
¹⁵N-Tracertechnik in der Pflanzenbauforschung

Heinz Peschke

Vortrag anlässlich der Verleihungszeremonie des Titels „Honoris Causa“ der Universität Debrecen (Debrecen, 28. Oktober 1999.)

ZUSAMMENFASSUNG

In der Pflanzenbauwissenschaft hat die Stickstoffproblematik eine besondere Bedeutung. Die Verwendung von ¹⁵N-Tracern dient zur Klärung des N-Umsatzes im Boden sowie des N-Transfers Boden – Pflanze und hilft bei der Lösung von Düngungsfragen.

Es wird auf die speziellen Voraussetzungen für den Einsatz des ¹⁵N-Stabilisotops in der agrikulturchemischen Forschung hingewiesen. Im einzelnen werden Versuchsansätze und -ergebnisse von ausgewählten Laborexperimenten, Beispiele von einjährigen Freilandversuchen und von Versuchsanstellungen als ¹⁵N-Langzeitexperimente dargestellt. Die Literatur verweist auf die detaillierten Resultate vielschichtiger ¹⁵N-Arbeiten im System Boden – Dünger – (Tier) – Pflanze.

SUMMARY

¹⁵N-tracer technique in crop sciences research

Issues of nitrogen are still of particular importance in crop sciences. ¹⁵N-tracer are used to identify the N dynamics in soils and the N transfer between soil and plant. This tool is also helpful in clarifying fertilization problems.

This article points out the special requirements for the application of stable ¹⁵N-isotops in agri-chemical research. Designs and results of selected laboratory experiments, examples of one-year field experiments, and a ¹⁵N long-term trial are represented in detail. The given literature refers to detailed results of diverse ¹⁵N publications in the system soil – fertilizer – (animal) – crop.

EINFÜHRUNG

Im agrarwissenschaftlichen Bereich nimmt die Stickstoffforschung einen breiten Rahmen ein. Seit vielen Jahren befassen sich Bodenkunde, Pflanzenphysiologie, Pflanzenernährung, Acker- und Pflanzenbau, Tierphysiologie und Tierernährung intensiv mit Aspekten des Stickstoffhaushaltes in Boden, Pflanze und Tier.

In der Pflanzenbauwissenschaft stehen Fragen zum N-Umsatz im Boden und zum Transfer Boden – Pflanze sowie Probleme der Düngung im Vordergrund des Interesses. Der Einsatz des Stabilisotop ¹⁵N stellt zwar spezielle Anforderungen an das Experiment, jedoch lassen sich detaillierte Erkenntnisse gewinnen.

VORAUSSETZUNGEN

Aufgrund der Besonderheiten bei der Verwendung von ¹⁵N-Tracern kommt der Versuchsplanung eine besondere Bedeutung zu. Bei den ¹⁵N-angereicherten Handelspräparaten ist die Stickstoffform, die Platzierung der Anreicherung bei

Doppelformen und die relative ¹⁵N-Häufigkeit vorab zu bestimmen. Finanziell erheblich ist die Preisprogression bei steigendem ¹⁵N-Anteil (*Tabelle 1*). Andere ¹⁵N-Tracer müssen vom Versuchsansteller selbst hergestellt werden.

Die Markierung organischer Dünger (Stroh, Gründung, Kompost, Gülle, Stallmist u.ä.) erfordert planmäßige Vorarbeiten. Während beispielsweise für Stroh und Grünmasse eine Sekundärnutzung vorangegangener ¹⁵N-Versuche in Frage kommt, ist für organische Dünger tierischer Herkunft vorab eine ¹⁵N-markierte Futtererzeugung notwendig (Peschke, 1982). Die Verabreichung einer hochmarkierten Tagesfütterration an eine laktierende Kuh ergibt eine nach Menge und Zeit unterschiedliche ¹⁵N-Anreicherung der Exkreme (*Abbildung 1*); eine Tatsache, die bei der Zusammenstellung einer Modellgülle zu berücksichtigen ist.

Jeder ¹⁵N-Versuch mit Bodensubstrat hinterlässt ¹⁵N-Restmengen im Versuchsboden. Die relative Anreicherung ist infolge des verhältnismäßig hohen Anteils an nativem Boden-N normalerweise gering. Erst die Anwendung hochmarkierter Tracer bringt befriedigende Markierungswerte der N-Fractionen des Bodens. Ein solches Experiment wurde mit Dauerversuchsböden, der wiederholten Düngung von Weidelgras mit hochangereichertem Stickstoffdünger und jährlichem Einarbeiten des Grases in den Boden durchgeführt (Kretschmann und Peschke, 1991; Peschke et al., 1993). Der ¹⁵N-Einbau in die Humusfraktionen nach drei Jahren ist in *Tabelle 2* aufgeführt. Solchermaßen ¹⁵N-markiertes Bodenmaterial ist zur Prüfung der N₂-Fixierung von Leguminosen verwendbar (Potapova et al., 1997).

