorptionsraten (SAR) der nodulierten Wurzeln für Nährlösungs- und BNF-N waren bei 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  zwischen 13/13 und 23/13°C nicht temperaturabhängig. Bei 23/13°C Lufttemperatur beeinflusste eine Bodentemperatur von 13/13°C gegenüber einer solchen von 23/13°C weder die Trockensubstanz- und Stickstofferträge noch den Anteil des BNF-Stickstoffs am Gesamtstickstoff.

Bei von 15/15 auf 5/5°C sinkender Bodentemperatur nahmen die TS-Erträge bei 1.0 und 7.5 mM  $\text{NO}_3^-$  auf einen Drittel und die N-Erträge auf weniger als einen Fünftel ab, die Stickstoffkonzentration in der Pflanzentrockenmasse wurde halbiert. Der BNF-Anteil am gesamten Stickstoff pro Pflanze betrug bei 5/5°C bei beiden Nitratstufen 58% desjenigen bei 15/15°C. Bei 5/5°C zeigten die Pflanzen gegenüber denjenigen bei 15/15°C starke morphologische Veränderungen und hatten einen grösseren Stolonenanteil an der Gesamttrockenmasse, verbunden mit einer 50% kleineren spezifischen Stolonenlänge.

Die Resultate zeigen, dass die BNF der Weisskleepflanzen zwischen 13/13 und 23/13°C nicht temperaturempfindlich war und dass eine Beeinflussung der BNF-Kapazität pro Pflanze in diesem Temperaturbereich nur über das Wachstum der nodulierten Wurzel und über das Nitratangebot im Wurzelmedium erfolgen konnte. Die BNF-Kapazität der nodulierten Pflanzen reduzierte sich mit steigender Nitratkonzentration. Ueber 13°C war für das Weisskleewachstum vor allem die Lufttemperatur entscheidend. Bei Bodentemperaturen um 5°C war das Weisskleewachstum unabhängig von der N-Ernährung stark beeinträchtigt. Während sich die Stickstoff- und Trockensubstanzerträge im Temperaturbereich zwischen 13 und 23°C weitgehend proportional zueinander verhielten, war bei 5°C Bodentemperatur eine Abnahme der N-Konzentration um die Hälfte möglich, verbunden mit einer Reduktion der BNF zugunsten der N-Aufnahme aus der Nährlösung. Mögliche Ursachen dafür und für das veränderte Wachstumsverhalten wurden diskutiert.

Die Temperatur wirkte sich vor allem über das Wachstum der Wirtspflanze auf die BNF aus. Für die Reduktion des Weisskleewachstums bei tiefen Bodentemperaturen, wie sie zu Beginn und am Ende der Vegetationsperiode vorkommen, schien nicht die Abhängigkeit von der BNF verantwortlich gewesen zu sein.

#### IV. Der Acetylenreduktionstest und die $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik zur Messung der biologischen Stickstoff-Fixierung: Ein Resultatvergleich bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen

---

##### 1. EINLEITUNG

Zur Messung der biologischen Stickstoff-Fixierung bieten sich zwei Methoden an, der Acetylenreduktionstest (Hardy et al., 1968) und die  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik. Der Acetylenreduktionstest ist einfacher in der Anwendung, kostengünstiger und die Resultate sind sofort verfügbar. Mit diesem Test misst man die momentane Aktivität der Nitrogenase unter der Ausnutzung der Eigenschaft, dass bei Anwesenheit von 10% Acetylen in der Atmosphäre dieses zu Aethylen reduziert wird. Die Reduktion von Luftstickstoff und die natürlicherweise vorkommende Abgabe von Wasserstoff unterbleiben. Acetylen und Aethylen in Gasproben lassen sich sehr einfach gaschromatographisch bestimmen. Die Acetylenreduktionsrate ist ein gutes Mass, um vergleichende Aussagen über die momentane Nitrogenaseaktivität zu machen und weniger dazu geeignet, die BNF quantitativ zu erfassen. Mit der  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik ist es möglich, die Herkunft des in der Pflanze bestimmten Stickstoffs festzustellen, zu bestimmen, welcher Anteil des Stickstoffs aus der Luft fixiert wurde. Diese Methode erlaubt es, quantitative Aussagen über die  $\text{N}_2$ -Fixierungsleistung einer Pflanze zu machen. Das Prinzip der  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik beruht darauf, dass die natürlicherweise überall vorhandene  $^{15}\text{N}$ -Konzentration von 0,3663% in der Pflanzen-Nährlösung um einen bestimmten Betrag angereichert wird. Anhand des  $^{15}\text{N}$ -Atom%-Überschusses im Pflanzenmaterial kann berechnet werden, wie gross der Anteil des BNF-Stickstoffs am gesamten Stickstoff ist, denn durch die Fixierung von Luftstickstoff wird der  $^{15}\text{N}$ -Isotopenüberschuss im Pflanzengewebe gegenüber demjenigen in der Nährlösung "verdünnt". Die Bestimmung des  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ -Verhältnisses muss in einem Massenspektrometer vorgenommen werden, wozu eine aufwendige Probenvorbereitung notwendig ist.

