

EIP Agri Abschlussbericht

–

OPG RhizoLinse

(Nr. 192018)



Rhizo-Bakterien gestützte Optimierung des
Linsenbaus unter Berücksichtigung
bioökonomischer Wertschöpfung

Projektlaufzeit: 01.06.2019 - 31.03.2022

Abgabe:

Projektpartner Universität Hohenheim

Bearbeiter:innen:

Carolin Weiler, Lisa Sharif, Johannes Zeidler, Dr. Annegret Pflugfelder, Prof. Dr. Sabine Gruber (†), Dr. Sabine Zikeli

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
2. Hintergrund	5
2.1 Die Geschichte der Linse	5
2.2 Symbiotische Stickstofffixierung	7
2.3 Auswirkungen der Rhizobienimpfung auf Leguminosen	8
3. Exaktversuche	11
3.1. Gefäßversuch Hohenheim 2019-2020	11
3.1.1. Material und Methoden.....	11
3.1.2. Ergebnisse.....	16
3.1.3. Diskussion.....	23
3.2. Exkurs I: Desinfektionsversuch – Gefäßversuch im Gewächshaus	25
3.2.1. Material und Methoden.....	25
3.2.2. Ergebnisse.....	26
3.2.3. Diskussion.....	27
3.3. Exkurs II: Untersuchung der Knöllchenbildung – Gefäßversuch im Gewächshaus	29
3.3.1. Material und Methoden.....	29
3.3.2. Ergebnisse.....	30
3.3.3. Diskussion.....	32
3.4. Exaktversuch im Feld, Ihinger Hof 2019-2020	34
3.4.1. Material und Methoden.....	34
3.4.2. Ergebnisse.....	41
3.4.4. Diskussion.....	45
3.5 On-Farm Versuche 2020-2021	47
3.5.1 Material und Methoden	47
3.5.1.1 Versuchsaufbau und -durchführung	47
3.5.1.2 Statistische Auswertung	50
3.5.2 Ergebnisse	51
3.5.2.1 Ergebnisse 2020	51
3.5.2.1.1 Linsenertrag und Anzahl von Linsenkörnern und -hülsen	51
3.5.2.1.2 Knöllchenanzahl und –aktivität.....	53
3.5.2.1.3 Oberirdische- und Wurzelbiomasse von Linse und Stützfrucht	55
3.5.2.1.4 Stickstoff- und Proteingehalte von Linse und Stützfrucht	59
3.5.2.2 Ergebnisse 2021	62
3.5.2.2.1 Linsenertrag, Linsen- und Hülsenanzahl.....	62

3.5.2.2.2	Gesamtstickstoffgehalte von Linse	63
3.5.2.2.3	Knöllchenanzahl und –aktivität.....	64
3.5.3	Diskussion.....	66
4	Fazit.....	68
5.	Literaturangaben	70

1. Einleitung

Nachhaltige Produktionssysteme gewinnen weltweit an Bedeutung, da die negativen Auswirkungen der intensiven Landwirtschaft immer deutlicher werden. Leguminosen stellen als eine nahrhafte Proteinquelle einen gesunden Bestandteil der menschlichen Ernährung dar und können durch ihre symbiotische Beziehung mit Bodenbakterien auf natürliche Weise günstige Bodenbedingungen verbessern. Durch die biologische Stickstofffixierung in der Symbiose mit Rhizobia-Bakterien (z. B. *Rhizobium leguminosarum*) können Pflanzenwachstum und -ertrag gesteigert werden ((Pommeresche, R., & Hansen 2017)).

Die Hülsenfrucht Linse (*Lens culinaris* Medik.) ist in Europa ein traditionelles und beliebtes Lebensmittel (Horneburg 2006, zitiert in Wang et al. (2012)). In Deutschland selber wird jedoch nur ein kleiner Teil der konsumierten Linsen im Land produziert. Der überwiegende Teil muss aus den Hauptanbaugebieten wie Kanada oder Indien importiert werden (FAOSTAT, 2020). In Deutschland werden Linsen nur auf 640 ha angebaut, hauptsächlich in Baden-Württemberg und Hessen (MLR 2019, zitiert in Blessing et al. (2022)). Grund dafür sind die sehr instabilen Erträge, die zwischen 2 bis 20 dt ha⁻¹ liegen und von verschiedenen Umweltfaktoren abhängig sind (Pflaum et al. 2011; Wang et al. 2012; Blessing et al. 2022). Für die Ertragsbildung der Linse stellt die Symbiose von Leguminosen und Rhizobium-Bakterienstämmen einen entscheidenden Faktor dar. In den Knöllchen der Leguminosen wandeln Bakterien Luftstickstoff in pflanzenverfügbares Ammoniak um (Tricot et al. 1997; Spehn et al. 2002; Pommeresche, R., & Hansen 2017). Im Vergleich zu anderen Leguminosen sind in Deutschland keine kommerziellen Produkte für die Inokulation von Linsen verfügbar, und aktuell verlassen sich die Landwirte bei der Inokulation auf die im Boden vorhandenen Rhizobien. Mehrere Veröffentlichungen weisen jedoch darauf hin, dass sich die Inokulation von Leguminosen positiv auf deren Pflanzenwachstum und den Ertrag auswirkt (El-Wakeil and El-Sebai 2007; Khanna and Sharma 2011; Argaw 2013; Pereyra et al. 2015). Die Ertragswirkung der Symbiose steht in engem Zusammenhang mit der Anzahl der Knöllchen, die an der Wurzel beobachtet werden, und darüber hinaus mit der Aktivität dieser Knöllchen (Manjunath et al. 1984; Bourion et al. 2007; Huang et al. 2016). Daher könnte das Screening verschiedener Rhizobium-Bakterienstämmen für die Entwicklung eines Linsen-Inokulums ein Weg sein, höhere und stabilere Erträge zu erreichen.

Daher hat das Projekt RhizoLinse das Ziel, Inokula für den Linsenanbau in Baden-Württemberg zu entwickeln, um so zum Ausbau des Linsenanbaus in Baden-Württemberg beizutragen.

Im Projektteil der Universität Hohenheim wurden dazu verschiedene Inokula, die von der Firma nadicom entwickelt wurden, in Gefäß-, Exakt- und On-Farm-Versuchen geprüft. Untersucht wurde der Einfluss der Inokula auf ertragsbildende Parameter sowie auf den Gesamtertrag.

2. Hintergrund

2.1 Die Geschichte der Linse

Die Linse ist eine krautige Hülsenfrucht mit viereckigem Stängel und gefiederten Blättern. Die Blüten sind bläulich-weiß und die Früchte sind Hülsen, die meist zwei Samen enthalten (Leibnitz 1974). Die Pflanze ist einjährig, selbstbefruchtend und diploid ($2n=14$). Aufgrund ihrer Fähigkeit, atmosphärischen Stickstoff zu fixieren, kann die Linse wichtige Aminosäuren für die menschliche Ernährung liefern, weshalb die Linse eine der ersten domestizierten Hülsenfrüchte ist (Ladizinsky 1979). Sie wurde zusammen mit Einkorn, Emmer, Gerste und Erbse vor 10.000 Jahren im fruchtbaren Halbmond domestiziert. Von dort aus verbreitete sie sich und erreichte Deutschland etwa 1.000 bis 1.500 Jahre vor Christus (Cubero et al. 2009). Die Gattung *Lens* besteht aus sechs verschiedenen Arten. Die Arten *Lens culinaris*, *L. tomentosus*, *L. odemensis*, *L. ervoides*, *L. nigricans* und *L. lamottei*. Innerhalb dieser Arten ist *L. culinaris* die einzige domestizierte Art mit ihren beiden Unterarten *culinaris* und subsp. *orientalis* (Ferguson et al. 2000). Diese sechs Arten lassen sich drei verschiedenen Genpools zuordnen. *L. culinaris* und *L. odemensis* gehören zum ersten Genpool, *L. ervoides* und *L. nigricans* zum zweiten und *L. lamottei* und *L. tomentosus* bilden den tertiären Genpool. (Rizvi et al. 2019).

Die Linsenproduktion nimmt weltweit zu und erreicht in 2020 eine Fläche von ca. 5 Mio ha und 6.5 Mio t weltweit (FAO 2022). Linsen sind die sechsthäufigste produzierte Hülsenfrucht, hinter Bohnen, Erbsen, Kichererbsen, Ackerbohnen und Kuhbohnen (Erskine 2009). Der Durchschnittsertrag betrug weltweit 850 kg ha^{-1} im Jahr 2008 und stieg auf 1305 kg ha^{-1} im Jahr 2020 (FAO 2022). Die weltweit größten Linsenproduzenten sind Kanada mit 44 % und Indien mit 18 % der gesamten Linsenproduktion im Jahr 2020. Es folgen Australien mit 8 %, die Türkei mit 5,8 % und die USA mit 5,1 %. Auch Nepal, Kasachstan, China, Äthiopien und Russland tragen zur weltweiten Linsenproduktion bei (FAO 2022).

Linsen gelten als sehr vorteilhaft für die menschliche Ernährung. Sie enthalten Proteine, die eine getreidebasierte Ernährung ergänzen, Ballaststoffe, Vitamine und Mineralstoffe (Grusak 2009; Zhang et al. 2015). Während Getreide reich an schwefelhaltigen Aminosäuren und Tryptophan ist, ergänzen Hülsenfrüchte diese Aminosäuren durch hohe Konzentrationen an ergänzenden essenziellen Aminosäuren wie Lysin, Leucin und Isoleucin. Wenn sie zusammen verzehrt werden, kann ein ausgewogenes Profil essenzieller Aminosäuren erreicht werden (Boye et al. 2010). Darüber hinaus werden Linsen beim menschlichen Verzehr wegen ihres gesundheitlichen Nutzens geschätzt, insbesondere wegen ihres hohen Gehalts an sekundären Pflanzenstoffen wie Phenolen die als Antioxidantien wirken (Zhang et al. 2015). Als Hülsenfrucht enthält die Linse zwischen 21 % und 31 % Protein, von denen sich die meisten in den Keimblättern befinden (Jarpa-Parra 2018). Globuline und Albumine sind die am häufigsten vorkommenden Proteingruppen in Linsen. Globuline bestehen aus Enzymen,

Amylase- und Protease-Inhibitoren und Lektinen. Diese Proteingruppe ist wasserlöslich im Vergleich zu den salzlöslichen Albuminen, die überwiegend Speicherproteine sind (Boye et al. 2010). Die oben erwähnten Sekundärmetaboliten in Linsen bestehen aus Enzyminhibitoren, Lektinen, Phytaten, Oligosacchariden und phenolischen Verbindungen. Diese sekundären Metaboliten werden einerseits als gesundheitsfördernd angesehen und als Nahrungsergänzungsmittel oder funktionelle Lebensmittel vermarktet, andererseits können sekundäre Metaboliten die Verdaulichkeit und Absorption von Nährstoffen verringern und gelten daher als antinutritive Inhaltsstoffe (Campos-Vega et al. 2010).

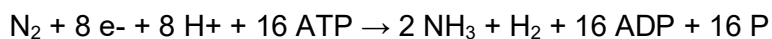
Von allen essbaren Hülsenfrüchten enthalten Linsen die meisten phenolischen Verbindungen. Bei den phenolischen Verbindungen handelt es sich um Phenolsäuren, Tannine und Flavonoide, die direkt mit einer antioxidativen Wirkung verbunden sind. Die antioxidative Wirkung gilt als gesundheitsfördernd, da reaktive Sauerstoffspezies im Körper vermindert werden können und verhindert wird, dass sie das Risiko für verschiedene Krankheiten wie Krebs, koronare Herzkrankheiten, Diabetes und verschiedene Atemwegserkrankungen erhöhen. Die in Linsen enthaltenen Lektine sind nicht giftig, können aber die Verdaulichkeit und Aufnahme einiger Proteine verringern. Wie Enzyminhibitoren wirken auch Lektine in Linsen antinutritiv (Campos-Vega et al. 2010). Das Kochen, Einweichen und Keimen verbessert jedoch die Verdaulichkeit von Linsenprotein. Während dieser Verarbeitungsschritte konnten ANFs wie Enzyminhibitoren weitgehend inaktiviert werden (Boye et al. 2010). Im Vergleich zu anderen Hülsenfrüchten, insbesondere Soja, enthalten Linsen sehr wenig Fett. Die Fettgehalte variieren zwischen 1,5 % und 3 %, wobei ungesättigte Fettsäuren den größten Anteil ausmachen und gesättigte Fettsäuren nur eine vernachlässigbare Menge darstellen.

Neben den Fettsäuren sind auch fettlösliche sekundäre Pflanzenstoffe wie Vitamin E und Carotinoide gesundheitsfördernde Substanzen in Linsen enthalten. Sowohl Vitamin E als auch Carotinoide haben eine antioxidative Wirkung (Zhang et al. 2014). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Linsen eine wichtige Quelle für essenzielle Aminosäuren sind, die zu einer gesunden Ernährung beitragen und pflanzliche Proteinquellen darstellen. Darüber hinaus können Linsen aufgrund ihres hohen Gehalts an Sekundärmetaboliten (Campos-Vega et al. 2010) als funktionelle Lebensmittel vermarktet werden, die als Antioxidantien wirken und insbesondere koronaren Herzkrankheiten und Herz-Kreislauf-Erkrankungen vorbeugen, wie epidemiologische Studien in den USA gezeigt haben (Bazzano et al. 2001).

2.2 Symbiotische Stickstofffixierung

Stickstoff (N) ist in reduzierter Form Bestandteil von Proteinen, Nukleotiden und vielen anderen biochemischen Substanzen. Folglich ist N in der Regel der wachstumsbegrenzende Nährstoff in Pflanzen (Kim and Rees 1994). Die Atmosphäre besteht zu 79 % aus Stickstoff in Form von gasförmigem Distickstoff (N_2), den Pflanzen nicht direkt nutzen können. Daher ist die N-Fixierung notwendig, um das pflanzenverfügbare N_2 -Ammoniak (NH_3) zu reduzieren. Alle N-fixierenden Organismen sind Prokaryoten. Stickstoff kann von freilebenden Organismen oder in Symbiose mit einer Pflanze fixiert werden. So können beispielsweise Rhizobien-Bakterien in Symbiose mit Leguminosen Stickstoff fixieren. Die symbiotische Stickstofffixierung an Land und in den Ozeanen ist für mehr Stickstoffeinträge in das weltweite Ökosystem verantwortlich als alle synthetischen Stickstoffdünger zusammen (Kim and Rees 1994; Reece et al. 2016). Da Linsen als Leguminosen Stickstoff in einer Symbiose mit Rhizobien fixieren können, wird sich dieses Kapitel auf die symbiotische Stickstofffixierung konzentrieren.

Die Stickstoffreduktion im Allgemeinen kann chemisch wie folgt dargestellt werden:



Da diese Reaktion sehr energieaufwendig ist, werden die Rhizobien vom Symbionten mit großen Mengen an Kohlenhydraten versorgt. Im Gegenzug für die Versorgung mit Kohlenhydraten geben die Rhizobien pflanzenverfügbaren Stickstoff in Form von NH_3 an ihren Symbiosepartner ab. Diese wechselseitige Beziehung ist die Grundlage der Symbiose zwischen Rhizobien und Leguminosen. Um eine Symbiose zwischen einer Pflanze und den im Boden vorhandenen Bakterien einzugehen, sondert die Pflanze Phytochemikalien ab, um Rhizobien anzulocken, während die Bakterien ebenfalls Chemikalien absondern, um die Produktion eines Injektionsfadens durch die Pflanze auszulösen (Campbell et al., 2016). Durch diesen Injektionsfaden können die Rhizobien in die Wurzel eindringen und beginnen, ihre endosymbiotische Form, das Bacteroid, zu entwickeln (Mylona et al. 1995). Diese Bacteroide werden zunehmend von Wurzelzellen umgeben und die Knöllchen beginnen sich zu entwickeln. Innerhalb der Knöllchen wachsen Leitgewebe, die Stickstoff zur Pflanze und Kohlenhydrate zu den Bakterien transportieren. Um die Knöllchen herum verhindern ligninhaltige Sklerenchymzellen die Sauerstoffosmose in die Zellen, da die symbiotische Stickstofffixierung anaerobe Bedingungen benötigt (Reece et al. 2016). Das Nitrogenase-Enzymsystem ist empfindlich gegenüber Sauerstoff, auf dem die biologische Stickstoffreduktion zu Ammoniak beruht. Zwei Metalloproteine bilden die Grundlage der Nitrogenase, zum einen das Eisenprotein und zum anderen das Molybdän-Eisen-Protein (Howard and Rees 1996). Letzteres wird durch Sauerstoff irreversibel denaturiert, was die Nitrogenase sehr sauerstoffempfindlich macht. Rhizobia-Bakterien hingegen benötigen wegen der sehr energieintensiven Stickstoffreduktion zu Ammoniak große Mengen an Sauerstoff. Unter anderem stellt das Trägerprotein Leghämoglobin einen Sauerstoffgradienten innerhalb

des Knöllchens her, um genügend Sauerstoff für die Zellatmung bereitzustellen und gleichzeitig anaerobe Bedingungen für die ordnungsgemäße Arbeit der Nitrogenase zu schaffen (Mylona et al. 1995). Daher kann die Menge an Leghämoglobin in den Knöllchen als Parameter für eine effektive Symbiose verwendet werden und ist eng mit der Menge an gebundenem Stickstoff korreliert (Wilson and Reisenauer 1963). Da Leghämoglobin auch ein rotes Pigment ist, lassen sich aktive Knöllchen an ihrer roten Farbe erkennen. An bewölkten Tagen verwandelt sich das Leghämoglobin in Legmethämoglobin und bildet ein braunes Pigment. Das Gleichgewicht zwischen Leghämoglobin und Legmethämoglobin wird durch die Menge der Oxalessigsäure reguliert, die von der Sonneneinstrahlung abhängt. An sonnigen Tagen ist die Oxalessigsäure in großen Mengen vorhanden und verschiebt das Gleichgewicht zugunsten des Leghämoglobins. Infolgedessen erscheint die Farbe des Knöllchens rot. Nach der Blüte, wenn sich das Pflanzenwachstum verlangsamt, wird die Farbe der Knolle erst braun und dann grün. Das grüne Pigment kann nicht in Leghämoglobin zurückverwandelt werden, weshalb im Knöllchen kein Stickstoff mehr gebunden wird. Die Farbe der Wurzelknöllchen kann daher als Indikator für die Wirksamkeit und Aktivität der Symbiose angesehen werden. Rote Knöllchen sind sehr aktiv, braune Knöllchen sind weniger aktiv und grüne Knöllchen binden keinen Stickstoff (Virtanen and Laine 1946).

Um eine gut funktionierende Symbiose zwischen Pflanze und Bakterium zu gewährleisten, müssen mehrere Aspekte erfüllt sein. Neben den Umweltaspekten sind auch die spezifische Pflanzenart und der Bakterienstamm von großer Bedeutung. Jede Leguminosenart ist mit einem spezifischen Rhizobienstamm verbunden (Bremer et al. 1990; Reece et al. 2016). Folglich ist eine stickstofffixierende Symbiose sehr spezifisch (May and Bohlool 1983). Bei der Symbiose mit Linsen, *L. culinaris*, ist die Bakterienart *Rhizobium leguminosarum* assoziiert. Die Tatsache, dass diese beiden Symbionten auch gemeinsam im Ursprungsgebiet der Linse vorkommen, lässt vermuten, dass *R. leguminosarum* der ursprüngliche Symbiont der Linse ist (Harun-or Rashid et al. 2014), allerdings entdeckten Harun-or Rashid et al. (2014) keine signifikante genetische Unterschiede zwischen *R. leguminosarum*-Stämmen die in Deutschland bzw. in Syrien und der Türkei gefunden wurden.

2.3 Auswirkungen der Rhizobienimpfung auf Leguminosen

Der Ertrag von Leguminosen wie Linsen hängt vom Vorhandensein geeigneter Rhizobienbakterien im Boden ab, mit denen sie eine symbiotische Beziehung eingehen. Wenn keine geeigneten einheimischen Rhizobienstämme vorhanden sind, kann das Saatgut vor der Aussaat beimpft werden, um die Symbiose zu gewährleisten. Die Inokulation ist für eine optimale Pflanzenleistung von entscheidender Bedeutung, da der Mangel an geeigneten Bakterien im Boden nicht durch (N-)Düngung ausgeglichen werden kann (Pommeresche, R., & Hansen 2017). Die Inokulation mit Rhizobien hat daher mehrere positive Effekte, und im

Ergebnis kann eine erfolgreiche Inokulation den (wirtschaftlichen) Leguminosenertrag erhöhen. Mehrere Veröffentlichungen weisen darauf hin, dass die Inokulation mit *R. leguminosarum*-Stämmen das Gesamtfrisch- und Trockengewicht der ober- und unterirdischen Biomasse, die Stickstoffaufnahme und damit auch den Gesamtstickstoffgehalt der Pflanze und den Proteingehalt der Samen deutlich erhöhen kann (Manjunath et al. 1984; Khanna and Sharma 2011; Argaw 2013; Tena et al. 2016). Die Anwendung eines Rhizobien-Inokulums kann die Nodulation fördern, das heißt die Anzahl und das Trockengewicht der Knöllchen pro Pflanze werden größer (Manjunath et al. 1984; El-Wakeil and El-Sebai 2007; Khanna and Sharma 2011; Tena et al. 2016). In vielen Fällen führt die Inokulation auch zu einer erhöhten biologischen N-Fixierung, was durch die häufig zu beobachtende Erhöhung des Kornproteins und des Gesamtstickstoffs in der Pflanze belegt wird (Manjunath et al. 1984; Huang et al. 2016).