Die Experimentalformen ordnen sich auf verschiedenen Ebenen an: Inkubationsversuche in Klimakammern, Gefäßversuche im Gewächshaus und im Freiland, Mikroparzellen als und im Feldversuch. Die Prüfgliedgröße ist aus Kostengründen auf die Kleinparzelle festgelegt. Die ¹⁵N-Analytik baut auf Emissions- bzw. Massenspektrometer auf.

AUSGEWÄHLTE LABOREXPERIMENTE

Die Wirksamkeit eines Nitrifikationsinhibitors (hier Dicyandiamid) zur Verzögerung der Nitrifikation des ¹⁵NH₄-N-Anteils von Ammoniumsulfat und Jauche in einem Inkubationsversuch (Peschke, 1985a) ist in *Abbildung 2* wiedergegeben. Der Störfaktor Bodenstickstoff, der sich insbesondere in der Jauche-Variante bemerkbar machen würde, ist ausgegrenzt.

Der Effekt der N-Zusatzdüngung auf die Strohumsatzung im Boden wird mit dem folgenden

Brutschrankversuch demonstriert (Peschke und Dölling, 1994): ^{15}N -markiertes Roggenstroh setzt nur allmählich Stickstoff frei (*Abbildung 3*, untere Linie). Durch die Zugabe von (unmarkierten) ^{14}N -Dünger, schnell die Freisetzung des strohbürtigen Stickstoffs innerhalb einer Woche an und erreicht bis zur 6. Woche den Maximalwert (obere Linie).

EXPERIMENTALBEISPIELE VON FREILANDVERSUCHEN

Im klassischen ^{15}N -Felddüngungsversuch lässt sich im N-Entzug der oberirdischen Biomasse die Herkunft des Stickstoffs aus dem Boden- und Dünger-Pool aufteilen (*Abbildung 4*). Bei diesem N-Steigerungsexperiment (Peschke et al., 1981) verändert sich dieses Verhältnis von 100:0 (ungedüngt) bis auf 50:50 in der Variante mit dem höchsten N-Aufwand. Ein priming-Effekt ist angedeutet. Die Ausnutzung des Dünger-N (Isotopenmethode) fällt von 35% ($50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) auf 25% ($200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), nach der Differenzmethode analog von 48 auf 27%, zurück.

Der abweichende Einfluss einzelner Jahre soll aus Ergebnissen eines anderen Freilandversuches mit Winterweizen vorgestellt werden (Peschke und Mollenhauer, 1999). Im Jahre 1994 hat die Steigerung des Mineraldüngeraufwandes ($0\text{-}160 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) allein die N-Produktionsfunktion des düngerbürtigen Stickstoffs in Parallelität zum Gesamt-N-Entzug angehoben (*Abbildung 5*). 1996 wird mit der mineralischen N-Gabe zusätzlich Boden-N mobilisiert, der Anteil des Boden-N liegt deutlich über der Aufnahme von Dünger-N.

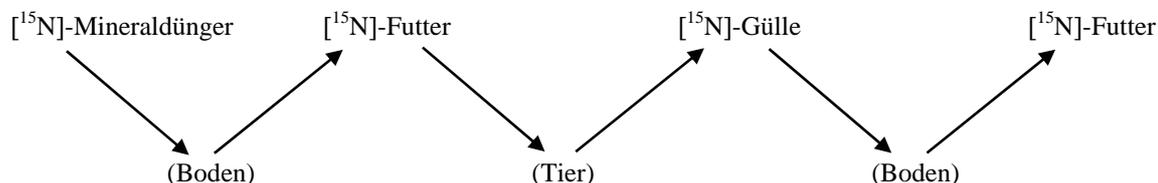
Interessante Aufschlüsse geben ^{15}N -Zeitreihenuntersuchungen (Peschke und Mollenhauer, 1998). Die Verfolgung der N-Dynamik im Boden und die N-Aufnahme des Weizens während der Vegetationszeit sowie die Auftrennung der N-Herkünfte ergeben Erkenntnisse, die nur durch den Tracereinsatz möglich sind (*Abbildung 6*). Die dreimalige Mineraldüngergabe ($60 + 60 + 40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) führt zu entsprechenden Zunahmen im kumulativen N-Entzug des Pflanzen-bestandes. Es ist aber auch eine erhebliche temporäre N-

Immobilisierung des Düngerstickstoffs in den ersten drei Monaten zu erkennen, in der letzten Phase ist eine Remobilisierung sichtbar. Von einer geringeren Aufnahme von nativen Boden-N in diesem Jahr abgesehen, wird darüber hinaus mineralisierter organisch gebundener Boden-N bis Mitte Mai akkumuliert, in der zweiten Maiperiode auch immobilisiert, um dann letztlich noch einmal den bodenbürtigen N ansteigen zu lassen.