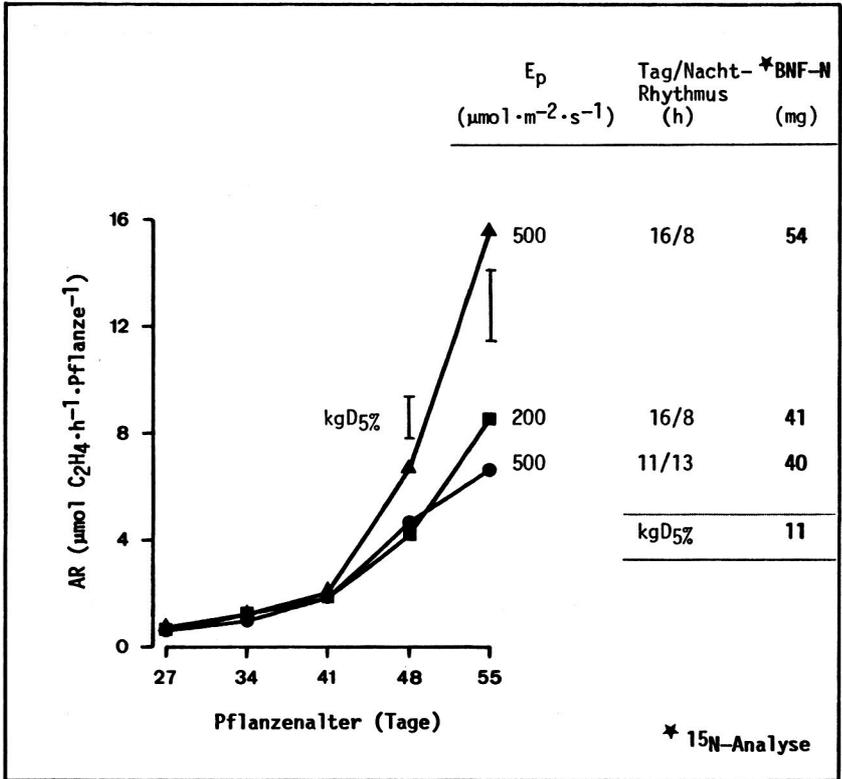
In den Versuchen zu dieser Arbeit wurden zum Teil beide Methoden angewandt, um mit der Kombination ihrer Vor- und Nachteile und ihrer Aussagen ein Maximum an Information über die BNF der Pflanzen während der ganzen Versuchsperiode zu erhalten. Mit Hilfe der  $^{15}\text{N}$ -Analyse wurde im Pflanzenmaterial der Schlussernte bestimmt, wieviel Stickstoff aus der Luft fixiert worden war. Mit wöchentlich erhobenen Acetylenreduktionsraten wurde der Verlauf der BNF festgestellt.

In diesem Kapitel werden Verläufe von Acetylenreduktionsraten mit Ergebnissen aus  $^{15}\text{N}$ -Analysen verglichen. Die Resultate stammen aus dem auf der Seite 5 ff. beschriebenen Versuch II, in dem die Photonen-Bestrahlungsstärke und die Tageslänge variierten und dem Versuch I auf Seite 32 ff., wo die Luft- und die Bodentemperaturen unterschiedlich waren. Der Vergleich der Methoden zeigt, dass der Acetylenreduktionstest in geschlossenen Inkubationsgefäßen, angewandt an Weisskleepflanzen bei unterschiedlichen Bodentemperaturen, Resultate liefert, welche mit denjenigen der quantitativen Bestimmung der BNF ( $^{15}\text{N}$ -Analyse) nicht übereinstimmen.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

Das Pflanzenmaterial und die Wachstumsbedingungen der beiden dargestellten Versuche wurden auf Seite 5 ff. und 32 ff. beschrieben. Das gleiche gilt für die Acetylenreduktionsmethode (Seite 7) und die  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik (Seite 33). In den Temperaturversuchen wurde die Acetylenreduktionsmethode gegenüber der Beschreibung auf Seite 7 modifiziert. Die Inkubationszeit wurde von 30 auf 10 min reduziert. Die Probenahme zur Bestimmung der Aethylenkonzentration erfolgte nach 2 und 10 min. Die Acetylenreduktionsrate wurde aus der Differenz der beiden Messungen ermittelt.