Der Einsatz geeigneter Inokula bei Leguminosen kann nachweislich die Ertragskomponenten erhöhen (Thies et al. 1991; Khanna and Sharma 2011). Im Vergleich zu nicht geimpften Kontrollparzellen weisen geimpfte Leguminosen oft eine signifikant höhere Anzahl von Hülsen pro Pflanze und Samen pro Topf sowie ein höheres Samengewicht auf, was zu höheren Kornerträgen führt (Argaw 2013; Tena et al. 2016). Interessanterweise berichteten El-Wakeil und El-Sebai (2007) in einer Studie mit Ackerbohnen (*Vicia fabae* L.) über einen signifikant positiven Effekt von Rhizobia-Stämmen auf das Verhältnis von Sprossen/Wurzeln, Hülsen/Blüten, das Frisch- und Trockengewicht der Biomasse und das Gewicht der Knöllchen im Vergleich zu Parzellen, die mit einer Basis-NPK-Düngung behandelt wurden. In ähnlicher Weise testeten Tena et al. (2016) sechs verschiedene Inokula an Linsen (*Lens culinaris* Medik.), wobei die Ergebnisse zeigten, dass die Inokulation die Ertragskomponenten im Vergleich zu einer nicht geimpften und ungedüngten Kontrolle stärker beeinflusste (+44-59 %) als eine Harnstoffdüngung (+40 %). Der Effekt war jedoch statistisch nicht signifikant. Diese Beispiele zeigen, dass die Anwendung geeigneter Rhizobien-Inokula die Ertragsparameter von Leguminosen effektiver steigern kann als eine anorganische N-Düngung.

Der Erfolg der Inokulation ist jedoch sehr standortspezifisch und hängt von Merkmalen wie dem Bodentyp (May and Bohlool 1983), dem Wassergehalt des Bodens (Pommeresche, R., & Hansen 2017), sowie der Verfügbarkeit von Ressourcen wie Licht und Nährstoffe (Lau et al. 2012) ab. Huang et al. (2016) berichteten, dass der Erfolg der Inokulation von einer ausreichenden Bodenfeuchte abhängt, die eine effektive biologische N-Fixierung ermöglicht. Darüber hinaus kann die Wirksamkeit der Inokula sogar verringert werden, wenn zu Beginn eine mittlere bis hohe Anzahl einheimischer Rhizobien im Boden vorhanden ist (Thies et al. 1991; Argaw 2013). Dies deutet auf eine Konkurrenz zwischen verschiedenen Rhizobienstämmen hin und unterstreicht die Notwendigkeit, die Dichte der bereits im Boden Rhizobienstämme vor der Inokulation zu bestimmen und zu bewerten. Thies et al. (1991)

berichteten, dass der Ertrag von Leguminosen in 85 % der Fälle signifikant anstieg, wenn nur eine geringe Dichte an einheimischen Rhizobien im Boden vorhanden war, während in Böden, die bereits dicht mit Rhizobien besiedelt waren, keine Reaktion auf die Inokulation erfolgte. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass der Beimpfungserfolg mit zunehmender Anzahl einheimischer Rhizobien deutlich abnimmt.

Abgesehen von den Standortfaktoren und dem Vorhandensein einheimischer Rhizobien trägt auch das Inokulum selbst zum Erfolg der Inokulation bei der Steigerung des Leguminosenertrags bei. In der Regel sind die einheimischen Rhizobien besser an die lokalen Bedingungen angepasst und die Einführung kommerzieller Inokula ist nicht immer so erfolgreich wie die Isolierung lokaler Stämme (Tena et al. 2016). Nach May und Bohlool (1983) wird daher eine bessere Wirksamkeit der Inokulation erreicht, wenn das Inokulum mehrere Rhizobienstämme enthält, damit es sich besser an verschiedene Bodentypen und Pflanzenunterschiede anpassen kann. Laut El- Wakeil und El-Sebai (2007) bewirkt eine Mischung aus verschiedenen Rhizobienstämmen eine bessere N₂-Fixierung als eine Einzelimpfung.

3. Exaktversuche

3.1. Gefäßversuch Hohenheim 2019-2020

3.1.1. Material und Methoden

Die Aussaat des Gefäßversuches fand am 24. April 2019 statt. Die Aussaat im Folgejahr musste auf einen späteren Zeitpunkt des Jahres geschoben werden und der Versuch wurde am 7. Oktober 2020 im Gewächshaus gestartet. Der Gefäßversuch in 2019 wurde aufgrund eines Glasschadens des Gewächshauses in einem mit Draht überdachten Bereiches eines Gewächshauses auf dem Campus der Universität Hohenheim durchgeführt, während der Versuch in 2020 im neuen Forschungsgewächshaus der Universität unter kontrollierten

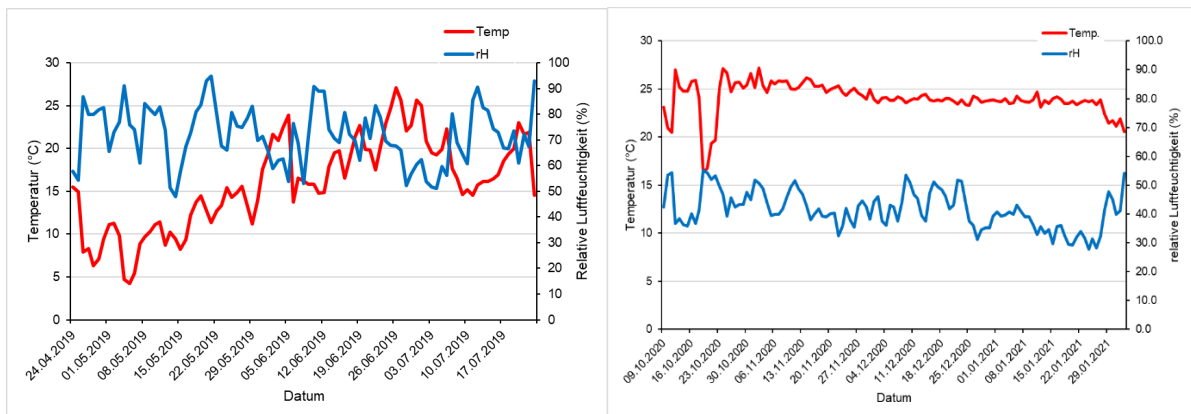


Abb. 1: Temperatur (rot) und relative Luftfeuchtigkeit (blau) während des Gefäßversuchsversuches in 2019 (links) und 2020 (rechts). Der Versuch 2019 fand unter freiem Himmel, ohne Beeinflussung von Temperatur und Niederschlag statt; 2020 wurde der Versuch in zu kontrollierenden Gewächshaus durchgeführt.

Bedingungen angelegt wurde. In beiden Versuchsjahren wurden die Isolat-Behandlungen als 9 Varianten (Isolate 1 – 6, eine ungeimpfte Kontrolle sowie Isolatmischung aus Kleewurzeln (nur in 2019) und Isolat 6 + Biokohle (nur in 2020)) in zwei Linsensorten untersucht. Insgesamt wurden in 2019 sechs verschiedene Isolate von Nadicom zur Verfügung gestellt, die aus Linsenzwurzeln gewonnen wurden sowie ein Isolat aus einer Rhizobienmischung, die aus Kleewurzeln gewonnen wurde. In 2020 wurde die Rhizobienmischung aus Klee durch eine neue Variante ausgetauscht, in der eine Biokohlemischung (BK) (bereitgestellt durch NovoCarbo) mit dem Isolat 6 beimpft wurde. Für den Gefäßversuch wurde ein durchlässiger Boden gemischt, der zu 3 Teilen aus gesiebtem Filderlehm Boden sowie 1 Teil Sand bestand. Um eine Kontamination mit anderen im Boden oder an den Oberflächen von Gefäßen und Untersetzern vorkommenden Bakterien zu verhindern wurden der Boden bei für 2h bei 80°C bedampft sowie alle Oberflächen mit 70%igen Isopronol desinfiziert. Auch für die Beimpfung des Saatgutes wurden alle verwendeten Pinzetten desinfiziert sowie zusätzlich mit Hitze behandelt. Für die Beimpfung des Linsensaatgutes sowie auch der Biokohle wurden diese für 5 Minuten in das flüssige Inokulum gelegt. Anschließend wurden pro Gefäß 8 Samen in einer Tiefe von 2-3 cm ausgesät und mit dem Boden bedeckt. In 2020 wurde die beimpfte Biokohle vor der Aussaat mit der oberen Bodenschicht in dem Gefäß vermengt und anschließend



Bild 1: Linsenpflanzen im Gewächshausversuch mit Softmesh als Stütze (links) und nach dem Entfernen des Softmeshs (ohne Stütze).

konnte das unbeimpfte Saatgut ausgesät werden. Bei den zwei ausgewählten Linsensorten handelt es sich um zwei Sorten, die vor allem in Baden-Württemberg, besonders auf der Schwäbischen Alb angebaut werden. Als kleinsamige Linsensorte hat die Sorte Anicia, eine

dunkelgrün-marmorierte Linse, im Durchschnitt ein höheres Ertragsniveau im Vergleich zu der Sorte Späth's Alblinse I ‚Die Große‘ (Dudda 1985; Pflaum et al. 2011). Diese Sorte wurde von dem Pflanzenzüchter Fritz Späth selektiert und aktuell durch die Öko-Erzeugergemeinschaft Alb-Leisa angebaut und vertrieben. In den Gefäßversuchen wurden die Linsen im Gegensatz zur landwirtschaftlichen Praxis, in der immer ein Anbau mit einer Stützfrucht - meist Getreide - stattfindet, als Reinsaat ausgesät. Als Rankhilfe/Stütze wurde um den Topf ein Schlauch aus SoftMesh an jeweils vier Bambusstäben befestigt, der die Linsenpflanzen in dem Topf stützt und aufrecht hält (Bild 1).

	6	11	10	12	13	13	11	1	4	7	5	11
	2	1	6	7	9	16	4	3	2	3	2	5
	14	8	7	15	5	12	9	16	15	16	3	9
	13	10	15	4	14	8	1	8	6	12	14	10
Reihenr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Schnittzeitpunkt	1	2	3	1	2	3	3	1	2	2	3	1

	8	7	5	9	5	11	1	14	1	8	16	10
	6	16	16	10	8	2	13	9	7	5	4	2
	3	1	9	14	4	12	15	6	14	3	5	12
	11	13	10	12	11	13	2	3	4	15	7	15
Reihenr.	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Schnittzeitpunkt	2	3	1	2	3	1	2	3	1	1	2	3

	12	14	7	8	11	15	14	9	6	8	12	16
	16	1	6	4	1	13	7	3	4	15	3	5
	9	10	11	14	2	5	5	15	16	6	7	10
	4	8	13	12	3	9	10	1	2	13	11	2
Reihenr.	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Schnittzeitpunkt	2	3	1	1	2	3	2	1	3	2	3	1

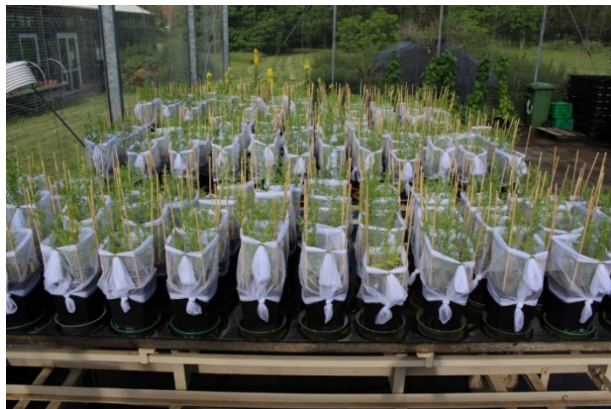


Bild 2: Beispiel für den Versuchsplan der Gefäßversuches (links) und Foto des Gefäßversuches (rechts) in 2019.

Während der Versuchsdauer wurden drei Biomasseschnitte zu den folgenden Entwicklungsstadien durchgeführt: 1. Termin: Zur Blüte, 2. Termin: Erste Hülsen voll



Bild 3: Auswaschen und Trennen der Linsenwurzeln per Hand in 2019.

entwickelt; 3. Termin: Erntereife. Insgesamt wurden in 2019 (Bild 2). und 2020 Versuche mit 144 Töpfen angelegt. Jede Isolat- und Sorten-Kombination wurden drei Mal wiederholt.



Bild 4: Nahaufnahme von Knöllchen einer Linsenwurzel in 2019.



Bild 5: Nahaufnahme einer Linsenpflanze mit Stützhilfe im Gefäßversuch in 2019.

Bei der Aufbereitung der Biomasseschnitte wurden die Pflanzenhöhe gemessen, die Pflanzenentwicklung bestimmt sowie die Frischmasseerträge von Spross und Wurzeln bestimmt. Ab dem zweiten Schnittzeitpunkt wurden zusätzlich noch die Hülsen pro Topf erfasst. In 2020 wurden zusätzlich bei den Hülsen auch noch die Unterscheidung in gefüllte und ungefüllte Hülsen vorgenommen und erfasst. Für die Aufbereitung der Wurzeln zur Bestimmung der Frischmasse und der Knöllchenanzahl und –

aktivität wurden diese unter laufendem Wasser vorsichtig von der anhaftenden Erde befreit und anschließend die Wurzeln der drei Pflanzen per Hand unter Wasser getrennt (Bild 3). Dabei wurde auf einen vorsichtigen Umgang mit der Linsenwurzel geachtet, um keine Knöllchen abzuwaschen. Pro Wurzel wurde die Knöllchenanzahl auf einer Fläche von insgesamt 12 cm² bestimmt. Dafür wurde die Wurzel im Wasser gleichmäßig verteilt um anschließend mit Hilfe eines Rahmes mit Feldern von 2 x 2 cm eine Fläche von 4 cm² im oberen, mittleren und unterem Bereich der Wurzel die Knöllchen zu erfassen (Bild 6). Die Aktivität der Knöllchen wurde durch das Einschneiden von zehn zufällig gewählten Knöllchen und die Beurteilung der Knöllchenfärbung bestimmt (rot=aktiv). Das Pflanzenmaterial (oberirdische Biomasse und Wurzeln) wurde gewogen, anschließend bei 60°C für 36 h und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurde die Trockenmasse durch Rückwaage bestimmt. Nach dem Trocknen der Hülsen wurden diese per



Bild 6: Ausschnitt einer Linsenwurzel von 2 x 2 cm zur Bestimmung der Knöllchenanzahl.

aktivität wurden diese unter laufendem Wasser vorsichtig von der anhaftenden Erde befreit und anschließend die Wurzeln der drei Pflanzen per Hand unter Wasser getrennt (Bild 3). Dabei wurde auf einen vorsichtigen Umgang mit der Linsenwurzel geachtet, um keine Knöllchen abzuwaschen. Pro Wurzel wurde die Knöllchenanzahl auf einer Fläche von insgesamt 12 cm² bestimmt. Dafür wurde die Wurzel im Wasser gleichmäßig verteilt um anschließend mit Hilfe eines Rahmes mit Feldern von 2 x 2 cm eine Fläche von 4 cm² im oberen, mittleren und unterem Bereich der Wurzel die Knöllchen zu erfassen (Bild 6). Die Aktivität der Knöllchen wurde durch das Einschneiden von zehn zufällig gewählten Knöllchen und die Beurteilung der Knöllchenfärbung bestimmt (rot=aktiv). Das Pflanzenmaterial (oberirdische Biomasse und Wurzeln) wurde gewogen, anschließend bei 60°C für 36 h und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurde die Trockenmasse durch Rückwaage bestimmt. Nach dem Trocknen der Hülsen wurden diese per

Hand ausgedroschen, die Samen manuell von den Hülsen getrennt und die Anzahl Linsensamen sowie das Samengewicht bestimmt.

3.1.1.1. Düngung und Pflanzenschutz

In dem Gefäßversuch 2019 wurde während der Hülsenentwicklung ein K-Mangel an den Linsenpflanzen (eingetrocknete Blattspitzen) (Bild 8) festgestellt, worauf eine zusätzliche Düngung mit 137 mg K_2SO_4 pro Gefäß durchgeführt wurde. In 2020 wurden in dem gesamten geschlossenen Gewächshausabteil Gelb- und Blaufeln verteilt und einen Schädlingsbefall zu frühzeitig zu erkennen und gezielt zu behandeln. Während des Gewächshausversuches in 2020 traten zwei Perioden mit einem Befall von Trauermücken auf, weswegen jeweils eine Pflanzenschutzmittelapplikation durch Gießen auf das Substrat der Töpfe erfolgte. Um einen erneuten Befall zu verhindern wurde die Bewässerungsmethode umgestellt - die Töpfe wurden nur noch durch das Gießen in die Untersetzer bewässert anstatt die obere Schicht des Substrates zu gießen. Aufgrund der des Trauermückenbefalls erlitten die Pflanzen durch die kurzfristige Schädigung der Wurzeln Trockenstress, weswegen die unteren Blätter der Linsen abgeworfen wurden.



Bild 7: Kalium-Mangel an einer Linsenpflanze in dem Gefäßversuch 2019.

3.1.1.2. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Gefäßversuche wurde mit dem Statistikprogramm SAS (Version 9.4) durchgeführt und es wurde die Prozedur „Proc mixed“ verwendet. Die Normalverteilung und Homogenität der Daten wurde visuell geprüft. Diese Voraussetzungen wurden bei den Parametern Trockenmasse der Wurzel, Hülsenanzahl, Linsenertrag und Knöllchenaktivität nicht erfüllt, weshalb die Daten durch log-Transformation vor der transformiert wurden. Bei den transformierten Daten basieren die Signifikanzen auf den transformierten Daten. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Daten wieder rücktransformiert. Die Buchstabendarstellung der Signifikanzen (für $p < 0,05$) wurde mit dem %mult-Macro von Piepho et al. (2012) erstellt.

3.1.2. Ergebnisse

Für den Linsenertrag pro Topf bei der Abschlussernte zur Reife der Linse konnten in keinem der Versuchsjahre signifikanten Unterschiede zwischen den Sorten, den Varianten und auch keine signifikanten Sorten*Varianten-Interaktionen festgestellt werden. Die Erträge wiesen über die zwei Versuchsjahre gemittelt eine große Variation mit hohen Standardfehlern auf, (Abb. 2)

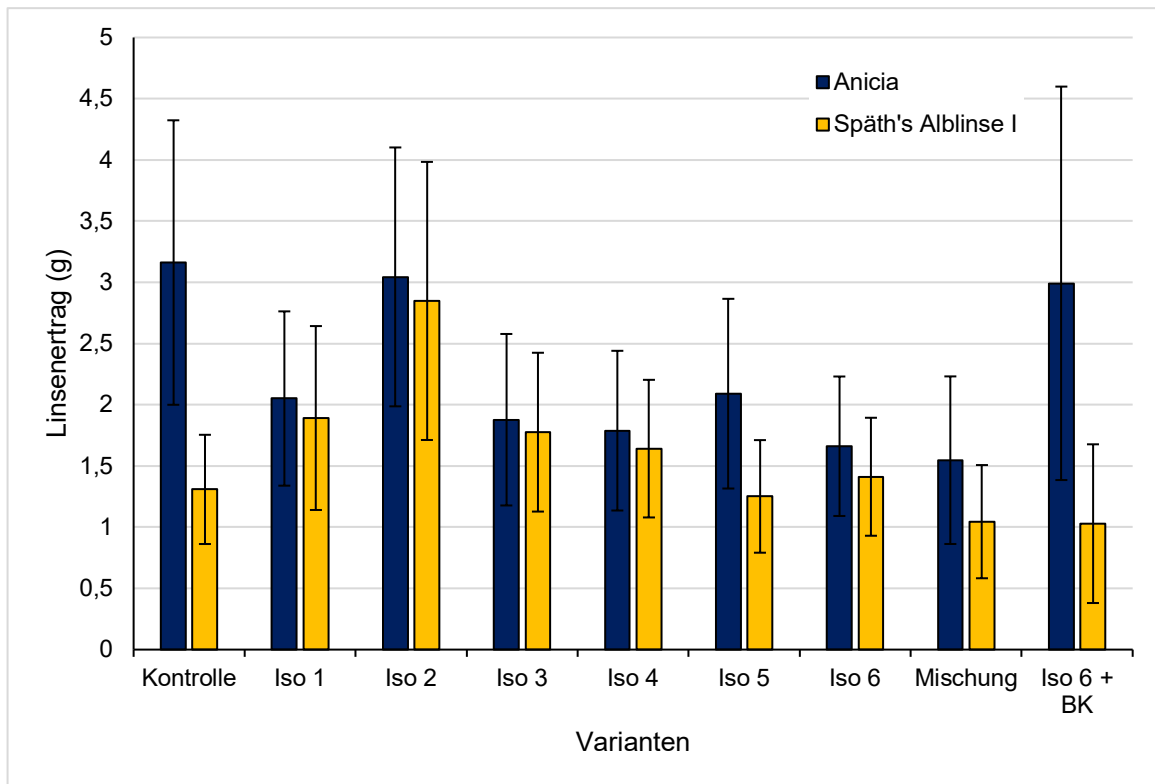


Abb. 2: Linsenertrag (g TM) der zwei Linsensorten und der neun Varianten (Kontrolle = ungeimpft, Iso 1 = Isolat 1, Iso 2 = Isolat 2, Iso 3 = Isolat 3, Iso 4 = Isolat 4; Iso 5 = Isolat 5, Iso 6 = Isolat 6, Mischung = Isolatmischung aus Kleewurzeln und Iso 6 + BK = Biokohle beimpft mit Isolat 6) gemittelt über die Versuchsjahre in 2019 und 2020. Die Ergebnisse der Varianten Mischung und Iso 6 + BK beziehen sich nur auf die einjährigen Daten aus 2019 bzw. 2020. Fehlerbalken: Standardfehler.