Der Informationswert von Versuchsanstellungen mit dem Stabilisotop ^{15}N erhöht sich qualitativ, wenn in die Untersuchungen die ^{15}N -Dynamik im Boden einbezogen wird und eine Bilanzierung vorgenommen werden kann. In *Abbildung 7* wird die Systemverwertung einer Düngung von $180 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ zu Futterrüben dargestellt (Peschke, 1985b). In der Originalveröffentlichung wird die Hackfrucht mit Weidelgras und Hafer verglichen, die Nettomineralisation von 3.16%, d.h. die Aufnahme von zusätzlich $125 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ aus dem Bodenfonds, ist beachtlich. Demgegenüber hat das Weidelgras nur eine Nettomineralisation von 1.79% und der Hafer eine Nettoimmobilisation von 0.56%.

LANGZEITEXPERIMENTE

Materiell und personell aufwendige Langzeitexperimente erfordern zur Risikominderung und Erfolgssicherheit eine durchdachte Versuchsplanung und eine solide Versuchsdurchführung. In diesen Rahmen sind ^{15}N -Abfolgen im System Boden – Pflanze – Tier einzuordnen. Die Erzeugung und Anwendung von ^{15}N -markierter Gülle stellt eine solche kontinuierliche Stickstoffkette über mehrere offene Systeme dar, die mit der Tracertechnik qualitativ und quantitativ verfolgt werden kann (Peschke, 1981). Detailliert lassen sich über den ^{15}N -Tracer Größe der Kompartimente, die Stoffflüsse zwischen den N-Pools und die Umsetzungskonstanten erfassen. Im Falle des organischen Düngers sind Bodenkörper und tierischer Organismus die N-Umsatzorte. Der Versuchsablauf kann folgendermaßen strukturiert werden:



Das Experiment beginnt mit der gezielten Applikation eines hochmarkierten Mineraldüngers (*Abbildung 8*). Das damit erzeugte Futter (Weidelgras, Futterrüben, Haferkorn und -stroh*) wird in einer ^{15}N -markierten Tagesfütterration an

eine Milchkuh verabreicht. Aus dem Kot des 2. bis 5. Tages und dem Harn des 1. bis 4. Tages des Fütterungsexperimentes wird eine Modellgülle gemischt (Peschke, 1982). Diese Gülle wird zu Silomais gedüngt (tatsächlich folgt dann noch ein Nachbau mit Hafer). Von Stufe zu Stufe kommt es zu einer ^{15}N -Abreicherung in Richtung der natürlichen relativen Häufigkeit der Stickstoffisotope, wobei am Ende dieser Abfolge der erfasste Stickstoff nur noch ein niedrig markierter Indikator ist.

*Auf diesen Produktionsflächen wurde eine ^{15}N -Bilanzierung des Anbaujahres vorgenommen (s. *Abbildung 7*) und weiterhin eine dreijährige ^{15}N -Gesamtbilanz über einen zweijährigen Nachbau aufgestellt (Peschke, 1985b).

Die Dezimierung der relativen ^{15}N -Häufigkeit und der ^{15}N -Masse wird von zwei unabhängig voneinander, aber gleichgerichtet wirkenden Einflussgrößen, der ^{15}N -Verdünnung und dem N-Schwund, verursacht:

- (1) Mit der [^{15}N]-Verdünnung werden die ^{15}N : ^{14}N -Verhältnisse qualitativ verändert. Die Tracer werden mit entsprechenden natürlichen Nuklidgemischen (Boden, Futtermittel, Tier, Düngemittel) vermischt. Dieser Faktor hängt vor allem von der Größe und Dynamik des ^{14}N -Pools ab.
- (2) Mit dem allgemeinen N – S c h w u n d ist ein streng quantitativer Sachverhalt verbunden. Die nachweislichen Verluste beziehen sich auf die beiden Nuklide mit der gegebenen isotonen Zusammensetzung gleichermaßen. Es ist zweckmäßig, beim Schwund zwischen produktiven Abgängen (Immobilisation, Nährstoffrückführung, Milch, Fleischezuwachs u.a.) und unproduktiven Verlusten (Denitrifikation, Auswaschung, Lagerungsverluste u.ä.) zu unterscheiden.

Peschke (1997) definiert und beschreibt drei Modelle von ^{15}N -Langzeitversuchen:

- Hohe bzw. hochmarkierte ^{15}N -Anfangsgabe im 1. Jahr und isotonanalytische Prüfung der Nachwirkung in den Folgejahren.
- Sukzessive ^{15}N -Gabe zur schrittweisen ^{15}N -Akkumulation im Versuchssubstrat und möglicherweise anschließend den stufenweisen Abbau / die Abreicherung des ^{15}N -Anteiles.
- Einsatz eines hochmarkierten ^{15}N -Präparates und Verfolgung des ^{15}N -Isotopes über mehrere Kompartimente bei ^{15}N -Verdünnung und N-Schwund im Versuchsablauf.