## 3. RESULTATE UND DISKUSSION

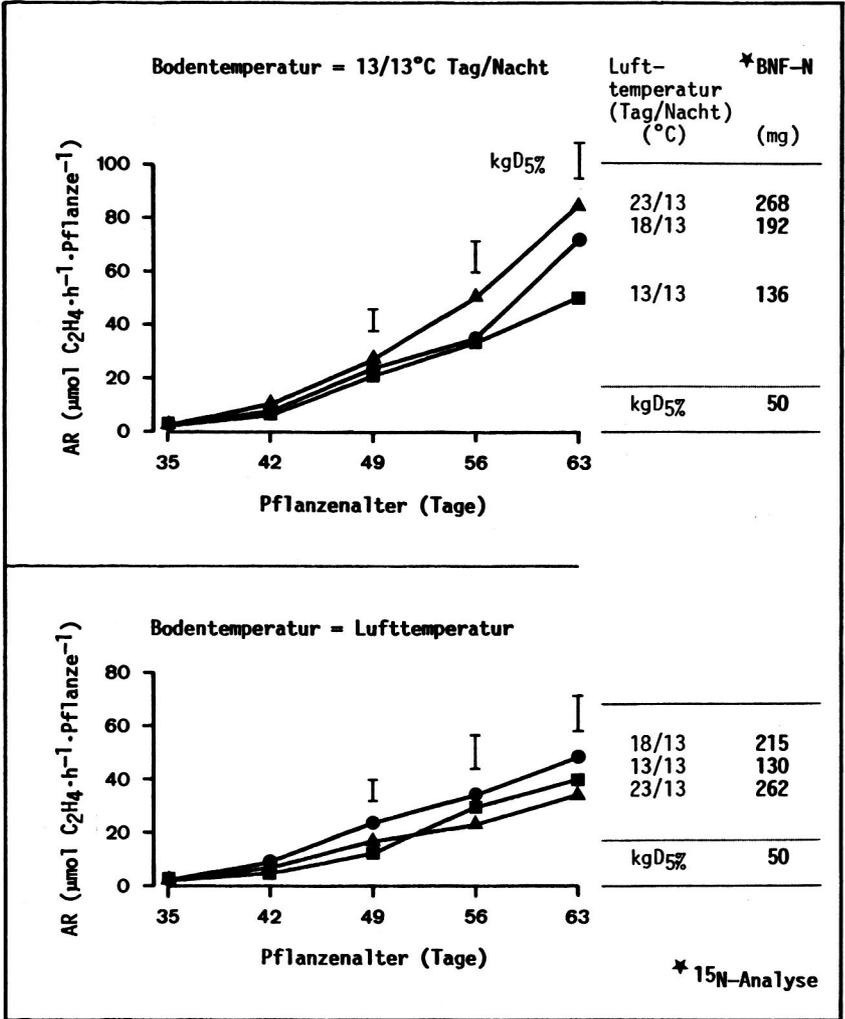


**Abbildung 1:** Verlauf der Acetylenreduktionsaktivität (AR) bei Weissklee-pflanzen zwischen dem 27. und 55. Wachstumstag und Menge des während dieser Zeit aus der Luft fixierten Stickstoffs: Vergleichbarkeit der Resultate bei unterschiedlichen Photonen-Bestrahlungsstärken ( $E_p$ ) und Tageslängen und einheitlichen Bodentemperaturen von 13/13°C Tag/Nacht

Die in Abbildung 1 dargestellten Resultate stammen aus dem auf Seite 5 ff. beschriebenen Versuch II. Für die drei Lichtverfahren sind die Verläufe der Acetylenreduktionsraten zwischen dem 27. und dem 55. Tag dargestellt. Unterschiede zwischen den Verfahren waren erst nach dem 41. Tag festzustellen. Die Pflanzen bei  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und einem Tag/Nacht-Rhythmus von 16/8 h hatten am 48. und 55. Tag eine signifikant höhere Acetylenreduktionsrate. Die Raten der Pflanzen bei  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (16 h) und  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (11 h) unterschieden sich nicht. Im Verfahren, in welchem die Pflanzen die höchsten Acetylenreduktionsraten aufwiesen, wurde übereinstimmend eine signifikant grössere Menge BNF-Stickstoff gefunden.

Unter der Annahme, dass sich die Nitrogenaseaktivität während eines Tag/Nacht-Zyklus nicht veränderte (Seite 22), müssten sich die Flächen unter den Kurven der Acetylenreduktionsraten gleich zueinander verhalten wie die am Schluss des Versuches bestimmten Mengen an BNF-Stickstoff. In diesem Punkt stimmten die beiden Methoden überein. Bei einheitlichen Bodentemperaturen von  $13^{\circ}\text{C}$  und unterschiedlichen Lichtbedingungen war es möglich, mit Resultaten der Acetylenreduktionsmethode den Verlauf der BNF korrekt zu beschreiben und die Verfahrensunterschiede zu erkennen.

In Abbildung 2 sind die Daten aus dem Temperaturversuch (Versuch I, Seite 32 ff.) dargestellt. Die beiden Graphiken enthalten je drei Kurven der Acetylenreduktionsraten zwischen dem 35. und dem 63. Tag und die im entsprechenden Verfahren festgestellte Menge BNF-Stickstoff. Aus den Resultaten der  $^{15}\text{N}$ -Analyse ging hervor, dass eine Zunahme der Lufttemperatur die BNF pro Pflanze signifikant steigerte. Die Bodentemperatur von  $13/13^{\circ}\text{C}$  (Tag/Nacht) wirkte sich bei keiner Lufttemperatur auf die Mengen an BNF-Stickstoff aus. Die Kurvenverläufe der Acetylenreduktionsraten widersprachen den Resultaten aus der  $^{15}\text{N}$ -Analyse dann, wenn die Temperatur im Wurzelmedium über  $13/13^{\circ}\text{C}$  lag. In den Verfahren, in denen die Wurzeltemperatur auf  $13/13^{\circ}\text{C}$  (Tag/Nacht) gehalten wurde, entsprachen die Flächen unter den Kurven den dazugehörigen Mengen BNF-Stickstoff. In den Verfahren, in denen die Bodentemperatur der Lufttemperatur gleich war, wurden Acetylenreduktionsraten gemessen, die in keiner Weise mit denjenigen bei  $13/13^{\circ}\text{C}$  Bodentemperatur übereinstimmten. Die Pflanzen bei  $23/13^{\circ}\text{C}$ , die doppelt soviel Stickstoff fixiert hatten wie diejenigen bei  $13/13^{\circ}\text{C}$ , erreichten während



**Abbildung 2:** Verlauf der Acetylenreduktionsaktivität (AR) bei Weissklee-pflanzen zwischen dem 35. und 63. Wachstumstag und Menge des während dieser Zeit aus der Luft fixierten Stickstoffs: Vergleichbarkeit der Resultate bei unterschiedlichen Luft- und Bodentemperaturen

der ganzen Versuchsperiode nie höhere Acetylenreduktionsraten. Die scheinbar höchste BNF-Aktivität wurde bei 18/13°C festgestellt, wo die Acetylenreduktionsaktivität bei der Schlussernte signifikant höher war als bei 23/13°C. Bei Bodentemperaturen über 13/13°C wurde die BNF von Weissklee-pflanzen durch die Acetylenreduktionsmethode unterbewertet, dies umso stärker, je höher die Temperaturen im Wurzelmedium waren.