Die Hülsenanzahl pro Topf unterschied sich signifikant zwischen den Varianten. Im Mittel hatten Pflanzen der Variante Iso 2 signifikant mehr Hülsen pro Pflanze im Vergleich zu den Varianten Iso 1, Iso 3, Kontrolle sowie Iso 6 + BK (Abb. 2). Dabei wies die Variante Iso 6 + BK die geringste Hülsenanzahl (0,9 Hülsen pro Pflanze) auf. Weiterhin gab es signifikante Sorten*Schnitt-Interaktionen. Dabei erzielte Anicia beim dritten Schnitt mit 16,3 die höchste Hülsenanzahl im Gegensatz zu Späth's Albinse I (3,9) (Abb. 3). Beim zweiten Schnitt gab es keine Signifikanzen zwischen den beiden Sorten. Die im zweiten Jahr untersuchte Anzahl an Blindhülsen zeigte signifikante Sortenunterschiede. Die Sorte Anicia zeigte mit 15 Blindhülsen pro Topf signifikant mehr Hülsen ohne ausgebildetes Linsenkorn im Vergleich zu Späth's Albinse I mit zwei Blindhülsen pro Topf.

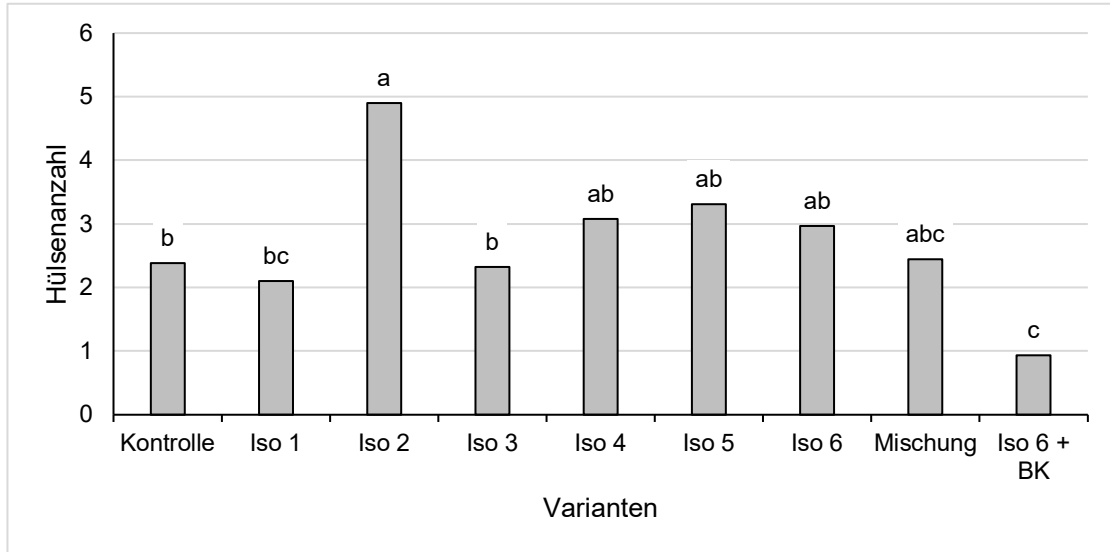


Abb. 4: Hülsenanzahl pro Topf der verschiedenen Varianten (Kontrolle = ungeimpft, Iso 1 =Isolat 1, Iso 2 = Isolat 2, Iso 3 = Isolat 3, Iso 4= Isolat 4; Iso 5 = Isolat 5, Iso 6 = Isolat 6, Mischung = Isolatmischung aus Kleewurzeln und Iso 6 + BK = Biokohle beimpft mit Isolat 6) gemittelt über die beiden Linsensorten (Anicia und Späth's Alblinse I) und die beiden Versuchsjahren (2019 und 2020) und die beiden Schnittzeitpunkte. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Varianten an ($p < 0,05$ (LSD)).

Die Anzahl der Linsenkörner pro Topf unterschied sich signifikant zwischen den beiden Linsensorten. Die Sorte Anicia hatte mit 76,8 Körnern signifikant mehr Körner gebildet im

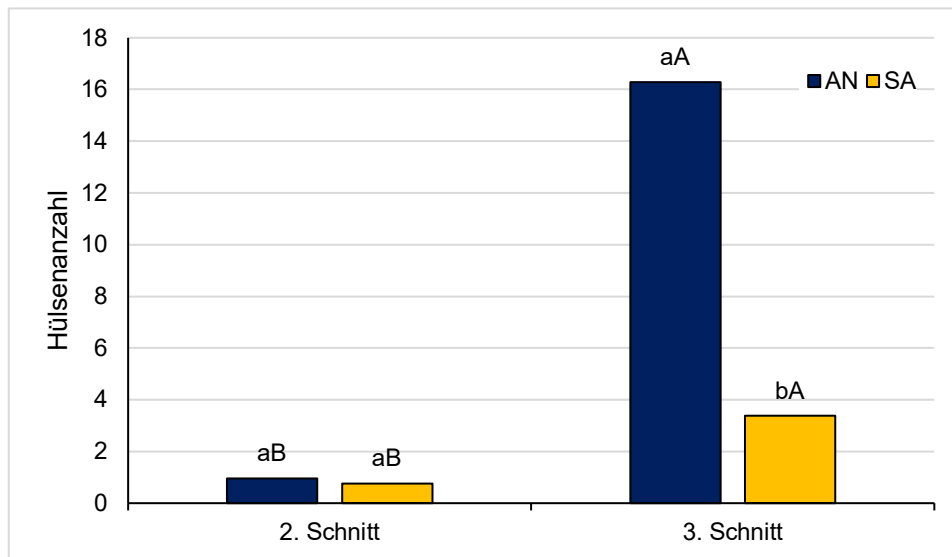


Abb. 3: Hülsenanzahl der zwei Linsensorten ('Anicia' & 'Späth's Alblinse I') zu den zwei verschiedenen Schnittzeitpunkten (2. Schnitt: Erste Hülsen voll entwickelt; 3. Schnitt: Erntereife) gemittelt über alle Varianten und die beiden Versuchsjahre (2019 und 2020). Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten eines Schnittzeitpunktes an und Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Schnittzeitpunkten innerhalb einer Sorte an für $p < 0,05$ (LSD). AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

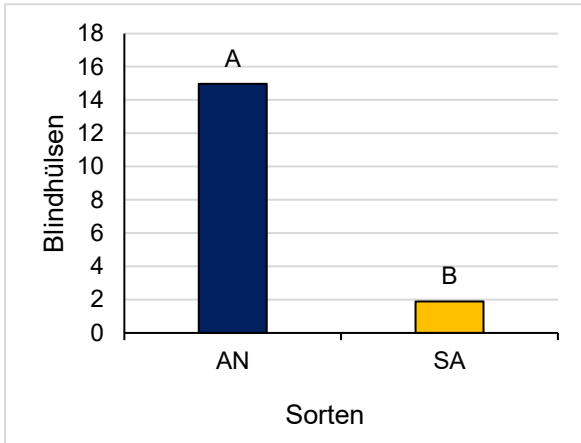


Abb. 5: Anzahl an Blindhülsen der zwei Linsensorten gemittelt über die neun Varianten in 2020. Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten für $p < 0,05$ (LSD) an. AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

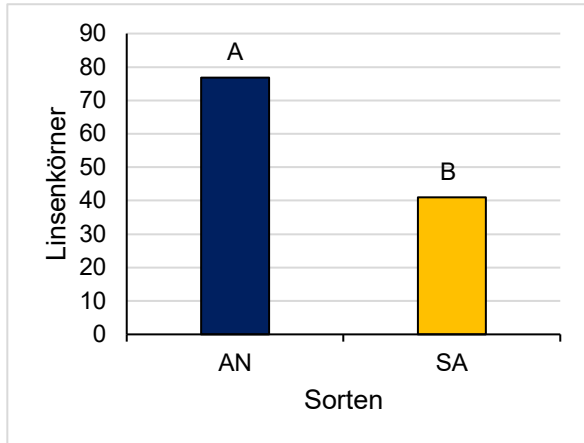


Abb. 6: Anzahl der Linsenkörner der zwei Linsensorten über neun Varianten und zwei Versuchsjahre gemittelt. Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten für $p < 0,05$ (LSD) an. AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

Vergleich zu der Sorte Späth's Alblinse I (41 Körner). Keine Unterschiede wurden zwischen den Varianten und der Sorten*Varianten-Interaktion festgestellt.

Das Sprossgewicht der Linsenpflanzen pro Topf unterschied sich signifikant zwischen den Varianten und es konnte eine signifikante Sorte*Schnitt-Interaktion festgestellt werden. Innerhalb der Sorten wurden das höchste Sprossgewicht (g TM) bei der Variante Iso 6 + BK erreicht (Abb. 7). Die Variante unterschied sich aber nur signifikant von der Kontrolle und der Mischung. Für die Sorte*Schnitt-Interaktion konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Sorten in dem ersten und zweiten Schnitt gefunden werden (Abb. 3). In dem dritten Schnitt wurden mit 7,63 g TM signifikanten höherer Sprossgewichte für Anicia erreicht im Vergleich zu Späth's Alblinse I (8,86 g TM). Weiterhin wurde festgestellt, dass die

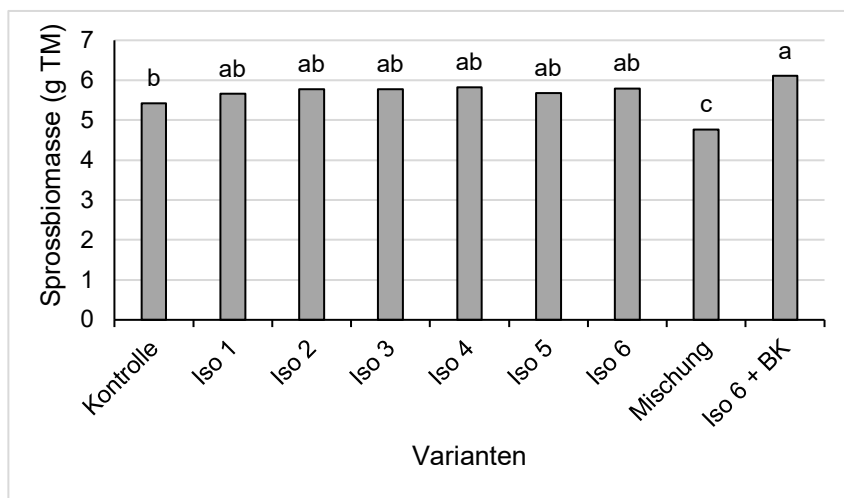


Abb. 7: Sprossbiomasse (g TM) in den verschiedenen Varianten (Kontrolle = ungeimpft, Iso 1 = Isolat 1, Iso 2 = Isolat 2, Iso 3 = Isolat 3, Iso 4 = Isolat 4; Iso 5 = Isolat 5, Iso 6 = Isolat 6, Mischung = Isolatmischung aus Kleewurzeln und Iso 6 + BK = Biokohle beimpft mit Isolat 6) gemittelt über die Sorten und die Versuchsjahre 2019 und 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante

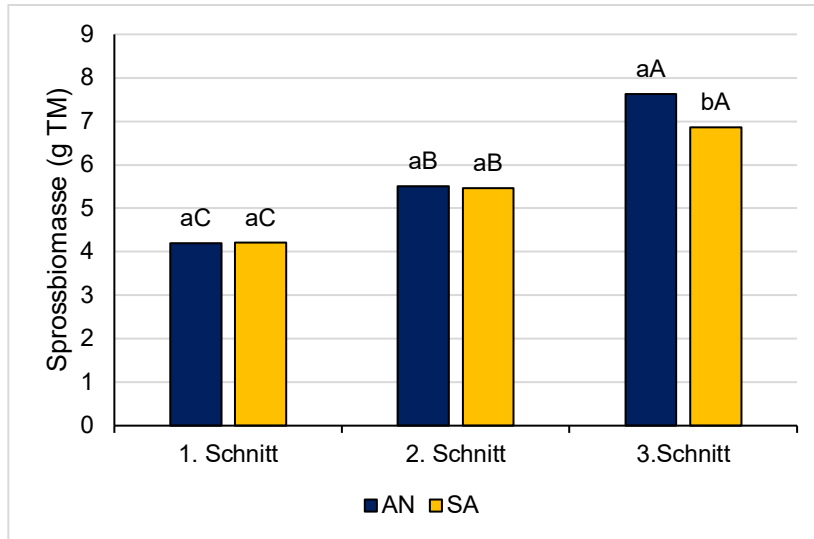


Abb. 8: Sprossbiomasse (g TM) der zwei Linsensorten ('Anicia' & 'Späth's Alblinse I') bei drei verschiedenen Schnittzeitpunkten (1.Schnitt: Beginn Blüte; 2. Schnitt: Erste Hülsen voll entwickelt; 3. Schnitt: Erntereife) in 2019 und 2020 und für alle Isolate gemittelt. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten eines Schnittzeitpunktes an und Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Schnittzeitpunkten innerhalb einer Sorte an für $p < 0,05$ (LSD). AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

Sprosstrockenmasse für beide Linsensorten im Laufe der Versuchsdauer signifikant zugenommen hat und die höchsten Sprosserträge beim dritten Schnitt erzielt wurden.

Signifikante Unterschiede zwischen den drei Schnittzeitpunkten sowie den beiden Linsensorten wurden bei der Pflanzenhöhe im Topfversuch festgestellt. Die Pflanzenhöhe nahm im Laufe der Versuchsdauer zu und alle Schnitte unterschieden sich signifikant voneinander. Die größten Linsenpflanzen wurden beim dritten Schnitt mit einer Höhe von 67 cm gemessen. Zwischen den Sorten erreichte Späth's Alblinse I die höchste Wuchshöhe (64 cm), wohingegen Anicia mit 56,7 cm Höhe signifikant kleiner war.

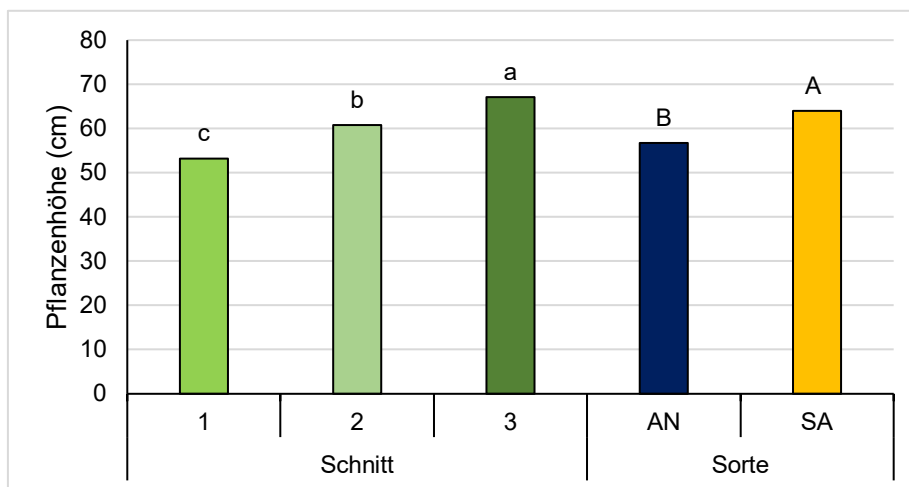


Abb. 9: Pflanzenhöhe (cm) über die drei Schnittzeitpunkte und der zwei Linsensorten und 2019 und 2020. AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

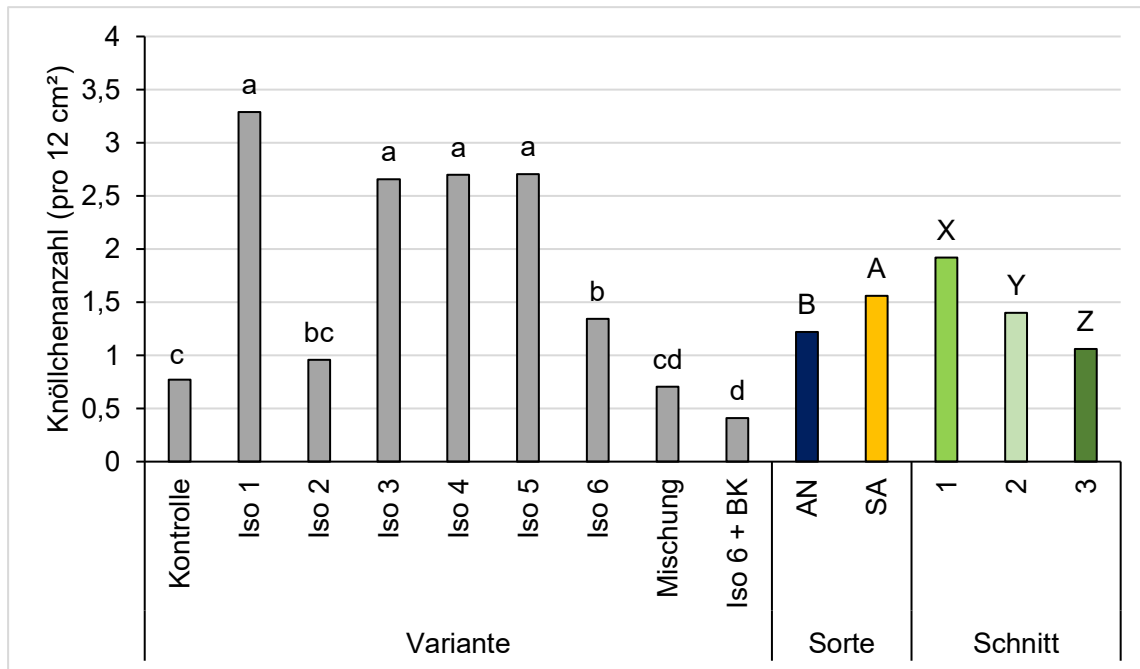


Abb. 10: Knöllchenanzahl je Wurzel (pro 12 cm²) der neun Varianten (Kontrolle = ungeimpft, Iso 1 =Isolat 1, Iso 2 = Isolat 2, Iso 3 = Isolat 3, Iso 4= Isolat 4; Iso 5 = Isolat 5, Iso 6 = Isolat 6, Mischung = Isolatmischung aus Kleewurzeln und Iso 6 + BK = Biokohle beimpft mit Isolat 6), zwei Linsensorten sowie zu den drei Schnittzeitpunkten über die Versuchsjahre 2019 und 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Varianten an, Großbuchstaben (ABC) signifikante Unterschiede innerhalb einer Sorte und XYZ signifikante Unterschiede zwischen den Schnittzeitpunkten für p<0,05 (LSD). AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

Bei der Wurzelbiomasse der Linsenpflanze wurden signifikante Sorte*Schnitt-Interaktionen festgestellt. Für beide Sorten wurde bei dem 1. Schnitt die höchsten Wurzelgewichte gemessen. Dabei unterschieden sich jedoch auch die Sorten voneinander. Späth's Alblinse I erzielte ein signifikant höheres Wurzelgewicht (0,59 g TM) im Vergleich zu Anicia (0,39 g TM). Bei den zweiten und dritten Schnitten konnten keine Unterschiede zwischen den Sorten bestimmt werden.

Die Knöllchenanzahl unterschied sich signifikant zwischen den Varianten, den beiden Sorten sowie den drei Schnittzeitpunkten und es wurden keine signifikanten Sorte*Schnittzeitpunkt Interaktionen festgestellt. Innerhalb der neun Varianten hatten Isolat 1 und die Isolate 3-5 die höchste Anzahl an Knöllchen pro Wurzel auf einer Fläche von 12 cm². Am wenigsten Knöllchen (0,5 pro 12 cm² Wurzelfläche) wurden bei der Applikation von Isolat 6 auf Biokohle gezählt, die Anzahl unterschied sich nicht signifikant von der Variante Mischung. Bei den Sorten hatte Späth's Albinse signifikant mehr Knöllchen pro Wurzel als Anicia und mit zunehmenden Pflanzenentwicklung nahm die Knöllchenanzahl signifikant ab. Die meisten Knöllchen konnten zum Blühbeginn (1. Schnitt) gezählt werden und die geringste Anzahl zur Erntereife.