Ein besonders aussagefähiger Versuchsansatz mit ^{15}N -Tracern ist der partielle und temporäre Eingriff in Parzellen von Dauerfeldversuchen (Peschke und Mollenhauer, 1996, 1998, 1999). Der Einbau randständiger Mikroparzellen lässt eine Sonderbehandlung in der laufenden Versuchsdurchführung zu. Es bieten sich zwei Verfahren an: der Einsatz ^{15}N -markierter Düngemittel in versuchskonformer Düngungshöhe bzw. Düngerform und/oder mehrere ^{15}N -Düngungssteigerungsstufen bzw. ^{15}N -Düngerformen in einer Feldvariante. Auf die Möglichkeit der Verwendung von Bodensubstraten aus differierenden Prüfgliedern von Dauerfeldversuchen für ^{15}N -Experimente in Klimakammern und Gewächshäusern wird abschließend hingewiesen.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

- Die ^{15}N -Tracertechnik ist in der agrilkulturchemischen Forschung zu einer Routinemethode ausgebaut worden.
- In der Stickstoffforschung findet die Isotopentechnik auf den verschiedensten Feldern der Bodenkunde, Pflanzenphysiologie, Pflanzenernährung, Acker- und Pflanzenbau, Tierphysiologie und Tierernährung Anwendung.
- Im Ergebnis vielfältiger Untersuchungen konnten wertvolle Erkenntnisse über N-Transformationsvorgänge im Boden, über die Düngerverwertung in der Pflanzenproduktion, über den N-Metabolismus in der Pflanze und hinsichtlich von N-Bilanzen und N-Kreisläufen gewonnen werden.
- Der Einsatz von ^{15}N -Tracern in Dauerfeldversuchen und in Verbindung mit Dauerversuchsböden in Sekundärexperimenten bietet wissenschaftsmethodisch viele Möglichkeiten einer vertiefenden Ergebnisaussage.

LITERATUR

- Kretschmann, S.-Peschke, H. (1991): Untersuchungen zur gezielten ^{15}N -Substitution und -akkumulation in der organischen Substanz ausgewählter Dauerversuchsböden. Z. Pflanzenernährung und Bodenkunde, 154. 331-335.
- Peschke, H. (1981): Zur Verwertung von isotonmarkiertem Stickstoff in der Abfolge Mineräldünger – Futter – Tier – Gülle – Futter. Archiv Acker- Pflanzenbau Bodenkunde, 25. 765-773.
- Peschke, H. (1982): Gewinnung von ^{15}N -markierten Futtermitteln. (In: Gezielte ^{15}N -Anreicherung von organischen Düngemitteln für Versuchszecke) Isotopenpraxis, 18. 73-75.
- Peschke, H. (1982): Herstellung von ^{15}N -markierter Gülle. (In: Gezielte ^{15}N -Anreicherung von organischen Düngemitteln für Versuchszecke) Isotopenpraxis, 18. 104-106.
- Peschke, H. (1985a): Zur Bewertung der inhibierenden Wirkung von Nitrifiziden im Boden. Zentralblatt Mikrobiologie, 140. 583-588.
- Peschke, H. (1985b): Transformation von hochmarkiertem Mineräldüngerstickstoff im System Boden – Pflanze auf einer Sand-Rosterde. Wiss. Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin, Math.-Nat. R. XXXIV. 530-534.
- Peschke, H. (1997): Langzeitexperimente mit ^{15}N in der Pflanzenbauforschung. Isotopes Environmental Health Studies, 33. 3-11.
- Peschke, H.-Dölling, S. (1994): Nachweis des Strohabbaues über die Stickstofffreisetzung aus ^{15}N -markiertem Stroh. J. Agronomy and Crop Science, 173. 31-325.
- Peschke, H.-Kretschmann, S.-Volker, D. (1993): ^{15}N -An- und -Abreicherung organischer Bodensubstanz. Mitt. Deutsche Bodenkundliche Gesellschaft, 71. 235-238.
- Peschke, H.-Markgraf, G.-Schmidt, O.-Selle, U. (1981): Stickstoffmineralisation im Boden und Stickstoffentzug der Pflanze auf sandigen Standorten. Archiv Acker- Pflanzenbau u. Bodenkunde, 25. 671-679.
- Peschke, H.-Mollenhauer, S. (1996): Untersuchungen mit ^{15}N im Dauerdüngungs-feldversuch. Isotopes Environmental Health Studies, 32. 159-165.

Peschke, H.-Mollenhauer, S. (1998): N_{\min} -Gehalt im Boden, mineralische N-Düngung und N-Entzug von Winterweizen im Internationalen Organischen Stickstoffdauer-düngungsversuch (IOSDV) Berlin-Dhalem. Z. Pflanzenernährung u. Bodenkunde, 161. 9-15.

Peschke, H.-Mollenhauer, S. (1999): Einjähriger ^{15}N -düngungsseitiger Eingriff in das Düngungssystem des Internationalen Organischen Stickstoffdauerdüngungsversuches (IOSDV) Berlin-Dahlem und die Auswirkungen auf

die Weizerträge 1994 bis 1996. Archiv Acker- Pflanzenbau u. Bodenkunde, 44. 3-23.