Die Zuverlässigkeit des traditionellen Acetylenreduktionstests in geschlossenen Inkubationsgefäßen zur Bestimmung der N<sub>2</sub>-Fixierung von Leguminosen wurde von Minchin et al. (1983) angezweifelt, nachdem man festgestellt hatte, dass die Nitrogenaseaktivität in Gegenwart von Acetylen bereits nach wenigen Minuten abnahm, gekoppelt mit einer Reduktion der Wurzelatmung. Diese sogenannte acetyleninduzierte Hemmung der Nitrogenase wurde schon von Masterson und Murphy (1976) mit einem Faktor von 1.17 berücksichtigt. Die Acetylenreduktionsaktivität stimmte mit zunehmendem Pflanzenalter immer schlechter mit der pro Pflanze fixierten N-Menge überein. Laut Minchin et al. (1986) wirken sich vor allem Störfaktoren wie Schütteln und Wegschneiden der Wurzeln negativ auf die Acetylenreduktionsrate aus. Schütteln allein hatte einen negativeren Effekt auf die Nitrogenaseaktivität als das Abtrennen der Wurzel vom Spross. Die Wirkung der Störungen war stärker bei 25°C als bei 15°C Wachstumstemperatur. Je nachdem, ob intakte oder ausgegrabene Pflanzen für die Messungen verwendet wurden, kam man zu unterschiedlichen Resultaten. Bei intakten Systemen war die Aktivität bei der tieferen Temperatur kleiner als bei der hohen, aber bei abgeschnittenen und geschüttelten Wurzeln trat die tiefere Aktivität bei der höheren Temperatur auf. Eine ähnliche Umkehr der tatsächlichen Verhältnisse wurde bei unterschiedlichen Bodentemperaturen über 13°C beobachtet. Da das Wachstum der Weisskleepflanzen nicht auf unterschiedliche Bodentemperaturen reagierte (Tabelle 3, Seite 38), wurde bestätigt, dass die <sup>15</sup>N-Analyse zuverlässigere Resultate für die Beurteilung der BNF geliefert hatte.

Der Acetylenreduktionstest zur Messung der Nitrogenaseaktivität kann bei Pflanzen bei unterschiedlichen Bodentemperaturen, insbesondere bei Bodentemperaturen über 13°C, zu Resultaten führen, die nicht ihrer wirklichen N<sub>2</sub>-Fixierungsleistung entsprechen. Bei höheren Temperaturen wurde die BNF unterbewertet, wenn die nodulierten Wurzeln während 10 min in ge-

geschlossenen Gefäßen inkubiert wurden. Bei dieser Wirkung könnten Störungen wie Abschneiden und Schütteln eine Rolle spielen. Die in den Lichtversuchen (Kapitel II) bei 13/13°C Bodentemperatur gemessenen Acetylenreduktionsaktivitäten gaben ein zuverlässiges Bild von der tatsächlichen BNF der Pflanzen.

#### 4. ZUSAMMENFASSUNG

Bei nodulierten Weisskleeplflanzen in Wachstumskammern wurde die biologische Stickstoff-Fixierung (BNF) sowohl mit der Acetylenreduktionsmethode als auch mit der  $^{15}\text{N}$ -Isotopenverdünnungstechnik gemessen. Durch periodische Messungen wurden Verläufe der Acetylenreduktionsaktivität aufgezeichnet. Diese wurden mit der durch die  $^{15}\text{N}$ -Analyse bestimmten Mengen BNF-Stickstoff verglichen, die bis zum Zeitpunkt der Schlusserte im Pflanzenmaterial angereichert worden waren. Die Pflanzen wuchsen bei einheitlichen Bodentemperaturen (13/13°C Tag/Nacht) mit unterschiedlichen Lichtbedingungen (200, 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 16/8, 11/13 h Tag/Nacht) und bei unterschiedlichen Temperaturen (Luft: 13/13, 18/13, 23/13°C Tag/Nacht, 16/8 h; Boden: 13/13°C, Bodentemperatur=Lufttemperatur) mit einheitlichen Lichtbedingungen (500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 16/8 h Tag/Nacht).

Bei unterschiedlichen Lichtbedingungen verhielten sich die Flächen, gebildet durch die Kurven der Acetylenreduktionsaktivität pro Pflanze in Abhängigkeit des Pflanzenalters, gleich zueinander, wie die am Ende der Messperiode gefundenen Mengen BNF-Stickstoff pro Pflanze. Bei unterschiedlichen Temperaturbedingungen wurde diese Übereinstimmung nur bei einheitlichen Bodentemperaturen von 13/13°C (Tag/Nacht) festgestellt. Bei Bodentemperaturen über 13°C verlief die Acetylenreduktionsaktivität derjenigen Pflanzen mit der grössten Menge BNF-Stickstoff auf dem tiefsten Niveau, und wo unter dem Einfluss einer höheren Lufttemperatur die Menge an BNF-Stickstoff pro Pflanze verdoppelt wurde, unterschieden sich die Raten der Acetylenreduktion zu keinem Zeitpunkt der Messperiode.

Der Acetylenreduktionstest zur Messung der Nitrogenaseaktivität kann bei Pflanzen bei unterschiedlichen Bodentemperaturen, insbesondere bei Bodentemperaturen über 13°C, zu Resultaten führen, die nicht ihrer wirklichen  $\text{N}_2$ -Fixierungsleistung entsprechen. Bei höheren Temperaturen wurde die BNF durch den Acetylenreduktionstest unterbewertet.