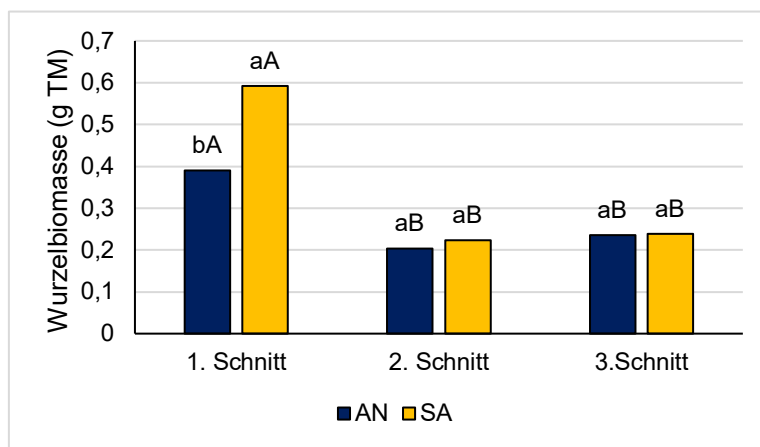


Abb. 11: Sprossbiomasse (g TM) der zwei Linsensorten (Anicia & Späth's Albinse I) bei drei verschiedenen Schnittzeitpunkten (1.Schnitt: Beginn Blüte; 2. Schnitt: Erste Hülsen voll entwickelt; 3. Schnitt: Erntereife) gemittelt über alle Varianten und die beiden Versuchsjahre (2019 und 2020). AN = Anicia, SA = Späth's Albinse I. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten eines Schnittzeitpunktes an und Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Schnittzeitpunkten innerhalb einer Sorte an für $p < 0,05$ (LSD).

Signifikante Unterschiede bei der Knöllchenaktivität konnten bei der Sorte*Varianten-Interaktion bestimmt werden. Innerhalb der Sorte Anicia wurde die höchste Knöllchenaktivität bei den Isolaten 1,3 und 4 festgestellt. Die geringste Aktivität innerhalb der Sorte zeigte Isolat 6 + BK. Die Sorte Späth's Alblinse I hatte die höchste Knöllchenaktivität in den Varianten mit den Isolaten 1, 3,4 und 5. Die geringste Aktivität trat bei Isolat 6 auf.

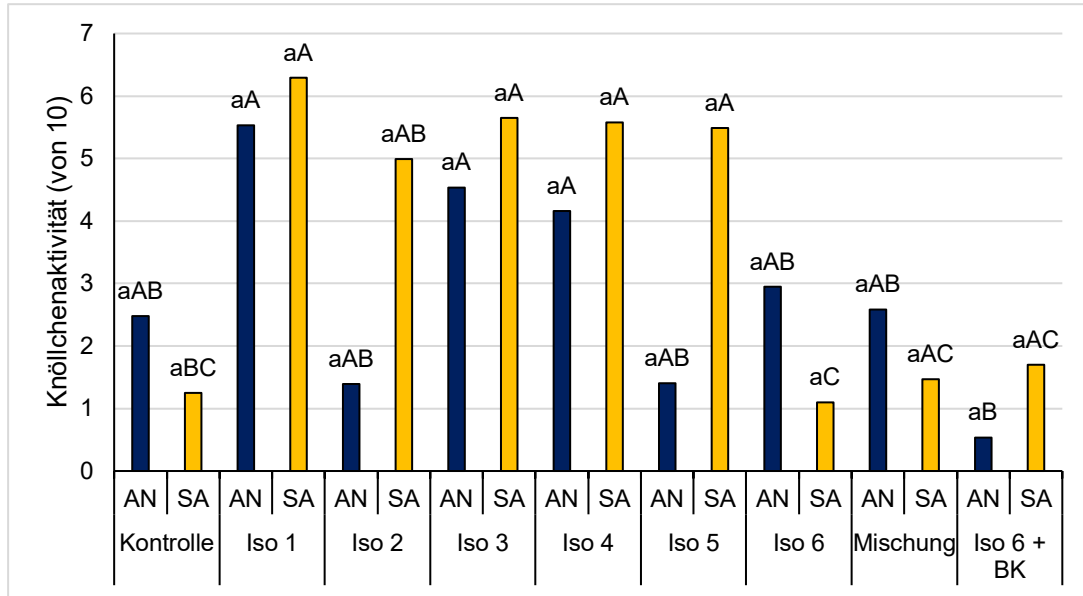


Abb. 12: Knöllchenaktivität zur Blüte der zwei Linsensorten und den neun Varianten (Kontrolle = ungeimpft, Iso 1 = Isolat 1, Iso 2 = Isolat 2, Iso 3 = Isolat 3, Iso 4 = Isolat 4; Iso 5 = Isolat 5, Iso 6 = Isolat 6, Mischung = Isolatmischung aus Kleewurzeln und Iso 6 + BK = Biokohle beimpft mit Isolat 6) gemittelt über die zwei Versuchsjahre 2019 und 2020. Die Ergebnisse der Varianten Mischung und Iso 6 + BK beziehen sich nur auf die einjährigen Daten aus 2019 bzw. 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten in einer Variante an und Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Varianten innerhalb einer Sorte an für $p < 0,05$ (LSD). AN = Anicia, SA = Späth's Alblinse I.

3.1.3. Diskussion

Die Beimpfung mit den einzelnen Rhizobien-Isolaten führte in den zwei Gefäßversuchen zu keinem signifikant höheren Linsenertrag. Problematisch bei der Beurteilung der Erträge sind die hohen Standardfehler in den Gefäßversuchen innerhalb der Varianten sowie zwischen den Versuchsjahren. Im zweiten Versuchsjahr wurde deutlich weniger Ertrag gebildet, außerdem trat eine sortenspezifische Verzögerung der Ertragsbildung aufgrund der nicht optimalen Gewächshausbedingungen ein. Der zweite Gefäßversuch wurde während der Wintermonate durchgeführt, wodurch die Einstellungen der Photoperiode, Tag/Nacht-Amplitude und Lichtintensität einen deutlich höheren Einfluss auf den Versuchsverlauf und die Ertragsbildung hatten als zuvor angenommen. Vor allem die Tageslänge führte zu den Unterschieden in den Zeitpunkten bei den beiden Sorten in 2020. In den Sortenversuchen innerhalb des BLE Projektes „LinSel“ zeigte sich eine Abhängigkeit der Linsensorten von der Photoperiode was in unserem Versuch zu einer 2-wöchigen Verzögerung während des über Winter laufenden Versuches führte.

Bei den meisten erfassten Parametern konnten vor allem Sortenunterschiede festgestellt werden. Außerdem hatten die Zeitpunkte der Probenahme einen großen Einfluss auf die Ergebnisse. Zwar konnte in unserer Arbeit ein Einfluss der Varianten auf die Knöllchenanzahl gefunden werden, eine erhöhte Knöllchenanzahl führte jedoch nicht zu einem signifikant höherem Ertrag. Umgekehrt hatte in dem Gefäßversuch Isolat 2 trotz eine geringe Knöllchenanzahl einen tendenziell einen höheren Linsenertrag, allerdings war dieser Ertragsunterschied nicht signifikant. In anderen Studien konnte festgestellt werden, dass die Knöllchenanzahl keine Auskunft über die Wirkung des Isolates als solches gibt, sondern nur über die größere Wirkung der der spezifischen Rhizobien -Inokulation (Beck et al. 1993; Shisanya 2002). Die vorhandenen Wurzelknöllchen in der Kontrolle zeigten aber auch, dass die getroffenen Vorsichtsmaßnahmen nicht ausreichten, um eine Kontamination mit anderen Isolaten der anderen Varianten oder bereits im Boden vorkommenden Rhizobiumbakterien zu verhindern. Gründe könnten unter anderem eine Kontamination durch Spritzwasser beim Gießen oder durch den Regen (in 2019) sein, wodurch die Rhizobien von einem Gefäß in das nächste übertragen worden sein konnten. Weiterhin könnte die Bedampfung des Bodens nicht ausreichend gewesen sein um alle im vorkommenden Bakterien zu töten. Weiterhin könnten aber auch an den Samen vorkommende Bakterien Grund für die Knöllchenbildung in der Kontrolle sein. Die Linsensamen wurden vor der Aussaat und Beimpfung nicht desinfiziert. Aus diesem Grund wurde ein zusätzlicher Gefäßversuch durchgeführt. In diesem wurden unterschiedliche Desinfektionsmethoden des Bodens sowie des Saatgutes untersucht (s. Exkurs I).

Eine Beimpfung des Linsensaatgutes mit verschiedenen Isolaten führte trotz höherer Knöllchenanzahl und hoher Knöllchenaktivität in verschiedenen Varianten zu keinem Mehrertrag der Linsen in den Gefäßversuchen. Basierend auf den Ergebnissen des Gefäßversuches, konnte noch kein Isolat unter den kontrollierten Bedingungen überzeugen. Weitere Versuche Freiland sind daher notwendig und wichtig, um eine Aussage über die Wirkung der Isolat-Behandlungen auf verschiedene Linsenparameter unter Feldbedingungen machen (Kapitel 3.4)

3.2. Exkurs I: Desinfektionsversuch – Gefäßversuch im Gewächshaus

3.2.1. Material und Methoden

Dieser Gefäßversuch wurde 2020 im Gewächshaus durchgeführt. Der für die Gefäße verwendete Boden bestand zu 75 % aus gesiebter Erde (Filderlehm Boden) und zu 25 % Sand. Der Versuch wurde 2-faktoriell mit 3 Wiederholungen in einem vollständig randomisierten Versuchsdesign durchgeführt. Insgesamt gab es drei Varianten der Bodendesinfektion (1. Kontrolle – unbehandelt; 2. Bedampft – Der Boden wurde für 1h bei 80°C im Ofen bedampft; 3. Sterilisiert – Der Boden wurde 2 Stunden bei 121°C im Autoklaven autoklaviert.) und drei Varianten der Saatgutdesinfektion (Unbehandelt, Alkohol (70% Isopropanol) sowie eine Kombination aus Alkohol (70% Isopropanol) und Bleiche (NaOH)). Als Linsensorte wurde die Sorte „Anicia“ gewählt, da diese auch in allen anderen Versuchen (Exaktversuch Ihinger Hof, weitere Gefäßversuche und in den On-Farm-Versuchen) verwendet wird.



Bild 8: Überblick über den Desinfektionsversuch nach der Aussaat (links) und vor der Abschlussernte zur Linsenblüte (rechts) in 2020.

Der Versuch wurde am 04.02.2020 angelegt und nach 7 Woche zur Blüte der Linse am 26.03.2020 geerntet. Ausgesät wurden fünf Samen pro Topf, die nach 17 Tagen auf eine Pflanze pro Topf vereinzelt wurden. Vor der Aussaat wurden alle Töpfe, Untersetzer und für den Versuch verwendeten Materialien mit 70% Isopropanol desinfiziert um eine Kontamination mit anderen auf den Oberflächen befindlichen Bakterien zu verhindern. Weiterhin wurden auch Hände sowie die verwendeten Handschuhe immer desinfiziert damit es zu keiner Übertragung der Rhizobien zwischen den Varianten kam.

Bei der Ernte wurden folgende Parameter erfasst: Frisch- und Trockenmasse von Spross und Wurzeln sowie die Knöllchenanzahl pro Pflanze. Für die Knöllchenbestimmung pro Pflanze wurde ein Rahmen angefertigt, der die Wurzeloberfläche in 36 gleich große Quadrate aufgeteilt hatte.

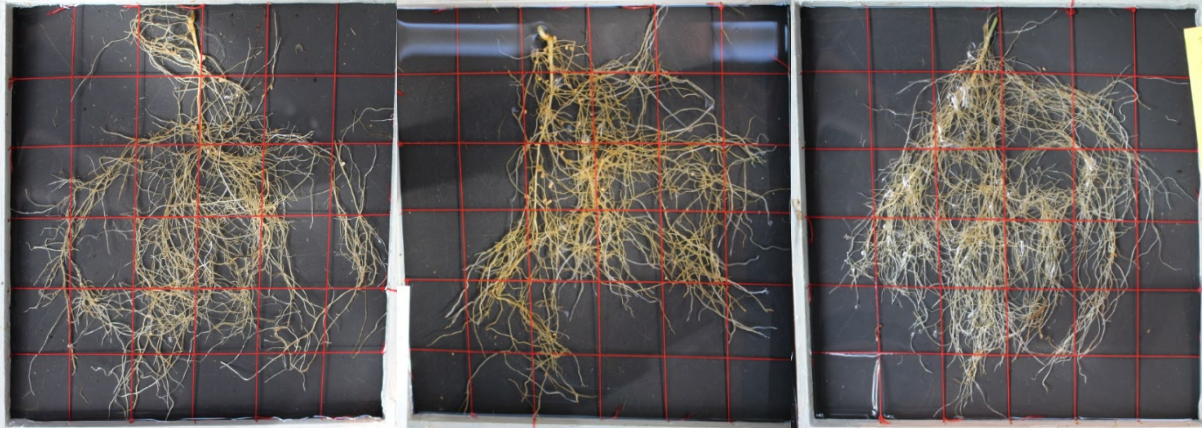


Bild 9: Bestimmung der Knöllchenanzahl pro Pflanze mittels Zählrahmen. Links: Bedampft Boden und unbehandelter Linsensamen, Mitte: Unbehandelter Boden und mit Isopropanol behandelter Linsensamen; Rechts: Autoklavierter Boden und mit NaOH und Isopropanol behandelter Linsensamen in 2020.

3.2.1.1. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SAS (Version 9.4) durchgeführt. Für die statistische Auswertung wurde die Prozedur „Proc Mixed“ verwendet. Die Normalverteilung und Homogenität der Daten wurde visuell geprüft. Waren die Voraussetzungen für die Durchführung einer Varianzanalyse nicht erfüllt, wurden die Daten durch log Transformation (TM Wurzel und Knöllchenanzahl) vor der statistischen Analyse transformiert. Bei den transformierten Daten basieren Signifikanzen auf den transformierten Daten. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Daten wieder rücktransformiert. Die Buchstabendarstellung der Signifikanzen wurde mit dem %mult Macro von Piepho et al. (2012) erstellt.

3.2.2. Ergebnisse

Bei der Frischmasse der Pflanze (Spross) wurden signifikante Unterschiede zwischen den Bodenbehandlungen gefunden. Bei dem unbehandelten sowie dem autoklavierten Boden bildeten die Pflanzen signifikant mehr frische Biomasse im Vergleich zu dem bedampften Boden. Innerhalb der Varianten der Saatgutdesinfektion konnten keine Signifikanzen für die Frischmasse der Pflanze festgestellt werden. Im Gegensatz dazu konnten bei der Trockenmasse signifikante Unterschiede zwischen den Saatgutbehandlungen gefunden werden. Die unbehandelte Variante hatte mit 0,27 g die geringste TM pro Pflanze, gefolgt von Isopropanol mit 0,32 g, durch Isopropanol + NaOH wurde die höchste TM pro Pflanze erreicht (0,43 g).

Bei der FM der Wurzel konnten wie bei der Frischmasse der Pflanze signifikante Unterschiede zwischen den Bodenbehandlungen festgestellt werden. Der autoklavierte Boden hatte signifikant höhere FM im Vergleich zu den beiden anderen Varianten. Bei der Trockenmasse der Wurzeln konnten keine signifikanten Unterschiede für die beiden Faktoren und deren Interaktion gefunden werden.

Bei der Knöllchenanzahl wurden Signifikanzen bei der Bodenbehandlung gefunden. Der unbehandelte Boden hatte dabei signifikant mehr Knöllchen (53,3) im Vergleich zu dem bedampften (3,9) und autoklavierten Boden (0,7).

Tabelle 1: Biomasseerträge von Pflanze (Spross) und Wurzeln sowie Knöllchenanzahl pro Pflanze der Linsensorte Anicia in 2020.

Behandlungen		FM Pflanze		TM Pflanze		FM Wurzel		TM Wurzel <small>*Rücktransformierte Daten</small>		Knöllchenanzahl <small>*Rücktransformierte Daten</small>					
Boden	Saatgut	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler	Mittelwert	Standardfehler				
Autoklaviert	Unbehandelt	3.10	0.46	0.31	0.09	b	3.70	0.75	0.18	0.85	0.10	0.63			
	Isopropanol	3.22	0.46	A	0.33	0.09	ab	4.25	0.75	A	0.22	0.94	0.83	1.82	B
	Isopropanol+ NaOH	3.26	0.46	0.31	0.09	a	3.58	0.75	0.16	0.80	1.47	2.42			
Unbehandelt	Unbehandelt	2.96	0.46	0.28	0.09	b	1.72	0.75	0.12	0.69	41.83	12.94			
	Isopropanol	3.40	0.46	A	0.38	0.09	ab	1.99	0.75	B	0.15	0.76	46.16	13.59	A
	Isopropanol+ NaOH	3.74	0.46	0.55	0.09	a	3.52	0.75	0.22	0.94	74.67	17.28			
Bedampft	Unbehandelt	1.74	0.46	0.21	0.09	b	2.84	0.92	0.22	0.93	13.05	7.23			
	Isopropanol	1.86	0.46	B	0.24	0.09	ab	1.43	0.75	B	0.15	0.77	4.01	4.00	B
	Isopropanol+ NaOH	3.02	0.46	0.41	0.09	a	2.64	0.75	0.15	0.77	0.10	0.63			

Typ 3 Tests der festen Effekte																	
Effekt	Num DF	Den DF	F-Wert	Pr > F		F-Wert	Pr > F	n.s.	F-Wert	Pr > F	*	F-Wert	Pr > F	n.s.	F-Wert	Pr > F	***
Boden (B)	2	18	7.04	0.006	**	2.09	0.156	n.s.	4.57	0.028	*	0.33	0.724	n.s.	44.61	<0.0001	***
Saatgut (S)	2	18	2.6	0.105	n.s.	3.8	0.045	*	0.81	0.464	n.s.	0.01	0.986	n.s.	0.05	0.950	n.s.
B*S	4	18	0.69	0.612	n.s.	1.07	0.405	n.s.	1.26	0.329	n.s.	1.37	0.295	n.s.	2.64	0.068	n.s.

Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Saatgutbehandlungen und Großbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen des Bodens an für p<0,05.

3.2.3. Diskussion

Im Gefäßversuch des Kapitels 3.1 wurden in der Kontrolle, in der das Linsensaatgut nicht mit einem Isolat behandelt wurde, trotz der Desinfektion des Bodens durch Bedampfen Knöllchen an den Linsenwurzeln gefunden. In diesem Versuch (Kapitel 3.2) wurde deutlich, dass die Behandlung des Bodens einen sehr großen Einfluss auf die natürlich im Boden vorkommenden Rhizobiumbakterien hat und somit auf die Knöllchenanzahl pro Linsenwurzeln. Eine Bedampfung des Bodens führte zwar zu einer Reduzierung der Rhizobienanzahl, diese war jedoch nicht ausreichend. Erst die Autoklavierung des Bodens mit Temperaturen von 121°C für 2 Stunden führte zu einer nahezu vollständigen Abtötung der im Boden vorkommenden Rhizobiumbakterien und es konnten nahezu keine Knöllchen mehr erfasst werden. Die Saatgutbehandlung zeigte im Vergleich dazu nur eine geringe bis keine Wirkung, was darauf hindeutet, dass das Vorkommen von Rhizobiumbakterien an den Linsensamen

begrenzt ist und die Bakterien des Bodens hauptsächlich für die Knöllchenbildung an den Linsenwurzeln verantwortlich sind.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Bedampfung des Bodens die Anzahl der im Boden vorkommenden Bakterien reduzieren kann, diese jedoch nicht ausreichend ist und Knöllchen gebildet werden können. Vor allem für Gefäßversuche, wie in Kapitel 3.1, in denen die Wirkung von verschiedenen Bakterien untersucht werden ist eine Autoklavierung des Bodens notwendig, um eine Kontamination mit anderen Bakterienstämmen auszuschließen. Eine zusätzliche Saatgutbehandlung ist für die Durchführung von Gefäßversuchen laut unseren Ergebnissen zwar grundsätzlich nicht notwendig, sollte aber trotzdem durchgeführt werden um eine Kontamination mit samengebundenen Rhizobien auszuschließen.