Potapova, S.-Peschke, H.-Mollenhauer, S.-Jemzev, W. T.-Tschernikov, W. A. (1997): Effektive Inokulation von Erbsen mit symbiontischen und assoziativen Diavotrophen in Abhängigkeit von verschiedenen mineralischen Stickstoffdüngergaben (russ.). Ivestija Timirjasev-Akademie Moskau, 2. 100-108.

Table 1: Preise für ^{15}N -markierte Mineraldünger (in DM)

^{15}N at.-% Häufigkeit	Ammoniumsulfat	
	100 g AS	100 g N
1	29	140
5	191	909
10	364	1 733
95	11 050	52 619

^{15}N at.-% Häufigkeit	Harnstoff	
	100 g HS	100 g N
5	582	1 265
10	1 105	2 402
95	35 200	76 522

Table 1: Prices of ^{15}N -marked mineral fertilizers (in DM)

Table 2: ^{15}N -Akkumulation in den Humusfraktionen

Fraktion		Thyrow	Thyrow	Lauch-	Lauch-
		2	5	stätt 18	stätt 1
FS _I -N	mg/kg	80,4	72,9	92,5	35,5
	%	45,9	37,6	45,3	19,3
FS _{II} -N	mg/kg	7,8	10,2	48,0	34,4
	%	12,1	9,3	23,0	15,8
HS _I -N	mg/kg	4,4	7,1	24,2	26,6
	%	14,9	11,7	16,7	14,4
HS _{II} -N	mg/kg	5,2	9,9	40,9	52,3
	%	16,1	11,8	20,0	18,2
NeS-N	mg/kg	-	22,7	112,0	129,0
	%	-	18,4	20,4	11,6