## V. Zusammenfassung

---

Für das Weisskleewachstum sind das Lichtangebot und die Temperatur von grosser Bedeutung. Unter kontrollierten Bedingungen wurde bei zwei Stufen der Nitraternährung (1.0 und 7.5 mM) untersucht, ob die Abhängigkeit der biologischen Stickstoff-Fixierung (BNF) von diesen Faktoren bei der Beeinflussung des Weisskleewachstums eine Rolle spielt.

In einer ersten Serie von Versuchen mit nodulierten Weisskleepflanzen wurde die Photonen-Bestrahlungsstärke ( $E_p$ ;  $100-500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und die Tageslänge (11, 16 h) bei konstanten Luft- und Bodentemperaturen variiert. Höhere  $E_p$  steigerten den Trockensubstanzertrag pro Pflanze und gleichzeitig den Anteil der Wurzel- und Knöllchentrockenmasse. Die Nitrogenaseaktivität ( $\text{C}_2\text{H}_2$ -Reduktion) war eng korreliert mit der Trockenmasse der nodulierten Wurzeln, so dass die BNF-Aktivität pro Pflanze bei höheren  $E_p$  nur über die Ausdehnung der nodulierten Wurzel gesteigert werden konnte. Bei Lichtmangel ( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 16 h) und bei Kurztag (11 h) wurde die BNF-Kapazität der nodulierten Wurzel als Folge einer Anpassung an einen geringeren N-Bedarf reduziert.

In einer zweiten Serie von Versuchen mit konstanten  $E_p$  variierten einerseits die Luft- und Bodentemperaturen in einem mittleren Bereich ( $13/13 - 23/13^\circ\text{C}$  Tag/Nacht) und andererseits die Bodentemperaturen in einem tieferen Bereich ( $5, 15^\circ\text{C}$  konstant). Steigende Lufttemperaturen begünstigten die Trockensubstanzbildung und parallel dazu die Stickstoffträge pro Pflanze. Die Bodentemperatur wirkte sich im mittleren Bereich weder auf das Wachstum noch auf die Stickstoffakkumulation noch auf die BNF ( $^{15}\text{N}$ -Analyse) aus. Mit Hilfe der spezifischen Stickstoff-Absorptionsrate wurde gezeigt, dass die Lufttemperatur für die BNF-Aktivität pro Pflanze von grosser Bedeutung war. Diese konnte wiederum nur durch das Wachstum der nodulierten Wurzel gefördert werden. Bei tiefen Bodentemperaturen wurde neben einer Reduktion der Trockensubstanzerträge eine stärkere Reduktion der N-Erträge und eine Abnahme des BNF-Anteils am Gesamt-N pro Pflanze festgestellt. Mögliche Ursachen dafür wurden diskutiert.

Bei stärkerer Abhängigkeit von der BNF ( $1.0 \text{ mM NO}_3^-$ ) konnten die Pflanzen ihr Wachstumspotential nicht voll ausnutzen. Die Beeinträchtigung gegenüber Pflanzen mit einem höheren Nitratangebot ( $7.5 \text{ mM}$ ) nahm mit steigenden  $E_p$  und Lufttemperaturen ab und war zeitlich begrenzt.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die BNF bei der Beeinflussung des Weisskleewachstums durch das Lichtangebot und die Temperatur eine untergeordnete Rolle spielt. Bei einer erhöhten Abhängigkeit von der BNF dürfte sich eine allfällige stärkere Beeinträchtigung des Wachstums durch diese Umweltfaktoren auf die Zeit der Jugendentwicklung beschränken. Es ist unwahrscheinlich, dass die BNF für die jahreszeitlichen Schwankungen des Weissklee-Ertragsanteils in gemischten Pflanzenbeständen verantwortlich ist. Alle Massnahmen, die dem Weissklee zu besseren Lichtbedingungen verhelfen, fördern seinen Beitrag zur Stickstoffversorgung von Wiesen und Weiden.

## Summary

---

Light and temperature are two major factors determining the growth of white clover. The extent to which clover growth is influenced by the response of biological nitrogen fixation (BNF) to the two factors was assessed in growth chambers at two levels of nitrate fertilization (1.0 and 7.5 mM).

In a first set of experiments with nodulated white clover plants different regimes of photon irradiance ( $E_p$ ) levels ( $100\text{--}500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) and daylengths (11, 16 h) were maintained at constant air and soil temperatures. Plant dry matter production, as well as root and nodule weight ratios, increased at higher  $E_p$  levels. Whole-root nitrogenase activity (acetylene reduction) was closely correlated with root dry weight. Increased root mass thus accounted for the higher BNF activity per plant at the higher  $E_p$  levels. Under low light ( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 16 h) or short day (11 h) conditions the BNF capacity of the roots was reduced in accordance with the decreased nitrogen demand of the plant.

In a second set of experiments plants were grown under constant light conditions at air and soil temperatures in a medium range ( $13/13^\circ\text{C}$ – $23/13^\circ\text{C}$  day/night) as well as at soil temperatures in a low range ( $5, 15^\circ\text{C}$  constant). Higher air temperatures favoured dry matter production and along with it also nitrogen yield per plant. Soil temperature in the medium range had neither an effect on growth and nitrogen accumulation nor on BNF ( $^{15}\text{N}$  analysis). Based on the calculation of specific absorption rates for nitrogen, air temperature was shown to be of great importance for the BNF activity per plant. Higher BNF activity was again solely attained through increased root growth. At low soil temperatures not only was a reduction in dry matter production observed, but also an even greater reduction in nitrogen yield and a decrease in the proportion of nitrogen derived from the atmosphere. Possible causes for this were discussed.