3.3. Exkurs II: Untersuchung der Knöllchenbildung – Gefäßversuch im Gewächshaus

3.3.1. Material und Methoden

3.3.1.1. Versuchsaufbau und -durchführung

Der Gefäßversuch wurde im Jahr 2020 unter Gewächshausbedingungen auf dem Campus der Universität Hohenheim durchgeführt. In dem Versuch wurden zwei Linsensorten (Anicia und Späth's Alblinse I“) an sieben Terminen in einem Abstand von einer Woche geerntet um den zeitlichen Verlauf der Knöllchenbildung zu erfassen. Das Versuchsdesign war eine vollständig randomisierte Blockanlage mit drei Wiederholungen pro Sorte und Termin. Zu Beginn wurden pro Topf acht Linsensamen ausgesät und nach zwei Wochen auf die endgültige Pflanzenanzahl von drei Pflanzen pro Topf ausgedünnt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Pflanzen einen möglichst großen Abstand voneinander hatten und nicht zu dicht im Topf standen. Der erste Termin zur Probenahme fand 4 Wochen nach Aussaat am 21.02.20 statt. Im wöchentlichen Rhythmus erfolgten die weiteren Probenahmen mit der letzten Ernte sieben Wochen nach Beginn der Probenahme 02.04.20.

Zu den jeweiligen Probenahmeterminen wurden die Pflanzenentwicklung (BBCH), die Pflanzenhöhe, Frisch- und Trockenmasse von Spross und Wurzeln, Knöllchenanzahl pro Pflanzenwurzel sowie die Aktivität der Knöllchen bestimmt. Die Knöllchenanzahl pro Wurzel wurde mit Hilfe eines Rasters mit 36 Flächen bestimmt. Dort konnten innerhalb der einzelnen Flächen (2 x 2 cm) die Knöllchen genau gezählt werden. Zur Auswertung wurde die Knöllchenanzahl der ganzen Wurzel aufsummiert. Die Aktivität der Knöllchen wurde durch das zufällige Auswählen und Aufschneiden von 10 Knöllchen pro Wurzel bestimmt. Bei einer roten/rosa Färbung wurde das Knöllchen als aktiv gewertet. Zur Bestimmung der Trockenmasse wurden die Spross- und Wurzelproben bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3.3.1.2. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SAS (Version 9.4) durchgeführt. Die Normalverteilung und Homogenität der Daten wurde visuell geprüft. Waren diese Voraussetzungen für eine Varianzanalyse nicht erfüllt, wurden die Daten durch log-Transformation (Frisch- und Trockenmasse von Spross und Knöllchenaktivität) oder sqrt-Transformation (Knöllchenanzahl) vor der statistischen Analyse transformiert. Bei den transformierten Daten basieren die Signifikanzen auf den transformierten Daten. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Daten wieder rücktransformiert. Für die statistische Auswertung wurde die Prozedur „Proc Mixed“ verwendet. Die Buchstabendarstellung der Signifikanzen wurde mit dem %mult Macro von Piepho et al. (2012) erstellt.

3.3.2. Ergebnisse

Bei der Pflanzenhöhe, Frischmasse Wurzel, Trockenmasse Spross und Wurzel und Trockensubstanz konnten signifikante Interaktion von Sorte*Termin festgestellt werden. Die Pflanzenhöhe nahm im Laufe des Versuches bei beide Sorten und die größten Pflanzen wurden bei dem letzten Termin 10 Wochen nach Aussaat festgestellt. Beim Sortenvergleich waren die Pflanzen der Sorte Späth's Alblinse I im Vergleich zu Anicia in dem Zeitraum von dem 3. und 4. Termin größer. Am letzten Termin jedoch erreichte Anicia mit 69 cm eine signifikant höhere Pflanzenhöhe im Vergleich zu Späth's Alblinse I mit 58 cm. Die Sprosstrockenmasse nahm bei beiden Sorten während der Versuchsdauer zu und die Trockenmasse unterschieden sich signifikant zwischen den einzelnen Messterminen. Beim Sortenvergleich konnte bei den ersten beiden Terminen sowie bei der 4. Messung signifikante Unterschiede festgestellt werden – Anicia hatte signifikant geringere Trockenmasseerträge im Vergleich zu Späth's Alblinse I.

Bei der Wurzelfrischmasse wurden die höchsten Werte bei Anicia 8 Wochen nach Versuchsbeginn (11,9 g) und bei Späth's Alblinse I 7-8 Wochen nach Versuchsbeginn festgestellt (15,4 - 17,2 g). Die Trockenmasse der Wurzeln nahmen bei Anicia im Laufe des Versuches zu und die höchsten Werte von 1,15 g konnten bei dem 7. Termin festgestellt werden. Für Späth's Alblinse I wurden die höchste Trockenmasse an den Terminen 5 und 7 erreicht. Während der Versuchsdauer unterschieden sich die beiden Linsensorten ab dem 4ten Termin signifikant voneinander. Am letzten Erntetermin konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Sorten gefunden werden.

EIP Agri Abschlussbericht – OPG RhizoLinse (Projektnr. 192018) – Universität Hohenheim

Tabelle 2: Pflanzenhöhe sowie Frisch- und Trockenmasse von Linsenspross und Wurzel zu den verschiedenen Messzeitpunkten in dem Gewächshausversuch 2020.

Zeitpunkt der Messung	Pflanzenhöhe (in cm)				Frischmasse Spross (g)		Trockenmasse Spross (g)				Frischmasse Wurzel (g)				Trockenmasse Wurzel (g)												
	Anicia		Späth's Alblinse I				Anicia		Späth's Alblinse I		Anicia		Späth's Alblinse I		Anicia		Späth's Alblinse I										
	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler									
4 Wochen n. Versuchsbeginn (VB)	24.2	±2.54	eA	27.2	±2.54	dA	1.99	±0.18	g	0.24	±0.03	gB	0.33	±0.05	gA	1.81	±1.17	dA	3.12	±1.17	dA	0.15	±0.15	dA	0.15	±0.13	dA
5 Wochen n. VB	25.4	±2.54	eA	29.6	±2.54	dA	3.38	±0.31	f	0.39	±0.053	fB	0.57	±0.08	fA	3.91	±1.7	cdA	5.75	±1.17	cdA	0.21	±0.13	cdA	0.29	±0.13	dA
6 Wochen n. VB	29.1	±2.54	eB	39.5	±2.54	cA	6.38	±0.59	e	0.73	±0.10	eA	0.90	±0.12	eA	6.16	±1.17	bcA	8.61	±1.17	bcA	0.30	±0.13	cdA	0.56	±0.13	cA
7 Wochen n. VB	37.1	±2.54	dB	47.1	±2.54	bA	12.7	±1.16	d	1.42	±0.19	dB	2.39	±0.32	dA	8.16	±1.17	bcB	15.4	±1.17	aA	0.48	±0.13	cB	0.90	±0.13	bA
8 Wochen n. VB	44.6	±2.54	cA	48.7	±2.54	bA	17.3	±1.58	c	2.76	±0.37	cA	3.33	±0.45	cA	11.9	±1.17	aB	17.2	±1.17	aA	0.81	±0.13	bB	1.20	±0.13	aA
9 Wochen n. VB	59.0	±2.54	bA	53.2	±2.54	abA	28.8	±2.64	b	5.91	±0.80	bA	4.76	±0.65	bA	7.80	±1.17	bcA	6.17	±1.17	cA	0.90	±0.13	abA	0.56	±0.13	cB
10 Wochen n. VB	68.9	±2.54	aA	57.8	±2.54	aB	41.7	±3.82	a	9.86	±1.34	aA	8.45	±1.15	aA	8.65	±1.17	bcA	9.36	±1.17	bA	1.15	±0.13	aA	1.15	±0.13	abA
Typ 3 Tests der festen Effekte																											
Effekt	Num DF	F-Wert			Pr > F			F-Wert			Pr > F			F-Wert			Pr > F										
Sorte	1	2.37	0.1268	n.s.	1.71	0.2025	n.s.	12.26	0.0017	***	21.35	<0.0001	***	5.14	0.0323	*											
Messung	6	62.86	<0.0001	***	205.1	<0.0001	***	347.81	<0.0001	***	33.66	<0.0001	***	31.01	<0.0001	***											
Sorte*Mes	6	4.9	0.0002	***	1.4	0.2524	n.s.	4.02	0.0056	***	4.41	0.0034	***	4.18	0.0048	***											

Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten der Messung und Großbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten an für $p < 0,05$. n.s.: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

Für die Aktivität der Knöllchen konnten signifikante Sorten*Termin Interaktionen festgestellt werden. Bei der Sorte Anicia wurde die höchste Aktivität (9.98) 8 Wochen nach Versuchsbeginn erreicht und die Aktivität nahm danach ab. Späth's Alblinse I konnte die höchste Aktivität 8 und 9 Wochen nach Versuchsbeginn erzielen. Vergleich man die beiden Sorten, so waren die Knöllchen bei Anicia bei den Terminen 1-3 signifikant aktiver im Vergleich zu Späth's Alblinse I.

Die Knöllchenanzahl pro Wurzel unterschied sich zwischen den Sorten nicht signifikant, aber zwischen den verschiedenen Terminen konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden. Die Knöllchenanzahl nahm im Verlauf des Versuches zu. Der meisten Knöllchen (157 pro Wurzel) wurden 10 Wochen nach Versuchsbeginn festgestellt.

Tabelle 3: Anzahl aktiver Knöllchen (aus 10 Knöllchen) und Knöllchenanzahl pro Wurzel von Linsen zu den verschiedenen Messzeitpunkten in dem Gewächshausversuch 2020.

Zeitpunkt der Messung	Aktive Knöllchen					Knöllchenanzahl			
	Anicia		Späth's Alblinse I			pro Wurzel			
	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler			
4 Wochen n. Versuchsbeginn (VB)	6.04	±0.63	bA	4.02	±0.42	cB	31.7	±11.3	c
5 Wochen n. VB	6.07	±0.63	bA	4.17	±0.44	cB	31.8	±11.3	c
6 Wochen n. VB	7.84	±0.82	abA	1.54	±0.16	dB	47.3	±13.8	c
7 Wochen n. VB	8.60	±0.90	aA	6.59	±0.69	bA	105	±20.5	b
8 Wochen n. VB	9.98	±1.10	aA	9.63	±1.13	aA	127	±22.5	ab
9 Wochen n. VB	8.36	±0.87	aA	9.53	±0.99	aA	109	±20.9	b
10 Wochen n. VB	8.33	±0.87	aA	8.01	±0.84	abA	157	±25.0	a
Typ 3 Tests der festen Effekte									
Effekt	Num DF	F-Wert		Pr > F		F-Wert		Pr > F	
Sorte	1	48.57		<0.0001		0.74		0.3982 n.s.	
Messung	6	28.8		<0.0001		19.7		<0.0001 ***	
Sorte*Mes	6	17.41		<0.0001		0.42		0.8584 n.s.	

*Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Zeitpunkten der Messung und Großbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten an für $p < 0,05$. n.s.: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.*

Hier wäre es interessant, wenn man bei den Wochen auch noch das BBCH-Stadium dazu schreiben könnte.

3.3.3. Diskussion

Im vorliegenden Gefäßversuch sollte die Entwicklung der Knöllchen ab 4. Woche nach Aussaat 7 Wochen lang in den beiden Linsensorten Anicia und Späth's Alblinse I untersucht werden. Dabei lag der Hauptfokus auf der Erfassung der Knöllchenanzahl über die Vegetationsdauer sowie den Verlauf der Knöllchenaktivität in dem untersuchten Zeitraum. In

früheren Studien wurde bereits festgestellt, dass die Knöllchenanzahl sowie die –aktivität zur Blüte am höchsten sind und nehmen zur Hülsenbildung hin ab (Hossain et al. 2017). Auch Pommeresche und Hansen (2017) erfasste zum Zeitpunkt der Blüte die höchste Aktivität der Knöllchen. In diesem Versuch konnte im Allgemeinen zwischen den beiden Sorten konnte ein Unterschied bei der Knöllchenaktivität festgestellt werden. Die Sorte Anicia zeigte zu einem früheren Stadium (ab 7 Wochen) eine hohe Aktivität der Knöllchen. Allgemein war die Aktivität seit Beginn der Messungen (4 Wochen nach Versuchsbeginn) höher im Vergleich zu Späth's Alblinse I. Diese Sorte zeigte erst 8 Wochen nach Versuchsbeginn signifikant höhere Aktivitäten. Die Knöllchenanzahl pro Wurzel unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Sorten. Die meisten Knöllchen wurden 8 und 10 Wochen nach Versuchsbeginn festgestellt. Basierend auf diesen Versuch sind Probenahmen zur Bestimmung der Knöllchenaktivität bei der Linse in den Zeitraum 8-10 Wochen nach Aussaat zu empfehlen, in der die Linsenblüte stattfindet.

Die Ergebnisse des Exkurses zeigen, dass der richtige Zeitpunkt der Probenahme zur Bestimmung der Knöllchenanzahl sowie der Aktivität der Knöllchen in Linsen entscheidend ist, um genaue Aussagen über diese zu treffen. Es zeigte sich, dass teilweise schon vor der Blüte die meisten Knöllchen an den Linsenwurzeln zu finden sind und die Anzahl mit der weiteren Pflanzenentwicklung wieder abnehmen. Auch ist die Bestimmung der Knöllchenaktivität zu dem Zeitpunkt der Blüte zu empfehlen und individuell an die Sorte anzupassen. In allen drei Versuchen des Projektes wurde der erste Biomasseschnitt zur Blüte erfasst und stellt basierend auf den Ergebnissen des Exkurses und der Literatur den optimalen Zeitpunkt da um die Wirkung von Impfmitteln auf die Knöllchenanzahl und –aktivität zu untersuchen.

3.4. Exaktversuch im Feld, Ihinger Hof 2019-2020

3.4.1. Material und Methoden

3.4.1.1. Standort und Versuchsanlage

Der Exaktversuch wurde auf den Versuchsflächen „Lehmgrube“ in 2019 und „Stockacker“ in 2020 auf der Versuchsstation für Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim Ihinger Hof (konventionell bewirtschaftet) durchgeführt. Die Versuchsstation liegt 25 km westlichen von Stuttgart auf einer Höhe von 460 – 520 m über NN und einer Jahresmitteltemperatur von 7,9°C und einem Jahresniederschlag von 690 mm. Während der Versuchsdauer war die gemittelte Temperatur von April-August 15,2 °C in 2019 und 14,7 °C in 2020. In diesem Zeitraum sind in 2019 227 mm und in 2020 162 mm Niederschlag gemessen worden. Bei der Auswahl der Versuchsflächen wurde darauf geachtet, dass mindestens vier Jahre zuvor keine Leguminosen auf den Flächen angebaut wurden. Die Aussaat des Exaktversuches fand in 2019 am 16. April und in 2020 am 8. April statt. In diesem zweifaktoriellen Versuch wurden die

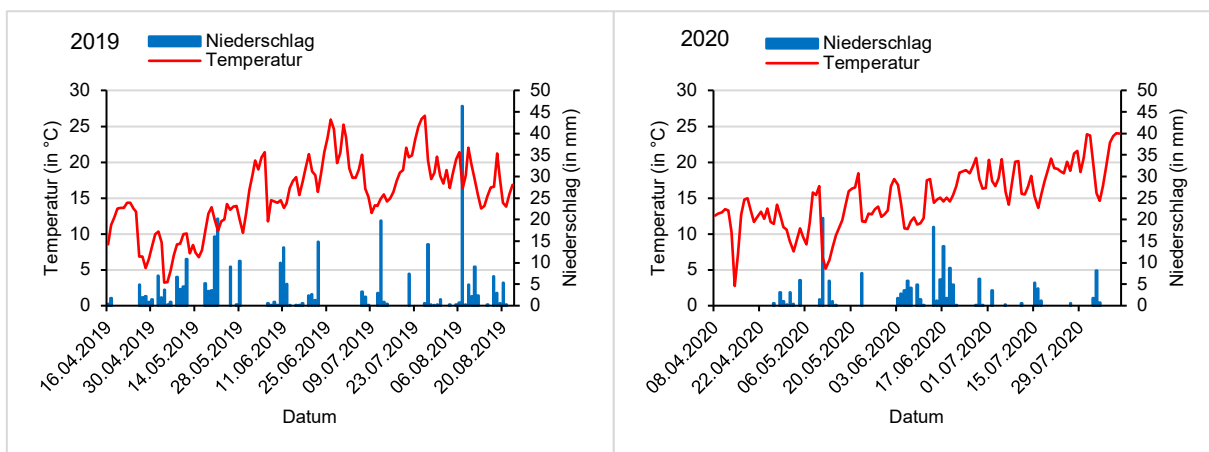


Abb. 13: Temperatur (in °C) und Niederschlag (in mm) während der Versuchsdauer in 2019 und 2020 auf dem Ihinger Hof (Renningen).



Bild 10: Aussaat des Exaktversuches 2020

Faktoren Isolat-Behandlungen mit den insgesamt neun Varianten (Sechs Isolate, eine Isolatmischung gewonnen aus Kleewurzeln (in 2019), Isolat 6 + Biokohle (in 2020) und eine

ungeimpfte Kontrolle) und Linsensorte (Anicia, Späth's Alblinse I) untersucht. Die Versuche wurden in den zwei Jahren als randomisierte Blockanlage mit drei Varianten angelegt.



Insgesamt wurden in 2019 sechs verschiedene

Bild 11: Saatgut von zwei Linsensorten und Gerste nach der Inokulation mit Rhizobiumbakterien - Späth's Alblinse I (links) und Anicia (rechts)

Isolate von Nadicom zur Verfügung gestellt, die aus Linsenwurzeln gewonnen wurden sowie eine Variante mit einer Rhizobienmischung aus Kleewurzeln. In 2020 wurde die Rhizobienmischung aus Klee durch eine neue Variante ausgetauscht, in der eine Biokohlemischung (bereitgestellt durch NovoCarbo) mit dem Isolat 6 beimpft wurde (siehe Kapitel 3.1 zum Gefäßversuch). Die Rhizobienstämme der Isolate 1-6 wurden aus den Wurzeln gesunder Linsenpflanzen von den Standorten des Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg isoliert. Die drei Rhizobienstämme der Mischung stammten aus Kleewurzeln. Alle in den Isolatbehandlungen verwendeten Rhizobienstämme gehören der Art *Rhizobium leguminosarum* an (Tabelle 4). Es liegen keine weiteren Informationen zu den verwendeten Rhizobienstämmen vor.

Versuchsnummer V101 2020

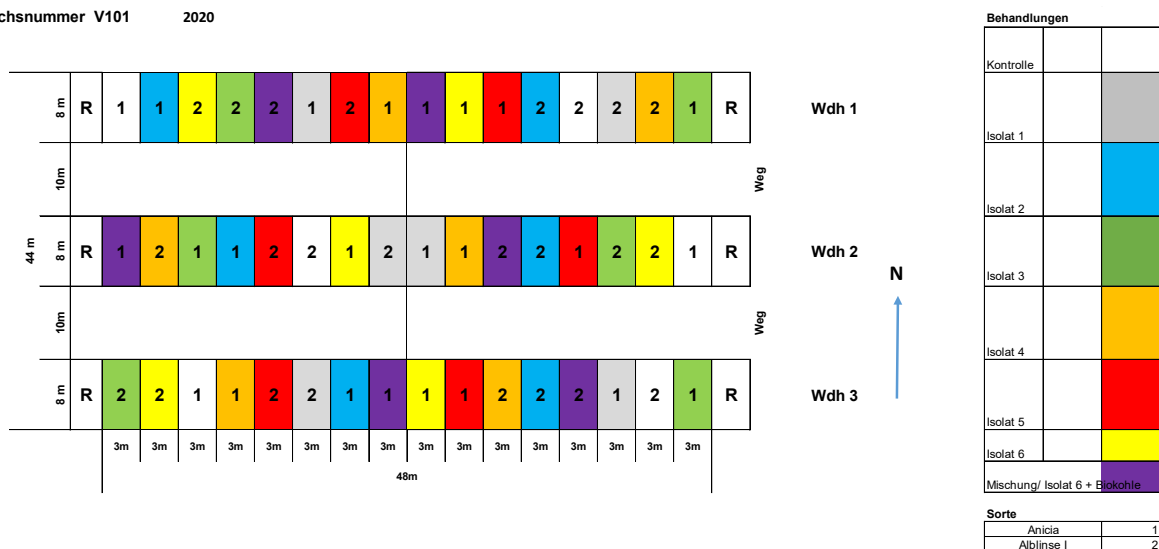


Abb. 14: Versuchsplan des Exaktversuches im Feld auf dem Ihinger Hof in 2020

Tabelle 4: Beschreibung der Varianten sowie der verwendeten Rhizobienstämme und getesteten Versuchsjahre

Varianten	Beschreibung der verwendeten Rhizobienstämme	Versuchsjahre
Kontrolle	Keine Inokulation	2019-2020
Iso 1	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 1	2019-2020
Iso 2	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 2	2019-2020
Iso 3	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 3	2019-2020
Iso 4	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 4	2019-2020
Iso 5	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 5	2019-2020
Iso 6	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 6	2019-2020
Mischung	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 7-8	2019
Iso 6 + Biokohle (BK)	<i>Rhizobium leguminosarum</i> Typ 6	2020



Bild 12: Überblick über den Feldversuch in 2019 am Ihinger Hof.