Table 2: ^{15}N -accumulation in humus fractions

Abbildung 1: ^{15}N -Häufigkeit von Exkrementen einer Milchkuh

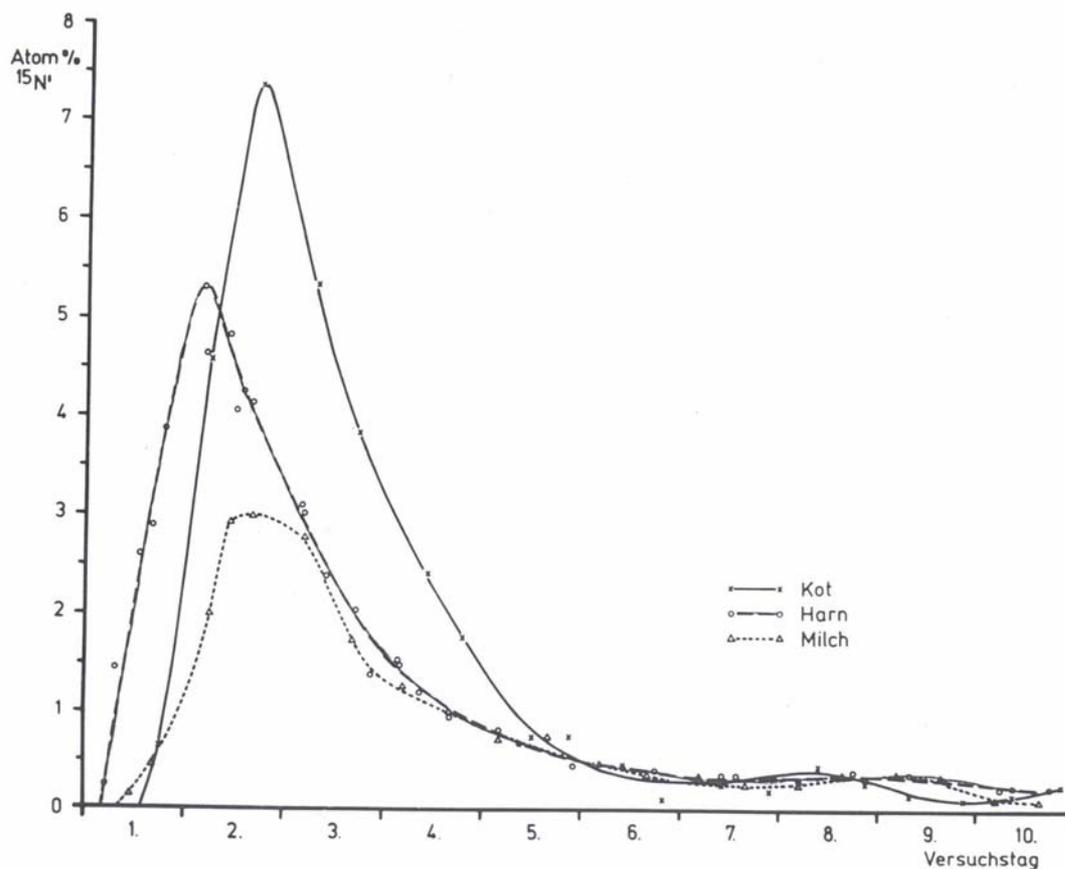


Figure 1: ^{15}N -frequency of excrements of a dairy cow

Abbildung 2: Nitrifikationsverzögerung mit Dicyandiamid

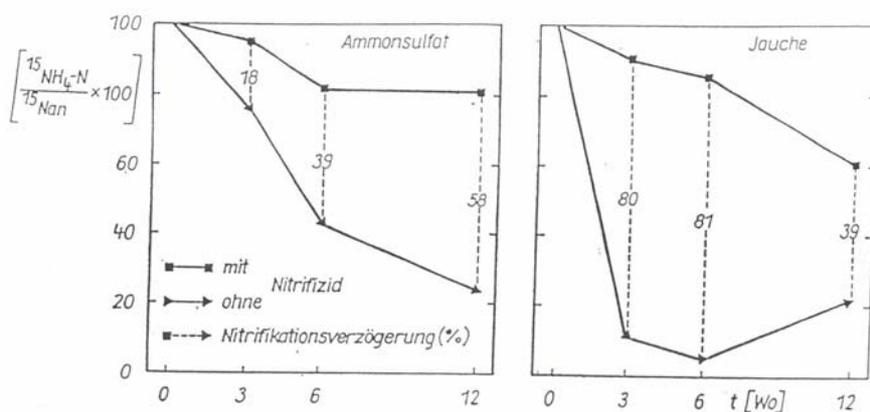


Figure 2: Nitrification delay in cases of the use of dicyandiamide

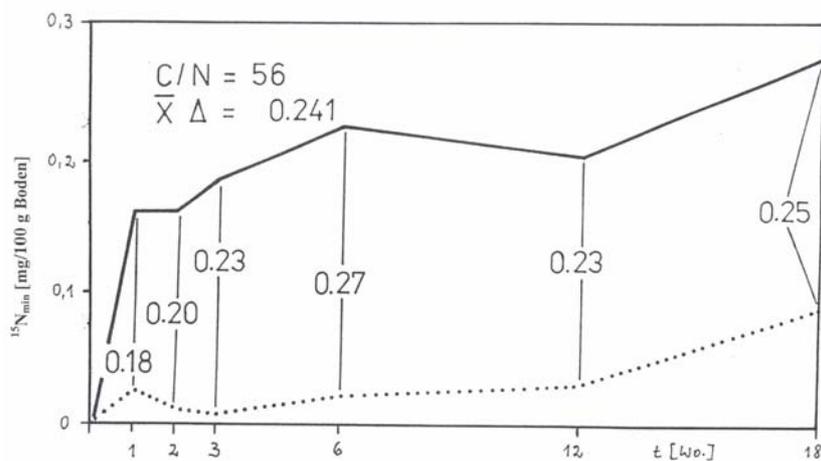
Abbildung 3: $^{15}\text{N}_{\text{min}}$ -Freisetzung aus dem Roggenstroh ohne und mit Stickstoff-zusatzFigure 3: $^{15}\text{N}_{\text{min}}$ -release from rye straw without and with addition of nitrogen

Abbildung 4: Herkunft des Stickstoffs im pflanzlichen Entzug (im Mittel von 13 Feldversuchen mit Hafer)

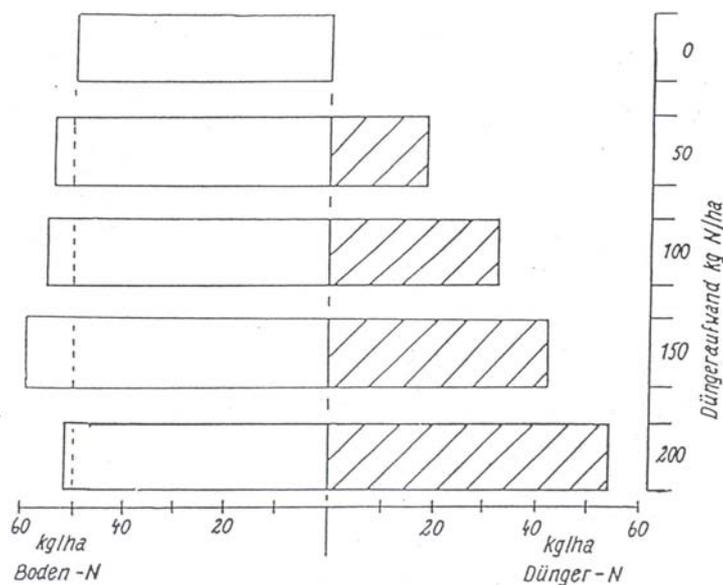


Figure 4: Origin of nitrogen in vegetative extracts (in the average of 13 field tests on oats)

Abbildung 5: Produktionsfunktionen des boden- und düngerbürtigen Stickstoffs im pflanzlichen Entzug von Weizen