The more the plants were dependent on BNF for their nitrogen supply, the less they were able to fully utilize their growth potential. The differences between these plants and those grown at a higher level of nitrate fertilization (7.5 mM) were not only limited in time but also decreased as  $E_p$  levels and air temperatures increased.

This study shows that BNF plays a secondary role in determining the extent to which white clover growth is influenced by light and temperature. Any greater impairment of growth under increased dependence on BNF may be limited to the early stages of development. It is improbable that BNF is responsible for the seasonal fluctuations in the proportion of white clover in the yield of mixed swards. All measures leading to improved light conditions for white clover enhance its contribution to the nitrogen supply of meadows and pastures.

VI. Literaturverzeichnis

---

- Arnott, R.A., 1984. An analysis of the uninterrupted growth of white clover swards receiving either biologically fixed nitrogen or nitrate in solution. *Grass and Forage Science*, 39, 305-310.
- Boller, B.C. and Nösberger, J., 1983. Effects of temperature and photoperiod on stolon characteristics, dry matter partitioning, and non-structural carbohydrate concentration of two white clover ecotypes. *Crop Science*, 23, 1057-1062.
- Boller, B.C. and Nösberger, J., 1987. Symbiotically fixed nitrogen from field-grown white and red clover mixed with ryegrasses at low levels of  $^{15}\text{N}$ -fertilization. *Plant and Soil*, im Druck.
- Bremner, J.M., 1965. Total nitrogen. In C.A. Black et al. (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 2*, pp. 1149-1178. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wis.
- Bucher, H., 1981. Einfluss des Wasserhaushaltes auf das Wachstum von Trifolium repens L.. Diplomarbeit Institut für Pflanzenwissenschaften ETH Zürich (unveröffentlicht).
- Carroll, B.J. and Gresshoff, P.M., 1983. Nitrate inhibition of nodulation and nitrogen fixation in white clover. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 110, 77-88.
- Cralle, H.T. and Heichel, G.H., 1982. Temperature and chilling sensitivity of nodule nitrogenase activity of unhardened alfalfa. *Crop Science*, 22, 300-304.
- Davidson, I.A. and Robson, M.J., 1986. Effect of contrasting patterns of nitrate application on the nitrate uptake,  $\text{N}_2$  fixation, nodulation and growth of white clover. *Annals of Botany*, 57, 331-338.

- Frey, F.W., 1978. Einfluss konstanter und wechselnder Strahlungsintensitäten auf die Ertragsbildung und den Gehalt an nichtstrukturbildenden Kohlehydraten und Rohprotein bei Trifolium pratense L.. Diss. ETH 6189.
- Fyson, A. and Sprent, J.I., 1982. The development of primary root nodules on Vicia faba L. grown at two temperatures. *Annals of Botany*, 50, 681-692.
- Gibson, A.H., 1963. Physical environment and symbiotic nitrogen fixation: I. The effect of root temperature on recently nodulated Trifolium subterraneum L. plants. *Australian Journal of Biological Science*, 16, 28-42.
- Gibson, A.H., 1966. Physical environment and symbiotic nitrogen fixation: III. Root temperature effects on shoot and root development and nitrogen distribution in Trifolium subterraneum L.. *Australian Journal of Biological Science*, 19, 219-232.
- Gibson, A.H., 1969. Physical environment and symbiotic nitrogen fixation: VI. Nitrogen retention within the nodules of Trifolium subterraneum L.. *Australian Journal of Biological Science*, 22, 829-838.
- Gibson, A.H., 1977. The influence of the environment and managerial practices on the legume-Rhizobium symbiosis. In *A Treatise on Dinitrogen Fixation, Section IV, Agronomy and Ecology*. Eds. R.W.F. Hardy and A.H. Gibson, p. 393. John Wiley, New York.
- Hammer, P.A., Tibbits, T.W., Langhans, R.W. and McFarlane, J.C., 1978. Base-line growth studies of 'Grand Rapids' lettuce in controlled environment. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 103, 649-655.
- Harding, S.C. and Sheehy, J.E., 1980. Influence of shoot and root temperature on leaf growth, photosynthesis and nitrogen fixation of Lucerne. *Annals of Botany*, 45, 229-233.

- Hardy, R.W.F. and Havelka, U.D., 1976. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*, Ed. P.S. Nutman, Cambridge University Press, pp. 421-439.
- Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K. and Burns, R.C., 1968. The acetylene-ethylene assay for  $N_2$  fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology*, 43, 1185-1207.
- Hartwig, U., Boller, B. and Nösberger, J., 1987. Oxygen supply limits nitrogenase activity of clover nodules after defoliation. *Annals of Botany*, 59, 285-291.
- Haystead, A., King, J. and Lamb, W.I.C., 1979. Photosynthesis, respiration and nitrogen fixation in white clover. *Grass and Forage Science*, 34, 125-130.
- Haystead, A., King, J., Lamb, W.I.C. and Marriott, C., 1980. Growth and carbon economy of nodulated white clover in the presence and absence of combined nitrogen. *Grass and Forage Science*, 35, 123-128.
- Hofer, U.A., 1986. Photosynthese, Aktivität von Ribulose Bisphosphat Carboxylase und Verwendung von Assimilaten in Abhängigkeit von Lichtintensität, Alter und Position der Blätter von Rotklee (Trifolium pratense L.). Diss. ETH 7949.
- Hunt, R. and Parsons, I.T., 1974. A computer program for deriving growth-functions in plant growth-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 11, 297-307.
- Hunt, R., 1982. *Plant growth curves, the functional approach to plant growth analysis*. Edward Arnold, London, 248 p.
- Jelmini, G., 1976. Einfluss der Temperatur und der Lichtintensität auf die Ertragsbildung und die Inhaltsstoffe von Festuca pratensis Huds., Lolium multiflorum Lam., Trifolium pratense L. und Trifolium repens L.. Diss. ETH 5697.