Als Stützfrucht wurde für beide Sorten die Nacktgerstensorte „Pirona“ verwendet. In den Versuchen wurde ein linsenbetontes Gemenge mit einem Verhältnis von 3 (Linse):1 (Gerste) gewählt. Pro Quadratmeter wurden dabei 180 keimfähige Körner Linse und 60



Bild 13: Biokohlemischung nach Inokulation mit *Rhizobiumbakterien* in 2020.

keimfähige Körner Gerste ausgesät. Die Parzellengröße betrug in 2019 13,5 m² und in 2020

wurde die Parzellengröße auf 24 m² vergrößert. Durch die Vergrößerung der Parzelle in der Länge konnte für den Parzellendrusch zur Ertragsermittlung mehr Pflanzenmaterial für ein aussagekräftigeres Ergebnis gewonnen werden.

Vor der Aussaat wurden die Linsen und Stützfrucht mit den jeweiligen Impfmitteln behandelt. Die Aufwandmenge betrug 5 g des flüssigen Impfmittels pro 100 g Linsen-Saatgut. Vor und während der Impfung des Saatgutes wurde auf hohe Hygienestandards geachtet, um eine Kontamination zwischen den Impfmitteln zu verhindern. Dafür wurden zwischen der Anwendung der einzelnen Impfmittel die Handschuhe gewechselt, neue sterilisierte Behälter zur Mischung verwendet sowie alle Oberflächen mit 70% Isopropanol desinfiziert. Nach der Zugabe und Mischung des Impfmittels mit den Linsensamen wurde das Saatgut der Stützfrucht hinzugegeben und erneut vermischt. Nachdem das Saatgut oberflächlich trocken war und nicht mehr aneinanderklebte, konnten die Parzellen gesät werden. Die Aussaat der Behandlungen erfolgte in der Reihenfolge wie in Tabelle 1 dargestellt, beginnend mit der Kontrolle bis hin zu der Mischung. Nach jedem Isolat wurde eine Randparzelle zur Reinigung der Sämaschine ausgesät, um so eventuelle Rückstände des Isolates zu entfernen und eine Kontamination zu verhindern.

3.4.1.2 Biomasseschnitte

Während der Versuchsdauer wurden drei Biomasseschnitte auf einer Fläche von 0,25 m² pro Parzelle durchgeführt. Die Schnitte wurden an den folgenden Terminen durchgeführt: 1. Termin: Blüte der Linse, 2. Termin: Erste Hülsen voll entwickelt; 3. Termin: Erntereife. Dafür wurde ein auf einer Seite offener

Rahmen in die Parzelle gelegt und die oberirdischen Pflanzenteile (Spross) auf einer Höhe von ca. 3 cm über dem Boden abgeschnitten. Zusätzlich wurden auch alle Wurzeln dieser Fläche ausgegraben. Bei sehr trockenem Boden musste die beprobte Fläche nach dem Schnitt der oberirdischen Biomasse gewässert werden, um die Wurzeln am folgenden Tag möglichst intakt aus dem Boden ausgraben zu können.

Bei der Aufbereitung der Biomasseschnitte wurden die oberirdische Biomasse von Unkraut befreit und in die beiden Fraktionen ‚Linse‘ und ‚Stützfrucht‘ aufgeteilt. Die Wurzeln wurden unter fließendem Wasser vorsichtig von der

anhaftenden Erde befreit. Dabei wurden die Wurzeln der Linse besonders vorsichtig behandelt um keine Knöllchen von den Wurzeln abzuwaschen. Die Gesamtknöllchenanzahl pro Wurzel



Bild 14: Blick auf das Linsen-Gerstengemenge nach dem Biomasseschnitt (im Vordergrund).



Bild 15: Trennung von Linse und Gerste (1. Schnittzeitpunkt in 2019).



Bild 16: Sortierung der Hülsen des dritten Biomasseschnittes in gefüllte Hülsen (rechts) und leere Blindhülsen (links).

wurde an fünf zufällig ausgewählten Linsenwurzeln pro Pflanze bestimmt. Weiterhin wurde die Aktivität der Knöllchen durch das Einschneiden von zehn zufällig gewählten Knöllchen erfasst, indem im Anschluss die Knöllchenfärbung beurteilt wurde (rot=aktiv). Anschließend wurden Spross und Wurzeln von Linse und Stützfrucht gewogen um die Frischmasse zu bestimmen. Das Pflanzenmaterial wurde dann bei 60 °C für 36 h bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach der Trocknung wurde die Trockenmasse durch Rückwiegen erfasst. Bei dem zweiten und dritten Biomasseschnitt wurden für die Linsen noch die Hülsenanzahl pro 0,25 m² sowie deren Frisch- und Trockenmasse bestimmt. In 2020 wurden bei dem letzten Biomasseschnitt zusätzlich die Erfassung von gefüllten und leeren Hülsen durchgeführt. Nach dem Ausdreschen der Linsen per Hand konnten die Anzahl Linsensamen und das Korngewicht bestimmt werden.

3.4.1.3 Laboranalysen (N-Gehalt in der Pflanze) Der Gehalt an Gesamtstickstoff (N_t) wurde in der Biomasse (Spross und oberirdische Pflanzenteile von Linsen und Gerste), den Hülsen und im Korn (Linsen und Gerste) bestimmt.

Das getrocknete Pflanzenmaterial wurde mit einer Zentrifugalmühle (ZM 200, Retsch GmbH, Haan) zerkleinert (Partikelgröße < 1 mm). Anschließend fand die Analyse mittels Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) statt. Diese physikalische Messmethode dient der Inhaltsstoffbestimmung, in diesem Fall des N-Gehaltes, in Pflanzenmaterial. Für die Untersuchung wurde das Analysegerät XDS Rapid Content Analyzer (FOSS, Hillerød, Dänemark) verwendet. Für die NIRS-Analyse mussten zusätzlich Kalibrations- und Validationsproben in einem Elementaranalysator (Vario MACRO Cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Langenselbold) auf ihren N-Gehalt untersucht werden. Mit Hilfe dieser Proben wurden Kalibrierungen mit engen Korrelationen zwischen den Ergebnissen der NIRS-Messungen und dem Ergebnis der Referenzmethoden erstellt und durch die Validationsproben überprüft (VDLUFA, 2003). Der Proteingehalt des Kornes der Linse wurde rechnerisch bestimmt, in dem der N_t-Gehalt mit 6,25 multipliziert wurde.

3.4.1.4 Parzellendrusch

Vor der Ernte wurde ein Scheiteln der Parzellen von Hand durchgeführt. Die Parzellenernten wurden am 23.08.2019 und am 10.08.2020 durchgeführt. Mit Hilfe eines Parzellen-Mähdreschers wurde eine Bruttoparzelle von 6 m² (2019) und von 14,5 m² (2020) geerntet. Die Druschproben des Linse-Gerste-Gemenges wurden gewogen und bei 40 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurden die Proben mittels Präzisions-Feinreinigungsmaschine (Labor Luft-/Siebreiniger Typ LALS, Westrup A/S, Slagelse, Dänemark) von Unkrautsamen gereinigt sowie Linse und Gerste getrennt. Dabei wurden sowohl ein Windsichter, drei verschiedene Siebe mit unterschiedlichen Lochgrößen und –

formen zum Entfernen von Verunreinigung und zur Trennung der Samen sowie zur abschließender Separierung ein Trieur eingesetzt. Im Nachgang wurden die Proben nochmals von Hand verlesen, um die Linsen- und Gerstenproben arten- und sortenrein für die weitere N-Analyse im Labor zu gewinnen. Im Anschluss an die Reinigung wurden die Linsen- sowie Gerstensamen erneut gewogen.

3.4.1.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SAS (Version 9.4) durchgeführt. Die Normalverteilung und Homogenität der Daten wurde visuell geprüft. Wurden diese Voraussetzungen für die Durchführung einer Varianzanalyse nicht erfüllt, so wurden die die Daten durch log-Transformation (Frisch- und Trockenmasse von Spross, Trockensubstanz Spross & Wurzel, Knöllchenaktivität) oder sqrt-Transformation (Knöllchenanzahl) vor der statistischen Analyse transformiert. Bei den transformierten Daten basieren die Signifikanzen auf den transformierten Daten. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Daten wieder rücktransformiert. Für die statistische Auswertung wurde die Prozedur „Proc Mixed“ verwendet. Die Buchstabendarstellung der Signifikanzen wurde mit dem %mult Macro von Piepho et al. (2012) erstellt.

3.4.2 Ergebnisse

3.4.3.1 Linsenertrag

Der Linsenertrag des dritten Biomasseschnittes wies signifikante Sorten*Varianten Interaktionen auf (Abb. 14). Bei den Varianten Kontrolle und Isolat 1, Isolat 2, Isolat 4, Isolat 5 unterschieden sich die beiden Sorten signifikant voneinander und Anicia erzielte signifikant höhere Erträge im Vergleich zu Späth's Alblinse I. Bei den Varianten Isolat 3, Isolat 6, Isolat 6+BK sowie der Isolatmischung aus Klee waren die Unterschiede nicht signifikant. Innerhalb der Sorten konnten für Anicia keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt werden. Bei Späth's Alblinse erzielte die Varianten Isolat 3-6, sowie die Mischung aus Klee und Isolat 6+BK signifikant höhere Erträge zu den Varianten Isolat 1, Isolat 2 und der Kontrolle. Die höchsten Erträge bei Späth's Alblinse wurden mit 1.408 kg/ha durch die Impfung mit Isolat 3 erzielt, gefolgt von der Variante Isolat 6+BK (1.391 kg/ha - 1-jährige Daten) und Isolat 6 (1.228 kg/ha).

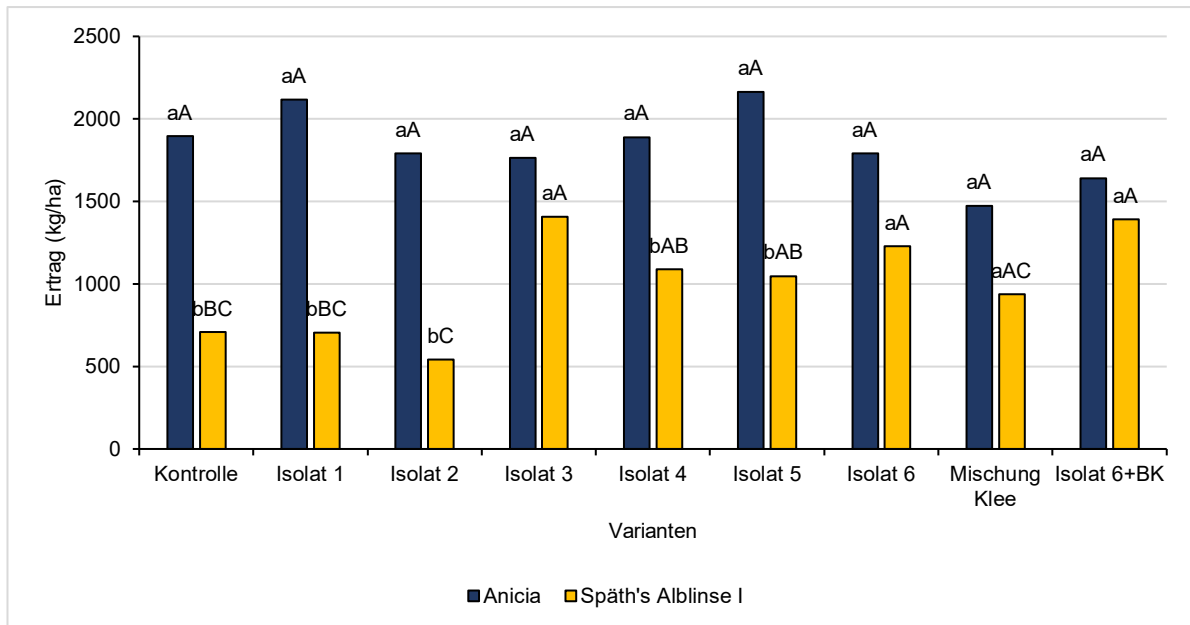


Abb. 15: Linsenertrag (kg/ha) der zwei Sorten (Anicia und Späth's Alblinse I) über die 9 Varianten (Kontrolle, Isolat 1-6, Mischung (Klee) und Isolat 6+Biokohle) gemittelt über die Jahre 2019 und 2020 auf dem Standort Ihinger Hof. Die Ergebnisse der Varianten Mischung und Iso 6 + BK beziehen sich nur auf die einjährigen Daten aus 2019 bzw. 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten einer Variante an und Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Varianten innerhalb einer Sorte an für $p < 0,05$ (LSD).

3.4.3.2 Knöllchenanzahl und Aktivität der Knöllchen

Für Knöllchenanzahl pro Pflanze konnten keine signifikante Unterschiede zwischen den Varianten und auch keine signifikante Interaktion von Sorte und Variante gefunden werden (Abb. 16). Zwischen den Sorten wurden signifikante Unterschiede in der Knöllchenanzahl festgestellt. Gemittelt über alle Varianten und Versuchsjahre bildete Späth's Alblinse I mehr Knöllchen pro Pflanze im Vergleich zur Sorte Anicia. Bei der Aktivität der Knöllchen kam es unter anderem zu signifikanten Interaktionen von Sorte und Schnitttermin (Abb. 17). Bei beiden Sorten wurde die höchste Aktivität beim Biomasseschnitt zur Blüte (1. Termin) bestimmt und welche mit zunehmender Vegetationsdauer abnahm. Zu den einzelnen Schnitten zeigte Anicia bei Schnitt 1 und 2 signifikant höhere Aktivitäten im Vergleich zu Späth's Alblinse I. Nur beim 3. Schnitt konnten keine Signifikanzen gefunden werden.

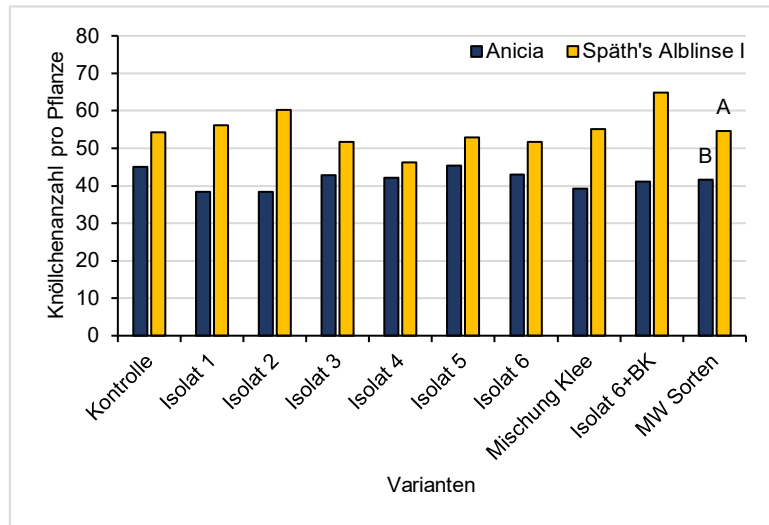


Abb. 16: Knöllchenanzahl pro Pflanze der zwei Sorten (Anicia und Späth's Alblinse I) über die 9 Varianten (Kontrolle, Isolat 1-6, Mischung (Klee) und Isolat 6+Biokohle) gemittelt über die Jahre 2019 und 2020 auf dem Standort Ihinger Hof. Die Ergebnisse der Varianten Mischung und Iso 6 + BK beziehen sich nur auf die einjährigen Daten aus 2019 bzw. 2020. Großbuchstaben geben signifikante der Sorten für $p < 0,05$ (LSD) an.

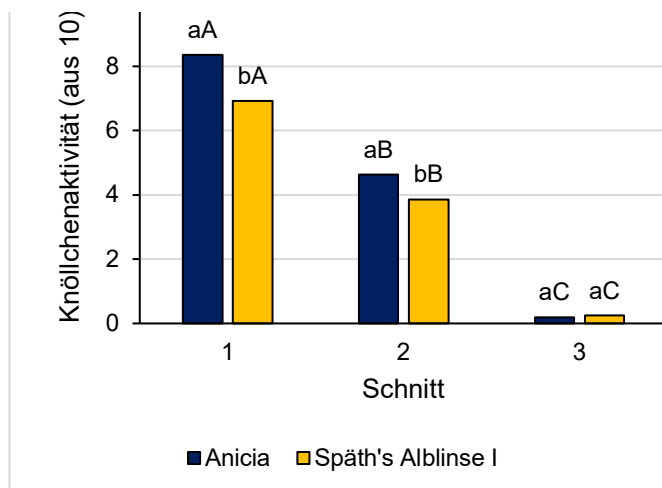


Abb. 17: Knöllchenaktivität aus 10 zufällig ausgewählten Knöllchen pro Biomasseschnitt der zwei Linsensorten (Anicia und Späth's Alblinse I) gemittelt über die 9 Varianten und zwei Jahre. Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Schnitte innerhalb einer Sorte an und Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede der Sorten bei einem Schnittzeitpunkt für $p < 0,05$ (LSD).

Für die Hülsenanzahl auf einer Fläche von 0,25 m² konnten signifikante Unterschiede zwischen den beiden Sorten sowie den zwei Versuchsjahren gefunden werden. Anicia hatte mit einer mittleren Anzahl von 1.400 Hülsen signifikant mehr Hülsen gebildet im Vergleich zu

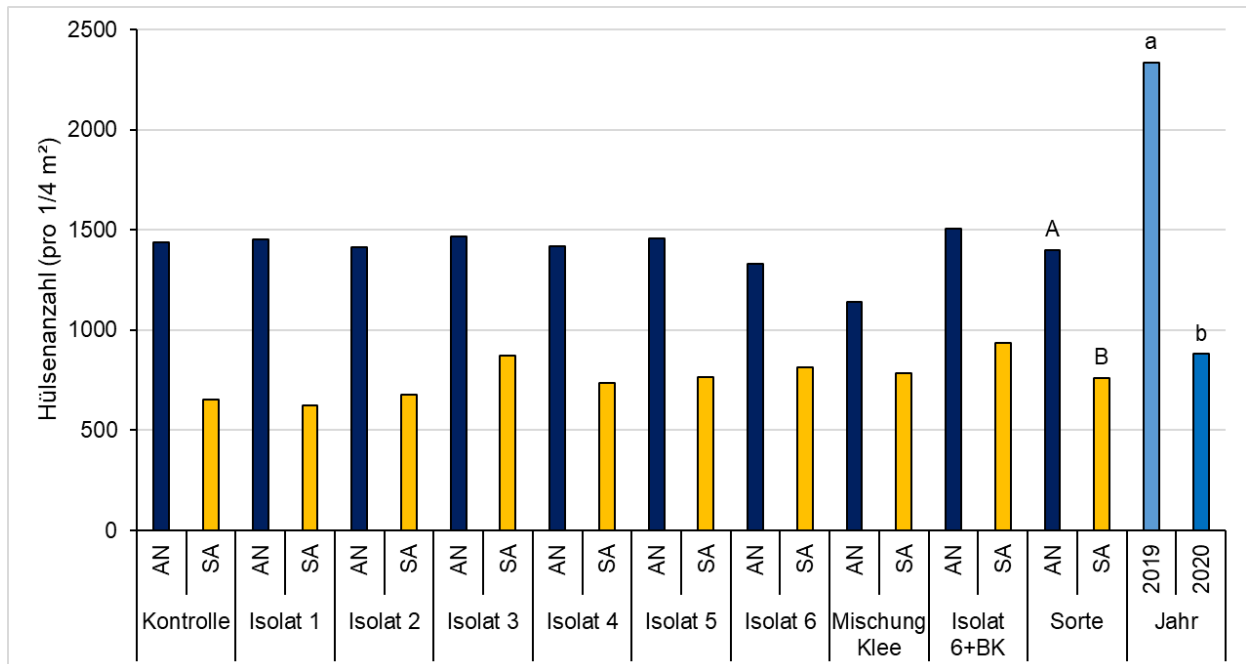


Abb. 18: Hülsenanzahl (pro 1/4 m²) der zwei Sorten (Anicia und Späth's Albinse I) über die 9 Varianten (unbehandelte Kontrolle, Isolat 1-6, Mischung (Klee) und Isolat 6+Biokohle) gemittelt über die Jahre 2019 und 2020 und mittlere Hülsenanzahlen der zwei Sorten und der beiden Jahre auf dem Standort Ihinger Hof. Die Ergebnisse der Varianten Mischung und Iso 6 + BK beziehen sich nur auf die einjährigen Daten aus 2019 bzw. 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Jahre an und Großbuchstaben signifikante Unterschiede der Sorten für p<0,05 (LSD) an.

Späth's Albinse I (760 Hülsen). Im ersten Versuchsjahr in 2019 wurden über alle Sorten und Varianten 2,65-mal mehr Hülsen gebildet als in 2020.

Die in 2020 zusätzliche Unterscheidung zwischen gefüllten und leeren Hülsen (Blindhülsen) zeigte signifikante Unterschiede zwischen den beiden Sorten. Anicia bildete die meisten gefüllten Hülsen, hatte aber auch die meisten Blindhülsen. Prozentual sind bei Späth's Albinse gemittelt über alle Varianten im Versuchsjahr 2020 ungefähr 28% der gebildeten Hülsen nicht gefüllt und bei Anicia 22%.