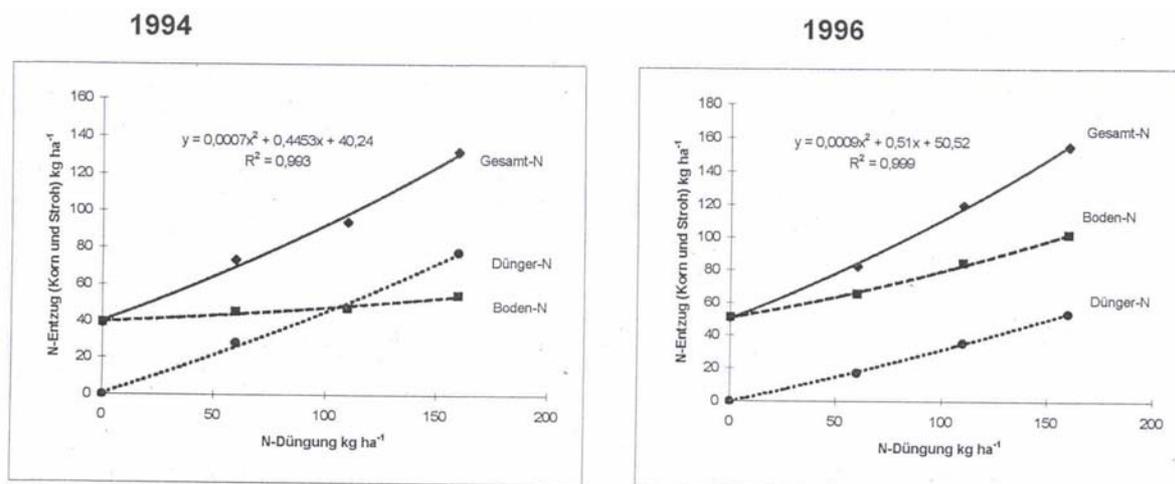


Figure 5: Production functions of soil content and fertilizer-released nitrogen in vegetative extracts taken from wheat

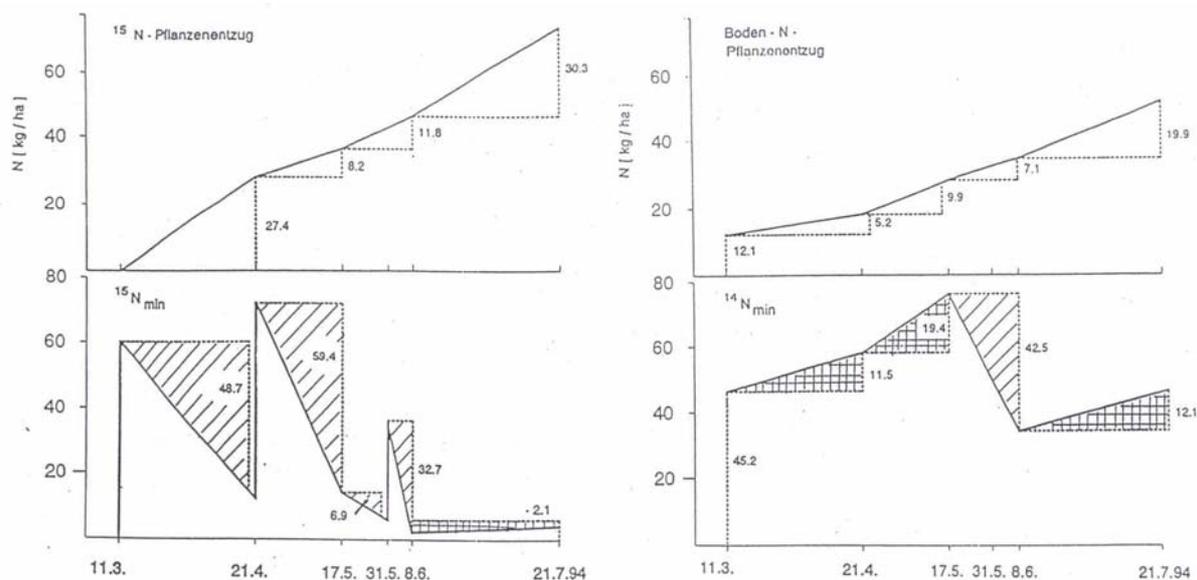
Abbildung 6: Veränderungen im N_{min}-Gehalt des Bodens und N-Pflanzenentzug im Laufe der WeizenvegetationszeitFigure 6: Changes in the N_{min}-content of the soil and in the N-extract by plants in the course of the vegetation period for wheat