- Jelmini, G. und Nösberger, J., 1978. Einfluss der Lichtintensität auf die Ertragsbildung und den Gehalt an nichtstrukturbildenden Kohlehydraten und Stickstoff von Festuca pratensis Huds., Lolium multiflorum Lam., Trifolium pratense L. und Trifolium repens L.. Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau, 146, 154-163.
- Layzell, D.B., Rochman, P. and Canvin, D.T., 1984. Low root temperatures and nitrogenase activity in soybean. Canadian Journal of Botany, 62, 965-971.
- Lie, T.A., 1981. Environmental physiology of the legume-Rhizobium symbiosis. In Nitrogen Fixation, Volume 1: Ecology. Ed. W.J. Broughton. Clarendon Press, Oxford. pp. 104-134.
- Lindström, K., 1984. Analysis of factors affecting in situ nitrogenase ( $C_2H_2$ ) activity of Galega orientalis, Trifolium pratense and Medicago sativa in temperate conditions. Plant and Soil, 79, 329-341.
- Maag, H.P. and Nösberger, J., 1980. Development of nodulating Trifolium pratense L. as affected by nitrogen nutrition. Angewandte Botanik, 54, 179-186.
- Martensson, A.M. and Ljunggren, H.D., 1984. Nitrogen fixation in an establishing alfalfa (Medicago sativa L.) ley in Sweden, estimated by three different methods. Applied and Environmental Microbiology, 48, 702-707.
- Masterson, C.L. and Murphy, P.M., 1976. Application of the acetylene reduction technique to the study of nitrogen fixation by white clover in the field. In Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants. Ed. P.S. Nutman. Cambridge University Press, London. pp. 299-316.
- Masterson, C.L. and Sherwood, M.T., 1978. Some effects of increased atmospheric carbon dioxide on white clover (Trifolium repens) and pea (Pisum sativum). Plant and Soil, 49, 421-426.

- McAuliffe, C., Chamblee, D.S., Uribe-Arango, H. and Woodhouse, W.W.jr., 1958. Influence of organic nitrogen on nitrogen fixation by legumes as revealed by  $N^{15}$ . *Agronomy Journal*, 50, 334-337.
- Minchin, F.R., Miguez, M.I., Sheehy, J.E., Witty J.F. and Skot, L., 1986. Relationships between nitrate and oxygen supply in symbiotic nitrogen fixation by white clover. *Journal of Experimental Botany*, 37, 1103-1113.
- Minchin, F.R., Sheehy, J.E. and Witty, J.F., 1986. Further errors in the acetylene reduction assay: effects of plant disturbance. *Journal of Experimental Botany*, 37, 1581-1591.
- Minchin, F.R., Witty, J.F., Sheehy, J.E. and Müller, M., 1983. A major error in the acetylene reduction assay: decreases in nodular nitrogenase activity under assay conditions. *Journal of Experimental Botany*, 34, 641-649.
- Mulder, E.G., Lie, T.A. and Houwers, A., 1977. The importance of legumes under temperate conditions. In *A Treatise on Dinitrogen Fixation*. Eds. R.W.F. Hardy and A.H. Gibson. Section IV, pp 221-242. John Wiley, New York.
- Murphy, P.M., 1986. Effects of light and atmospheric carbon dioxide concentration on nitrogen fixation by herbage legumes. *Plant and Soil*, 95, 399-409.
- Phillips, D.A., Newel, K.D., Hassell, S.A. and Felling, C.E., 1976. The effect of  $CO_2$  enrichment on root nodule development and symbiotic  $N_2$  reduction in *Pisum sativum* L.. *American Journal of Botany*, 63, 399-409.
- Rougley, R.J. and Dart, P.J., 1969. Reduction of acetylene by nodules of *Trifolium subterraneum* as affected by root temperature, *Rhizobium* strain and host cultivar. *Archiv für Mikrobiologie*, 69, 171-179.

- Roughley, R.J. and Dart, P.J., 1970. Growth of Trifolium subterraneum L. selected for sparse and abundant nodulation as affected by root temperature and Rhizobium strain. *Journal of Experimental Botany*, 21, 776-786.
- Roughley, R.J. and Date, R.A., 1986. The effect of strain of Rhizobium and of temperature on nodulation and early growth of Trifolium semipilosum. *Experimental Agriculture*, 22, 123-131.
- Rüegg, J.J., 1976. Der Einfluss konstanter und wechselnder Temperaturen auf die Ertragsbildung und ausgewählte Inhaltsstoffe bei Wiesen-schwingel (Festuca pratensis Huds.). Diss. ETH 5840.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon, A.J., 1978. Effect of source of nitrogen on the growth of Fiskeby soya bean: the carbon economy of whole plants. *Annals of Botany*, 42, 637-648.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon, A.J., 1979. The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea, and white clover. *Journal of Experimental Botany*, 30, 145-153.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon, A.J., 1981. Assimilate partitioning in red and white clover either dependent on N<sub>2</sub> fixation in root nodules or utilizing nitrate nitrogen. *Annals of Botany*, 47, 515-523.
- Scheidegger, U.C., 1983. Bildung und Verwendung der Photosyntheseprodukte bei Oekotypen von Weissklee (Trifolium repens L.). Diss. ETH 7266.
- Silisbury, J.H., Catchpole, D.W. and Wallace, W., 1986. Effects of nitrate and ammonium on nitrogenase (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) activity of swards of subterranean clover, Trifolium subterraneum L.. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 257-273.
- Sprinson, D.B. and Rittenberg, D., 1949. The rate of utilization of ammonia for protein synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 180, 707-714.