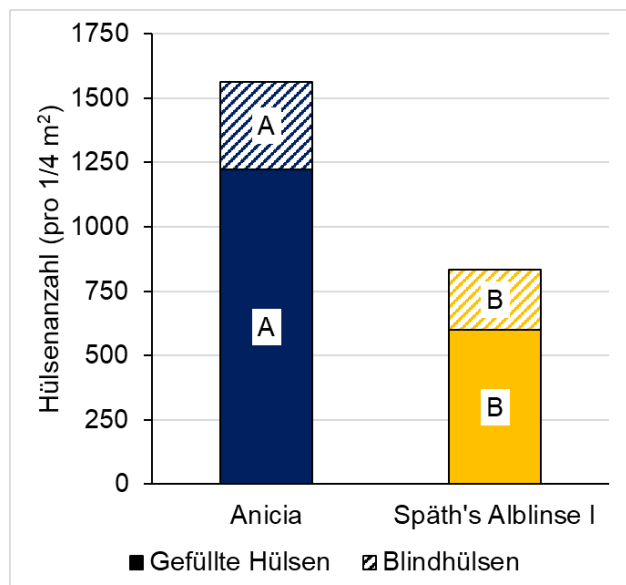


Abb. 19: Anzahl von gefüllten Hülsen und ungefüllten Blindhülsen der zwei Linsensorten (Anicia und Späth's Albinse I) zum dritten Schnitzeitpunkt im Jahr 2020 gemittelt über die 9 Varianten auf dem Standort Ihinger Hof. Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Sorten für p<0,05 (LSD) an.

3.4.3.3 Sprossgewicht Linse

Beim Sprossgewicht sowie dem Hülsengewicht konnten signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsjahren, den Sorten und den Schnitzeitpunkten festgestellt werden, allerdings keine Unterschiede durch die Isolate. 2019 wurde signifikant mehr oberirdische Linsenbiomasse gebildet wie im Vergleich zu 2020. Außerdem wurde ein höheres Hülsengewicht erreicht. Bei den Sorten bildete Anicia die meiste oberirdische Linsenbiomasse. Weiterhin war der Hülsenertrag bei Anicia im Vergleich zu Späth's Alblinse I signifikant höher. Diese produzierte anteilig mehr Blätter und Stängel (87,5 %) als Hülsen (12,5%), wohingegen 29% der von Anicia produzierten oberirdischen Biomasse den Hülsen zugeordnet werden konnten.

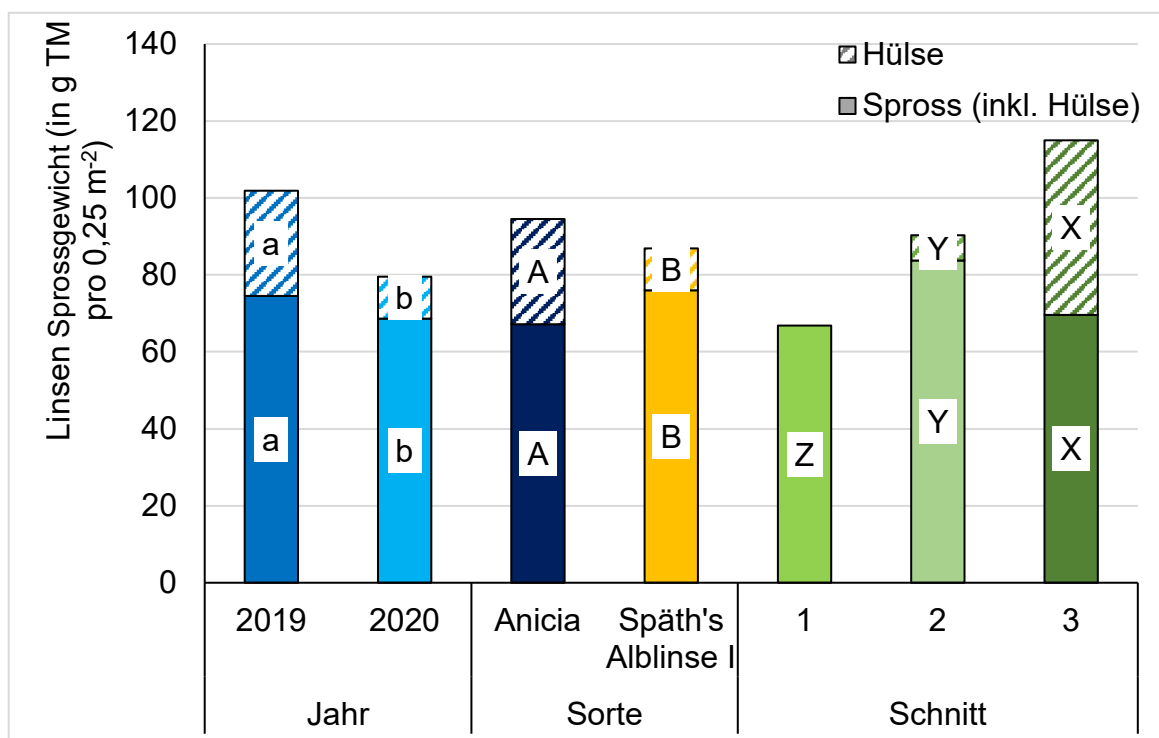


Abb. 20: Verteilung des Sprossgewichtes (g TM) der zwei Linsensorten (Anicia und Späth's Alblinse I), zwischen den Jahren 2019 und 2020 sowie zwischen den drei Schnitzeitpunkten auf dem Standort Ihinger Hof. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Jahre an; Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Sorten (ABC) sowie der Schnitzeitpunkte (XYZ) für $p < 0,05$ (LSD) an.

3.4.3.4 Protein- und Stickstoffgehalte der Linsensorten sowie der Stützfrucht

In der statistischen Auswertung der Gesamtstickstoff- und Proteingehalte der zwei Linsensorten wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten und den beiden Sorten gefunden, die Versuchsjahre unterschieden sich jedoch signifikant von einander. In 2019 konnten höhere N_t -Gehalte in den Linsenwurzeln (3,79 %) und den Körnern (5,19 %) bestimmt werden. Auch der Proteingehalt war in 2019 (32,5 %) höher im Vergleich zu 2020 (25,4 %). Im Spross konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsjahren 2019 (2,99 %) und 2020 (2,79 %) gefunden werden. Die höchsten N_t -Gehalte

in den Hülsen (2,41 %) wurden in 2020 erreicht. Die N_t -Gehalte für beide Linsensorten über die neun Varianten lagen für den Spross in zwischen 2,63 - 3,09%, in die Wurzeln zwischen 2,20 und 2,68 %, in den Hülsen bei 0,92 - 1,14 %, im Korn bei 4,24 - 4,86 % und beim Proteingehalt im Bereich von 26,6 - 30,4%.

Für die Stützfrucht konnten keine Signifikanzen für die Faktoren Sorte, Variante und Sorte*Variante-Interaktion festgestellt werden. Signifikante Unterschiede im N_t -Gehalt im Spross wurden für die Versuchsjahre gefunden. 2019 war den N_t -Gehalt des Sprosses der Stützfrucht bei der Sorte Anicia höher (0,78 %) im Vergleich zur Stützfrucht in der Sorte Späth's Alblinse I (0,58 %).

3.4.4 Diskussion

Zaccardelli et al (2012) untersuchten unter anderem der Einfluss von Rhizobienbakterien auf den Ertrag von zwei Linsensorten in Italien und stellten dabei fest, dass eine Sorte durch die Impfung mit den Bakterien einen höheren Ertrag erzielte. Für die zweite Sorte konnte hingegen keine signifikante Erhöhung des Ertrages durch die Impfung erreicht werden. Dies konnte auch im Exaktversuch der vorliegenden Arbeit festgestellt werden. Hier konnte zwar durch die Impfung mit verschiedenen Rhizobien kein signifikant positiver oder negativer Einfluss auf den Kornertrag der Sorte Anicia festgestellt werden. Im Gegensatz dazu erreichte die Sorte Späth's Alblinse I höhere Erträge im Vergleich zur Kontrolle, wenn sie mit dem Isolat 3 sowie mit Isolat 6 beimpft wurde. Ein solcher Zusammenhang zwischen Sorte und Inokulum kann durch die hohe Spezifität der Beziehung zwischen Rhizobien und Pflanzen auftreten. In Erbsen zeigte sich, dass einige Rhizobienstämme effizienter als andere bei der Symbiose mit bestimmten Sorten waren (Hobbs and Mahon 1982; Young et al. 1982). Zaccardelli et al (2012) zeigten in ihrer Studie weiterhin, dass dieser Effekt vor allem bei Sorten auftritt, deren Ertrag in der unbehandelten Kontrolle am niedrigsten war. Dies konnten wir auch in unsere Studien feststellen, in der der Ertrag von Späth's Alblinse I signifikant geringer war im Vergleich zu Anicia und die Kontrolle geringe Erträge erzielte.

In der vorliegenden Arbeit konnte weiterhin festgestellt werden, dass der Faktor Jahr den größten Einfluss auf den N-Gehalt und Proteingehalt der Linse hat. Für die Faktoren Sorte und Isolat-Behandlung konnten hingegen keine signifikanten Einflüsse auf den N-Gehalt und Proteingehalt von Linse und Stützfrucht festgestellt werden. Einflüsse des Jahres sowie des Standortes wurden auch in den Studien von Chen et al. (2021) and Choukri et al. (2022) bei Linsen festgestellt. Trockenheit, vor allem in der reproduktiven Phase und der Kornfüllung, führte dabei zu einer Limitierung des Wachstums und der Entwicklung. Aufgrund der Sensitivität in diesen Stadien kann es zu geringeren Erträgen sowie N-Gehalten kommen

(Choukri et al. 2022). Dieser Zusammenhang konnte in unseren Versuchen aber nicht festgestellt werden.

Der Einsatz von Biokohle führte in unserer Studie zu ähnlichen Ergebnissen wie die direkte Inokulation der Samen. Clayton et al. (2004) vergleichen in ihrer Studie eine flüssige Sameninokulation, ähnlich der hauptsächlich in unserer Studie angewandten Methode, mit zwei Inokulationen auf Torfbasis. Die Art der Inokulation hatte einen signifikanten Einfluss auf die Knöllchenanzahl und den Stickstoffgehalt der Pflanzen. Die Knöllchenanzahl war signifikant geringer, wenn die Samen nur mit einem flüssigen Rhizobien-Impfmittel behandelt wurden. Dies lässt sich laut Clayton et al. (2004) darauf zurückführen, dass hier ohne die schützende Torfschicht ein Abbau der Rhizobien durch äußere Einflüsse wie Trockenheit wahrscheinlicher ist. In unsere Studie konnten wir diese Effekte bei dem Einsatz von Biokohle als Trägerstoff nicht finden. Aufgrund der nur 1-jährigen Datengrundlage können jedoch keine Rückschlüsse gezogen werden, ob die Ergebnisse abhängig vom Jahr sind oder von der verwendeten Biokohle. Für weitere Versuche wäre neben zusätzlichen Versuchsjahren, die Untersuchung von weiteren Variante (z.B. die Inokulation auf Torfbasis) empfehlenswert. Dadurch könnten die Ergebnisse besser mit den bisherigen Standardmethoden der Inokulation verglichen werden und es könnte eine bessere Aussage über Biokohle als Trägerstoff für Impfmittel gegeben werden.

In dem Exaktversuch auf dem Ihinger Hof wurde für den Linsenertrag eine signifikante Sorten*Varianten Interaktion beobachtet. Die ertragsschwächere Sorte Späth's Alblinse I konnte durch einige Isolate einen höheren Ertrag im Vergleich zu der ungeimpften Kontrolle erzielen. Anicia, die am häufigsten angebaute Sorte in Baden-Württemberg, konnte durch die Isolate jedoch keinen Mehrertrag erzielen. Die Wirkung der Impfmittel, die von den Landwirten eingesetzt werden, sollten aber über alle Sorten hinweg gut wirken und vor allem zu einem Mehrertrag führen, durch den mindestens die Kosten des Impfmittels sowie die Arbeitskosten des Landwirtes gedeckt werden.

3.5 On-Farm Versuche 2020-2021

3.5.1 Material und Methoden

3.5.1.1 Versuchsaufbau und -durchführung

Die On-Farm Versuche wurden in 2020 und 2021 auf insgesamt sechs Versuchsfeldern von 6 (2020) bzw. fünf (2021) verschiedenen Landwirten im Heckengäu und auf der Schwäbischen Alb durchgeführt. Genaue Informationen zu den Versuchsfeldern (Linsensorte, Vorfrucht, Saatstärke, usw.) sind in Tabelle 6 und Tabelle 7 für die jeweiligen Versuchsjahre angegeben. Im Jahr 2020 wurden vier Isolat-Behandlungen mit den Varianten (Isolat 2, Isolat 3, Isolat 6 und einer unbehandelten Kontrolle (keine Inokulation)) pro Betrieb in einer Streifenanlage angelegt. Die Varianten basierten auf den Ergebnissen des 1. Versuchsjahres des Exaktesversuches auf dem Ihinger Hof. Neben der Kontrollvariante ohne Inokulation mit einem

Tabelle 5: Überblick über die sechs Versuchsfelder auf Praxisbetrieben der OPG auf der Schwäbischen Alb und im Heckengäu in 2020.

	Andreas Häußler	Anton und Christian Ott	Max Mammel	Helmut Kayser	Otto und Thomas Schmoll	Ingo Hagenlocher
Ort	Schwörzkirch	Niederhofen	Lauterach	Gäufelden	Brackenheim-Hausen	Renningen
Vorfrucht	Dinkel	Triticale – Erbsen	Knoblauch	Weizen	Zuckerrübe	Sommergerste
Zwischenfrucht	Saatwicke, Ölrettich, weißer Senf & Buchweizen	Weißklee (Untersaat)	keine	keine	Senf	keine
Linsenanbau auf dem Schlag?	2012	Nein	Nein	2015	Nein	Nein
Linsensorte	Anicia	Anicia	Anicia	Anicia	DePuy	DePuy
Gemengepartner	Sommergerste (SG)	Sommergerste (SG)	Sommergerste (SG)	Senf	Leindotter (LD)	Hafer
Saatstärke (pro ha)	50 kg Linsen + 70 kg SG	50 kg Linsen + 80 kg SG	60 kg Linsen + 50 kg SG	30 kg Linsen + 3 kg Senf	70 kg Linsen + 7 kg LD	75 kg Linsen + 25 kg Hafer
Reihenweite	12,5 cm	25 cm	13 cm	16 cm	12,5 cm	12 cm

Tabelle 6: Überblick über die sechs Versuchsfelder in 2021.

	Andreas Häußler 1	Anton und Christian Ott	Andrea Häußler 2	Helmut Kayser	Otto und Thomas Schmoll	Ingo Hagenlocher
Ort	Schwörzkirch	Niederhofen	Schwörzkirch	Gäufelden	Nordheim	Renningen
Vorfrucht	Dinkel	Weizen	Dinkel	Mais/Weizen	Winterdinkel	
Zwischenfrucht	Gemenge (vorwiegend aus weißer und gelber Send, Ölrettich)	Gemenge (Bohnen, Hafer, Weißklee, Reste von Begrünungsmischung)	Gemenge (vorwiegend aus weißer und gelber Send, Ölrettich)	Mischung aus Senf, Phacelia, Ölrettich	Ölrettich/Send	keine
Linsenanbau auf dem Schlag?	2013	Nein	2013	Nein	Nein	Nein
Linsensorte	Anicia	Anicia	Anicia	Anicia	DePuy	DePuy
Gemengepartner	Sommergerste (SG)	Sommergerste (SG)	Sommergerste (SG)	Hafer	Leindotter (LD)	Hafer
Saatstärke (pro ha)	50 kg Linsen + 70 kg SG	50 kg Linsen + 80 kg SG	50 kg Linsen + 70 kg SG	60 kg Linsen + 20 kg Hafer	70 kg Linsen + 7 kg LD	75 kg Linsen + 25 kg Hafer
Reihenweite	12,5 cm	25 cm	12,5 cm	16 cm	12,5 cm	12 cm

Isolat wurden Isolat 3 und 6 ausgewählt, da diese beiden Isolate zu den höchsten Erträgen führten. Zusätzlich wurde Isolat 2 als negative Kontrolle in den On-Farm Versuch aufgenommen, da es bei beiden Sorten im Exaktversuch auf dem Ihinger Hof im Vergleich zu den anderen Isolaten geringe Erträge erzielte. In 2021 wurden auf Wunsch der Projektpartner neue Isolat-Behandlungen geprüft, so dass es keine mehrjährigen Prüfungen der Isolate stattfand. Die ursprünglichen Isolat-Behandlungen wurden dabei durch die neue Variante, bestehend aus einer Mischung der drei im Vorjahr getesteten Isolate, ersetzt. Auf dem Betrieb Hagenlocher wurde zusätzlich noch eine dritte Variante geprüft und zwar eine Mischung der oben genannten Isolate mit einer Biokohlemischung von Novocarbo.

Für die Impfung des Saatgutes mit den Isolaten 2, 3 und 6 in 2020 und der Mischung aller Isolate in 2021 wurde die zuvor berechnete Saatgutmenge abgewogen und mit dem jeweiligen Isolat in einem großen Behälter beimpft. Die Aufwandmenge betrug 5 g des flüssigen Impfmittels pro 100 g Linsen-Saatgut.



Bild 17: Trocknung des Linsensaatgut nach Applikation des Isolates am Feldrand im Schatten (Betrieb Schmoll 2020).

Dabei wurde auf eine strenge Einhaltung der Hygieneregeln geachtet und alle Materialien, Handschuhe und Hände wurden vorher und zwischen der Aussaat der einzelnen Varianten mit 70%igen Isopropanol desinfiziert. Anschließend wurde das Saatgut für ca. 60 min im Schatten/ohne direkte Sonneneinstrahlung angetrocknet, bis die Oberfläche der Linse trocken und das Isolat aufgenommen war (Bild 17). Bei der Anlage des Versuches wurde die Kontrollvariante ohne Inokulation auf allen Standorten als erstes ausgesät um eine Kontamination mit den verschiedenen Isolaten zu vermeiden (siehe Versuchsplan Bild 39). Zwischen den einzelnen Varianten wurden sogenannte Reinigungstreifen angelegt. Durch diese Streifen sollten in der Sämaschine eventuelle Reste von anhaftenden Rhizobien durch ungeimpftes Saatgut aufgenommen



Bild 18: Aussaat der Versuche auf den Betrieben Ott (links) und Häußler (rechts) in 2020.

werden. Dadurch sollte eine Übertragung von Variante zu Variante verhindert werden. Auch in den Reinigungsstreifen wurden Proben genommen, um dies zu überprüfen. Während der Versuchsdauer wurden, wie auch in den Exaktversuchen auf dem Ihinger Hof, drei Biomasseschnitte auf einer Fläche von 0,25 m² pro Streifen durchgeführt. Die Biomasseschnitte wurden an den folgenden Terminen durchgeführt: 1. Termin: Blüte der Linse, 2. Termin: Erste Hülsen voll entwickelt; 3. Termin: Erntereife. Um die Zeitpunkte korrekt abzuspannen, wurde der aktuelle Entwicklungsstand durch die Landwirte vor Ort kontrolliert und an uns kommuniziert. Für die Biomasseschnitte wurde ein auf einer Seite offener Rahmen in die Parzelle gelegt und die oberirdischen Pflanzenteile (Spross) auf einer Höhe von ca. 3 cm über dem Boden abgeschnitten. Außerdem wurden auch alle Wurzeln auf dieser Fläche ausgegraben.