Abbildung 7: N-bezogene Systemverhältnisse von Futterrüben

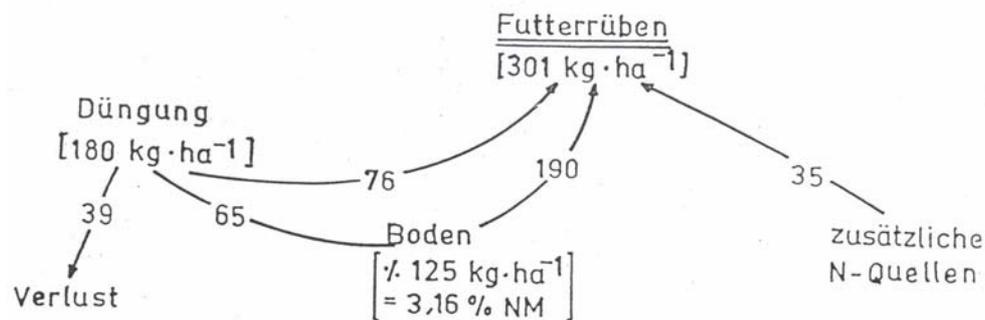
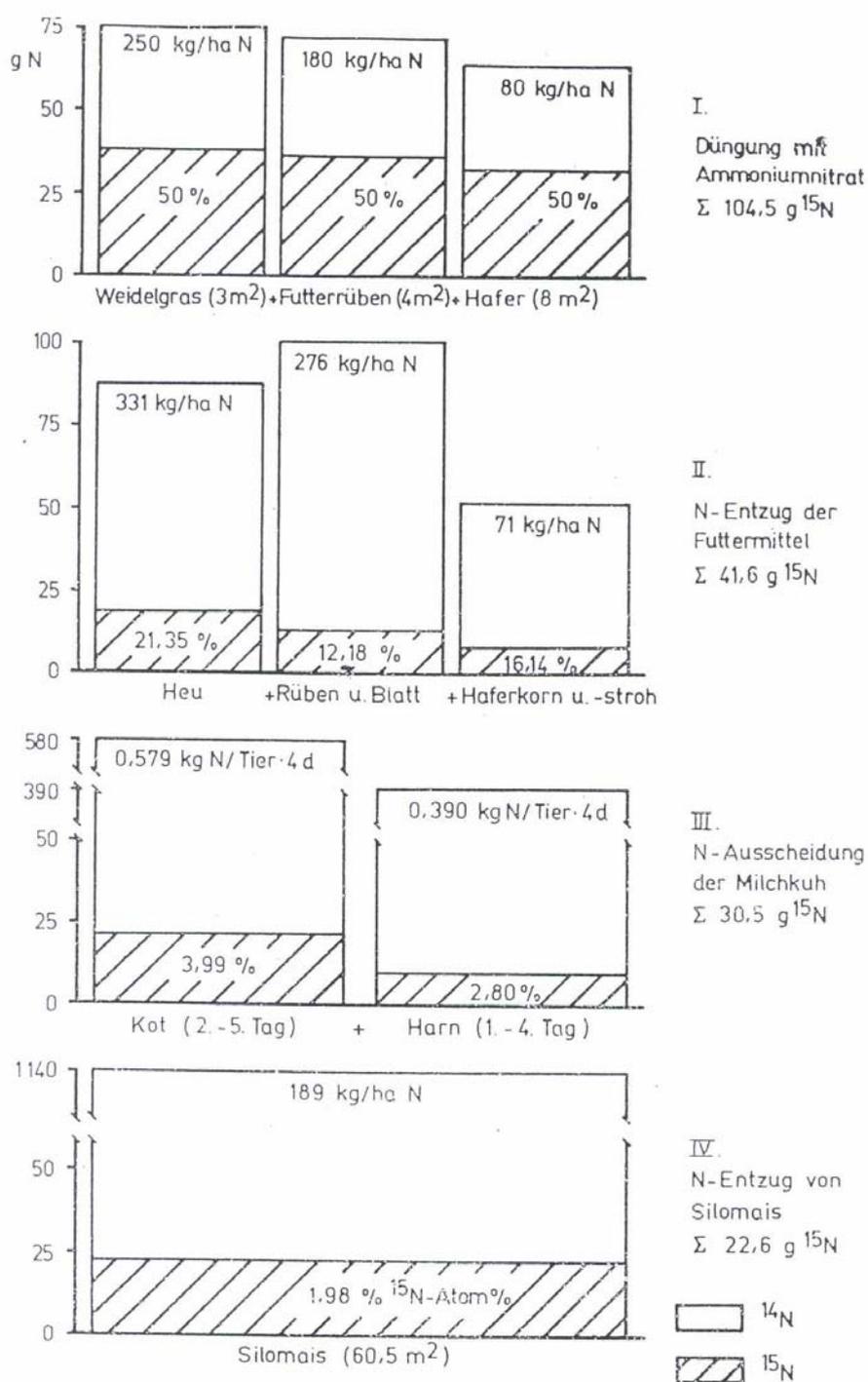


Figure 7: N-related systemic conditions of fodder beets

Abbildung 8: Relative ^{15}N -Häufigkeit und ^{15}N -Masse im VersuchsablaufFigure 8: Relative ^{15}N -frequency and ^{15}N -mass in the course of the experiment