- Vincent, J.M., 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook No. 15. Blackwell Scientific Publications Oxford.
- von der Crone, A.B., 1987. Beziehungen zwischen der biologischen Stickstoff-Fixierung und der Entwicklung von Rot- und Weissklee. Diplomarbeit Institut für Pflanzenwissenschaften ETH Zürich (unveröffentlicht).
- Walsh, K.B. and Layzell, D.B., 1986. Carbon and nitrogen assimilation and partitioning in soybeans exposed to low root temperatures. *Plant Physiology*, 80, 249-255.
- Wedderburn, M.E., 1983. The effect of source, concentration and time of application of nitrogen on the growth, nodulation and nitrogen fixation of Lotus pedunculatus and Trifolium repens. *Plant and Soil*, 74, 83-91.
- Wery, J.F., Turc, O. and Salsac, L., 1986. Relationship between growth, nitrogen fixation and assimilation in a legume (Medicago sativa L.). *Plant and Soil*, 96, 17-29.
- Woledge, J. and Dennis, W.D., 1982. The effect of temperature on photosynthesis of ryegrass and white clover leaves. *Annals of Botany*, 50, 25-35.

## Verdankungen

---

Mein herzlicher Dank gilt in erster Linie Herrn Nösberger. Er hat mir ein faszinierendes Forschungsgebiet zugewiesen, in welchem ich dank seiner Unterstützung weiterhin tätig sein darf. Die Arbeit während den letzten vier Jahren, in einer Umgebung, die in mancher Hinsicht einmalig war, befriedigte mich sehr. Herr Nösberger verstand es, mir in Diskussionen und Besprechungen das richtige Mass an Kritik und Vertrauen gegenüber Versuchsergebnissen zu vermitteln und ermöglichte mir im Rahmen des Unterrichtes eine vielseitige Ausbildung.

Herrn Hennecke danke ich herzlich für die Uebernahme des Korreferates und die Unterstützung bei der Planung meiner näheren Zukunft. Herr Hennecke stellte uns ein grosses Sortiment von Knöllchenbakterien-Stämmen zur Verfügung und stand uns bei der Auswahl des späteren Versuchsstammes mit Rat zur Seite. Danken möchte ich auch Matthias Hahn vom Mikrobiologischen Institut für die wertvolle Hilfe bei der Reisolation und der Identifikation von Knöllchenbakterien.

Beat Boller war mein fachlicher Betreuer. Dank seinem grossen Wissen und seiner reichen Erfahrung konnte er mir bei der Planung und Durchführung der Versuche viele nützliche Tips geben und bei der Auswertung des umfangreichen Datenmaterials helfen, das Wesentliche zu erkennen. In Situationen der Ratlosigkeit war Beat nie um einen Lösungsvorschlag verlegen. Vielen Dank.

Frau Allenbach danke ich herzlich für die stets sorgfältige Pflege meiner Versuchspflanzen und für die exakte und speditive Arbeit bei den aufwendigen Ernten (Rekordstolonlänge pro Pflanze: 21.76 m). Allen Kolleginnen und Kollegen, die mir bei den anfallenden Arbeiten - auch nachts - tatkräftig beistanden, sei an dieser Stelle gedankt. Judith Köppl und Peter Ulrich verbrachten viele Tage am GC bei nahezu 30°C Raumtemperatur und trugen mit dem speziell für die BNF-Projekte ins Leben gerufenen Stickstoff-Tourismus nach Würenlingen massgeblich zu den Resultaten dieser Arbeit bei. Den Herren Gägger und Antonsen vom EIR Würenlingen danke ich für die gute Zusammenarbeit und dafür, dass wir den Massenspektrometer benutzen durften.

Meiner Frau Lisa und meiner Tochter Aline danke ich für ihr geduldiges Ausharren während den Monaten vor dem Abschluss dieser Arbeit. Ich hoffe, dass sie sich wieder daran gewöhnen können, einen Mann bzw. Vater zu haben.

Diese Arbeit wurde finanziert vom Nationalen Energie-Forschungs-Fonds (NEFF).

## LEBENS LAUF

---

9. Juli 1956      Geboren in Henau SG, Sohn des Willy Kessler und der  
Ida Kessler, geborene Schär
- 1963 - 1972      Primar- und Sekundarschule in Mettmenstetten
- 1972 - 1976      Mathematisch-Naturwissenschaftliches Gymnasium  
Rämibühl, Zürich; Abschluss mit Matura Typus C
- 1976 - 1981      Studium an der Abteilung VII für Landwirtschaft an der  
ETH Zürich
- 1981              Diplom als Ing. Agr. ETH, Fachrichtung Pflanzenbau
- 1983              Nachdiplompraktikum an der Eidg. Forschungsanstalt für  
Landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Zürich Reckenholz
- Seit 1983        Assistent und wissenschaftlicher Mitarbeiter am  
Institut für Pflanzenwissenschaften der ETH Zürich
- Seit 1985        verheiratet mit Elisabeth geb. Grob  
1 Kind