Bei der Aufbereitung der Biomasseschnitte erfolgte auf den Versuchstationen Ihinger Hof und Kleinhohenheim der Universität Hohenheim. Dabei wurde die oberirdische Biomasse von Unkraut befreit und in die beiden Fraktionen Linse und Stützfrucht aufgeteilt. Die Unkrautbiomasse wurde anschließend verworfen. Die Erde um die Wurzeln



Bild 19: Abzupfen der Hülsen vom getrockneten Linsenspross des zweiten Biomasseschnittes.

von Linse und Stützfrucht wurde in Wasser eingeweicht und anschließend konnten die Wurzeln unter fließendem Wasser vorsichtig von dem noch anhaftender Erde befreit werden. Dabei ist auf eine vorsichtige Behandlung der Linsenwurzeln zu achten um keine Knöllchen

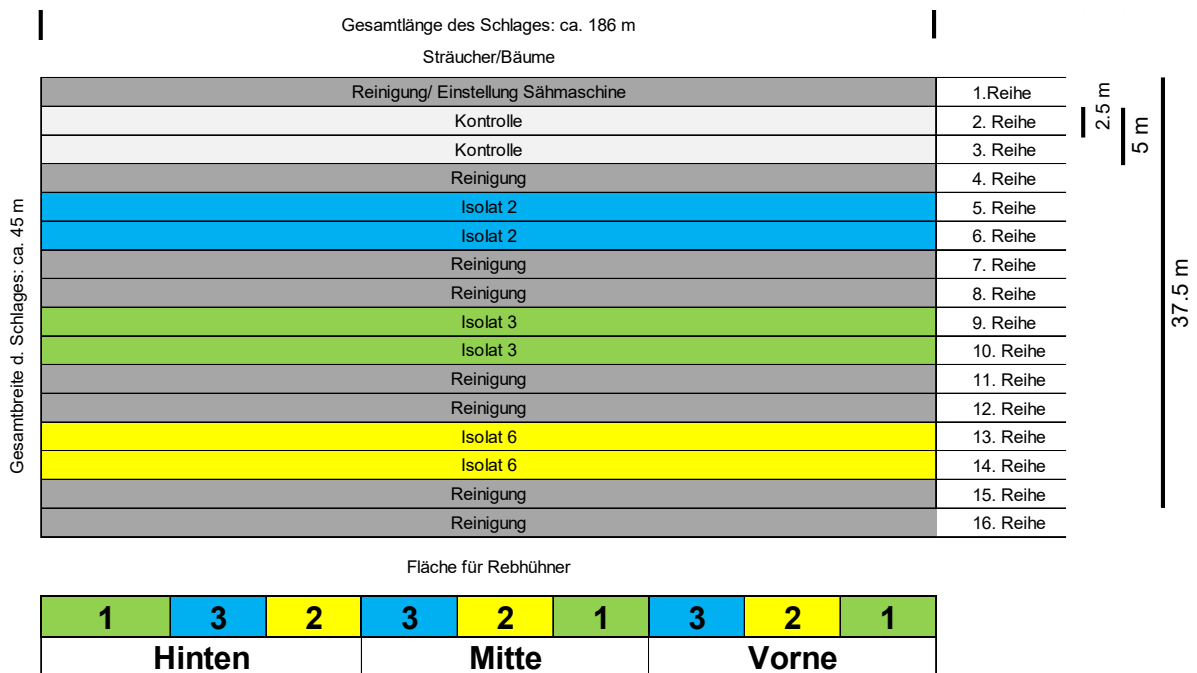


Bild 20: Versuchsplan für den Betrieb Kayser in 2020 mit vier Varianten. Die Lage der Biomasseschnitte wurde durch den randomisierten Plan (unten) für jeden Betrieb individuell angegeben.

abzuwaschen. Zur Bestimmung der Gesamtknöllchenanzahl pro Wurzel wurden zufällig fünf Wurzeln ausgewählt und alle Knöllchen erfasst. Die Erfassung der Knöllchenaktivität erfolgt durch das Aufschneiden und die Farbbestimmung von zehn zufällig gewählten Knöllchen. Anschließend erfolgte die Einwaage von Spross und Wurzeln von Linse und Stützfrucht zur Bestimmung die Frischmasse zu bestimmen. Das Pflanzenmaterial wurde bei 60°C für 36 h in einem Trockenschrank getrocknet bis zum Erreichen Gewichtskonstanz. Bei dem dritten Biomasseschnitt wurden die Proben von Linse und Stützfrucht nach dem Trocknen im Anschluss gemahlen und der Gesamtstickstoff Gehalt auf dem Ihinger Hof mit der NIRS-Methode analysiert (s. Exaktversuch auf dem Ihinger Hof). Zusätzlich zu den bereits beschrieben erfassten Parametern erfolgte bei dem zweiten und dritten Biomasseschnitt die Bestimmung Hülsenanzahl (gefüllte und leere Hülsen) der Linsen sowie deren Frisch- und Trockenmasse bestimmt. Nach dem Ausdreschen der Linsen per Hand konnte die Anzahl Linsensamen und das Samengewicht bestimmt werden. Auch die Hülsen und Linsen wurden nach der Auszählung im Labor auf den Stickstoffgehalt mittels NIRS untersucht.

3.5.1.2 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SAS mit der Prozedur „Proc Mixed“ durchgeführt. Für die Auswertung der beiden zwei Versuchsjahre wurden aufgrund der verschiedenen Versuchsvarianten zwei unterschiedliche Modelle verwendet und die Daten getrennt ausgewertet, da sich die Varianten und Faktoren in den beiden Versuchsjahren deutlich unterschieden. Die einzelnen Betriebe wurden in den beiden Modellen als einzelner Block definiert. Dadurch konnten die verschiedenen Saatstärken, Sorten oder auch die verschiedenen Stützfrüchte in der Berechnung berücksichtigt werden. Die Normalverteilung und Homogenität der Daten wurde visuell geprüft. Wurden diese Voraussetzungen für eine Varianzanalyse nicht erfüllt, wurde eine log-Transformation (2020: Trockenmasse des Linsensprosses, Proteingehalt des Korns der Stützfrucht sowie Stickstoffgehalte der oberirdischen Biomasse der Stützfrucht, des Linsenkorns, des Korns der Stützfrucht (Biomasseschnitt und Erntedrusch), der Linsenwurzeln; 2021: Frischmasse der Gesamtbiomasse Linse und Anzahl Blindhülsen) und sqrt-Transformation (2020: Anzahl der gesamten Hülsen, gefüllten Hülsen und Blindhülse, Knöllchenanzahl, Linsenspross Frischmasse, Ertrag (kg/ha) sowie die Wurzeltrockenmasse von Linse und Stützfrucht) vor der statistischen Analyse durchgeführt. Bei den transformierten Daten basieren die Signifikanzen auf den transformierten Daten. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Daten wieder Rücktransformiert. Die Buchstabendarstellung der Signifikanzen wurde mit dem %mult Macro von Piepho et al. (2012) erstellt.

3.5.2 Ergebnisse

In den Ergebnisteilen der On-Farm Versuche liegt der Schwerpunkt auf dem Vergleich der verschiedenen Isolate über die Betriebe hinweg. Durch die unterschiedlichen Saatstärken, Linsensorten und die verschiedenen Stützfrüchte auf den jeweiligen Betrieben können die erfassten Parameter nicht absolut miteinander verglichen werden.

3.5.2.1 Ergebnisse 2020

3.5.2.1.1 Linsenertrag und Anzahl von Linsenkörnern und -hülsen

Die statistische Auswertung des Linsenertrages zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Isolat-Behandlungen (Abb. 21). Die höchsten Erträge gemittelt über alle Betriebe wurden in der Kontrollvariante erfasst (1.089 kg ha^{-1}), gefolgt von Isolat 3 (888 kg ha^{-1}), Isolat 6 (799 kg ha^{-1}) und die geringsten Erträge in der Variante Isolat 2 (691 kg ha^{-1}). Zwischen den sechs Betrieben konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden (Tabelle 7). Der höchste Ertrag wurde mit 1.597 kg ha^{-1} auf dem Betrieb „Schmoll“ erfasst, gefolgt von den Betrieben „Hagenlocher“ (1.239 kg ha^{-1}) und „Häußler“ (1.201 kg ha^{-1}), deren Erträge sich nicht signifikant von „Schmoll“ unterschieden. Die geringsten Erträge hatte Betrieb „Kayser“ mit 39 kg ha^{-1} .

Tabelle 7: Linsenertrag (kg/ha), Anzahl Linsenkörner pro 0.25 m^2 und Anzahl von gefüllten Hülsen und Blindhülsen pro 0.25 m^2 der sechs Betriebe am 3. Biomasseschnitt gemittelt über alle Varianten in 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Varianten für $p < 0,05$ (LSD) an.

Betriebe	Linsenertrag (kg/ha)		Anzahl Linsenkörner		Hülsen							
					Gefüllte Hülsen		Blindhülsen					
	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler	Mittelwert	Std.fehler				
Häußler	1201	± 69	ab	995	± 93	b	751	± 110	b	102	± 24	bc
Mammel	517	± 45	c	479	± 93	c	692	± 106	b	161	± 30	b
Ott	1138	± 67	b	920	± 93	b	692	± 106	b	77	± 21	c
Kayser	39	± 13	d	40	± 93	c	80	± 36	c	46	± 16	c
Schmoll	1597	± 80	ab	1493	± 93	a	1513	± 156	a	306	± 41	a
Hagenlocher	1239	± 70	ab	999	± 93	b	894	± 120	b	86	± 22	c

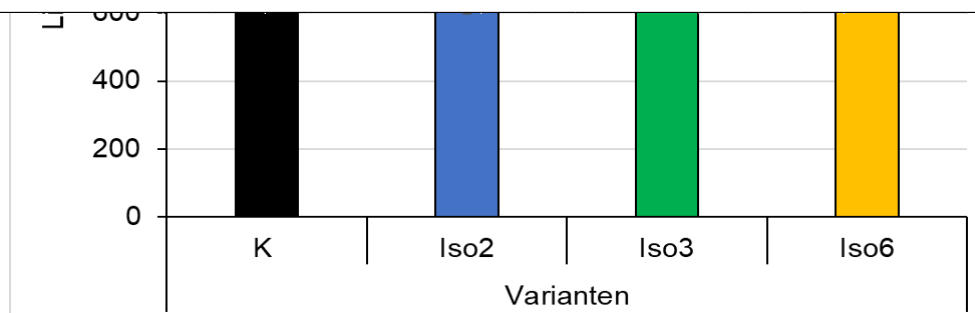


Abb. 21: Linsenertrag (kg/ha) der vier Varianten (K = unbehandelte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) in 2020. Fehlerbalken = Standardfehler.

Für die Anzahl an Linsenkörnern pro $0,25 \text{ m}^2$ gab es signifikante Unterschiede für die Varianten und die Betriebe. Die Varianten Kontrolle (1.013) sowie Isolat 3 (968) unterschieden sich

signifikant von Isolat 2 (803), welche die geringste Anzahl von Linsenkörnern produzierte (Abb.22). Bei den Betrieben wurden im Betrieb „Schmoll“ die meisten Linsen (1.493) gezählt (Tabelle 7). Der Betrieb unterschied sich dabei signifikant von den allen anderen Betrieben. Die geringste Anzahl Linsenkörner wurden bei den Betrieben „Mammel“ (479) sowie „Kayser“ (40) erfasst.

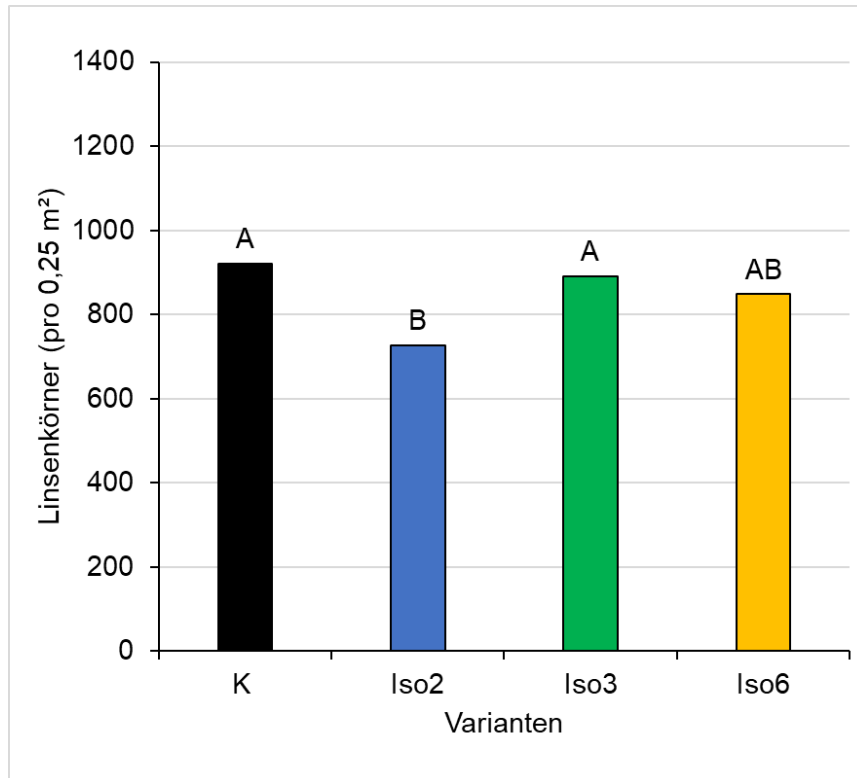


Abb. 22: Anzahl Linsenkörner(pro 0,25 m²) der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) in 2020 gemittelt über alle Betriebe. Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Varianten für $p < 0,05$ (LSD) an.

Bei der Hülsenanzahl konnten signifikante Unterschiede für die Anzahl von gefüllten und Blindhülsen zwischen den Betrieben festgestellt werden (Tabelle 7), wohingegen es keine Signifikanzen für die Varianten gab (Abb. 23). Die ungeimpfte Kontrolle sowie Isolat 3 und 6 bildeten zwischen 732 und 756 gefüllte Hülsen pro 0,25 m², während für Isolat 2 nur 620 Hülsen erfasst werden konnten. Ein gleicher Trend ist auch bei der Anzahl nicht gefüllter Hülsen zu sehen, bei der Isolat 2 weniger Blindhülsen pro 0,25 m² hatte. Die höchste Anzahl gefüllter Hülsen erzielte Betrieb „Schmoll“ (1.513), gefolgt von den Betrieben „Hagenlocher“ (894), „Häußler“ (751), „Ott“ und „Mammel“ (je 692). Die geringste Anzahl wurde in Betrieb „Kayser“ erreicht (80). Die größte Menge an Blindhülsen wurde in Betrieb „Schmoll“ mit 306 nicht gefüllten Hülsen erfasst, gefolgt von Betrieb „Mammel“ mit 161 Blindhülsen. Die geringste Anzahl hatten die Betriebe „Kayser“ (46), „Ott“ (77) und „Hagenlocher“ (86).

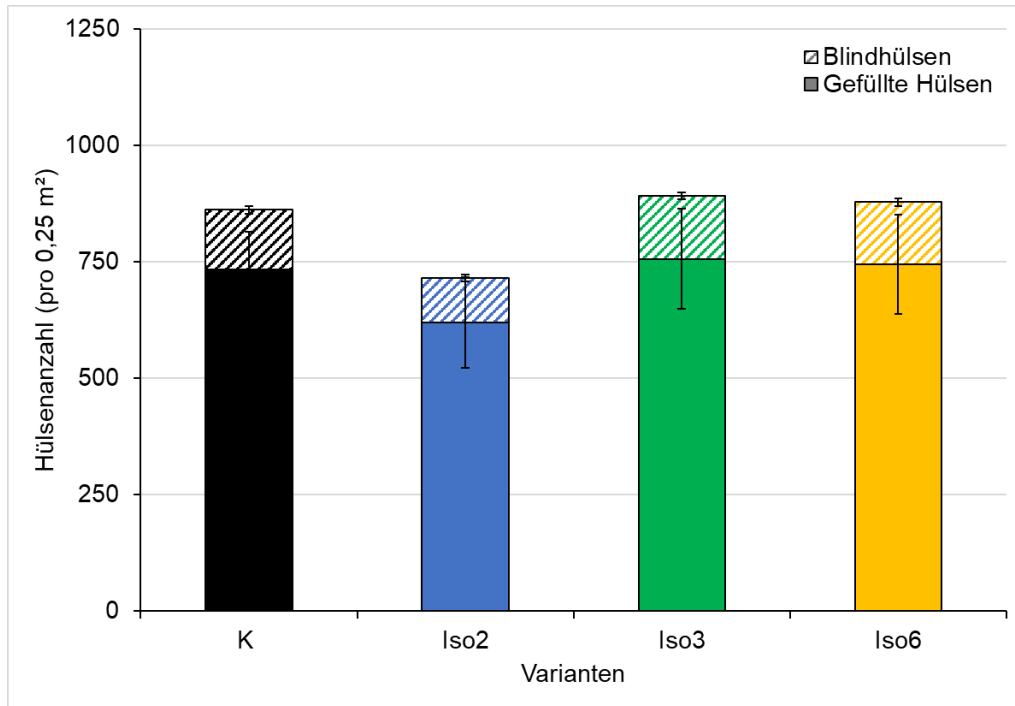


Abb. 23: Hülsenanzahl (pro 0,25 m²) der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) in 2020 gemittelt über alle Betriebe.. Fehlerbalken = Standardfehler.

3.5.2.1.2 Knöllchenanzahl und –aktivität

Für die Knöllchenanzahl pro Pflanze konnten signifikante Betriebe*Schnittzeitpunkt-Interaktionen gefunden werden (Tabelle 8), wohingegen sich die Varianten nicht signifikant unterschieden. Die Knöllchenanzahl pro Pflanze lag für alle vier Varianten zwischen 11 (Isolat

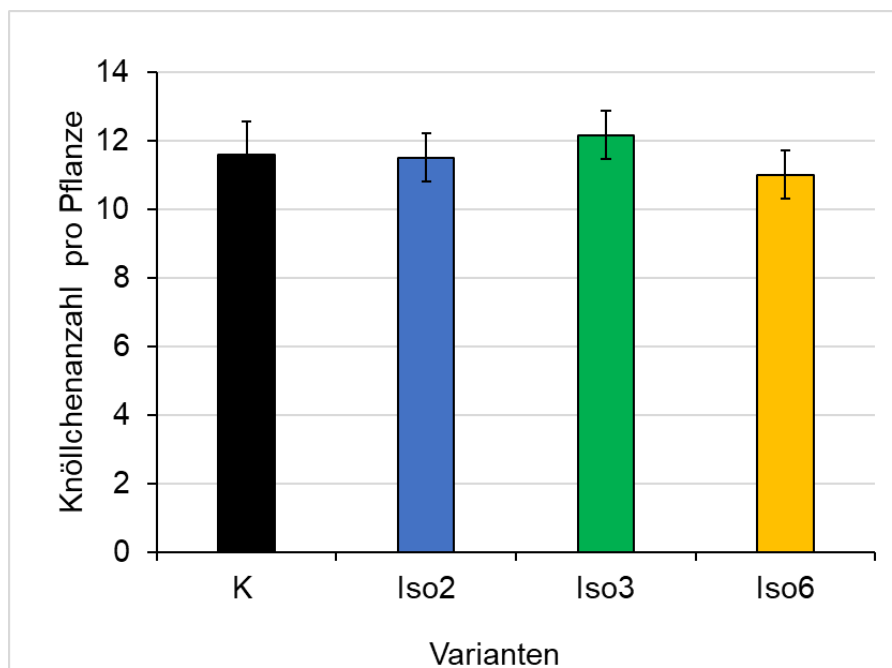


Abb. 24: Knöllchenanzahl pro Pflanze der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) in 2020 gemittelt über alle Betriebe.. Fehlerbalken = Standardfehler.

6) und 12,2 (Isolat 3) Knöllchen (Abb. 24). Bei den Betrieben wurden über alle Schnittzeitpunkte bei Betrieb „Ott“ mit 18 bzw. 19 Knöllchen die höchste Anzahl festgestellt.

Tabelle 8: Knöllchenanzahl pro Pflanze und Knöllchenaktivität (aus 10) der sechs Betriebe zu den drei Schnittzeitpunkten gemittelt über die Varianten in 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Schnittzeitpunkten innerhalb eines Betriebes an und Großbuchstaben für signifikante Unterschiede zwischen den Betrieben innerhalb eines Schnittzeitpunktes für $p < 0,05$ (LSD).

Betriebe	Schnitt	Knöllchen pro Pflanze			Knöllchenaktivität (aus 10)		
		Mittelwert	Std.fehler		Mittelwert	Std.fehler	
Häußler	1	17	± 1.7	aA	8	± 0.5	aA
	2	13	± 1.4	bBC	6	± 0.6	bA
	3	14	± 1.3	aB	0	± 0.2	cB
Mammel	1	10	± 1.3	aB	7	± 0.5	aA
	2	11	± 1.3	aC	4	± 0.6	bBC
	3	10	± 1.1	aC	0	± 0.2	cB
Ott	1	19	± 1.8	aA	8	± 0.5	aA
	2	18	± 1.7	aA	6	± 0.6	bAB
	3	19	± 1.5	aA	0	± 0.2	cB
Kayser	1	11	± 1.3	aB	6	± 0.5	aB
	2	3	± 0.7	bE	2	± 0.6	bD
	3	4	± 0.7	bE	0	± 0.2	cB
Schmoll	1	20	± 1.8	aA	8	± 0.5	aA
	2	15	± 1.6	bAB	4	± 0.6	bC
	3	7	± 0.9	cD	3	± 0.2	bA
Hagenlocher	1	9	± 1.3	bAB	0	± 0.5	bC
	2	7	± 1.0	bD	3	± 0.6	aCD
	3	13	± 1.2	aB	0	± 0.2	bBC

Für die Aktivität der Knöllchen wurden Signifikanzen bei der Interaktion Betrieb*Schnitt festgestellt. Die höchste Aktivität der Knöllchen zwischen 5,7 und 8,1 wurde bei allen Betrieben zum ersten Schnittzeitpunkt festgestellt. Lediglich beim Betrieb „Hanglocher“ waren nur 0 von 10 Knöllchen aktiv. Beim zweiten Schnitt wurde eine geringe Knöllchenaktivität für fünf der sechs Betriebe ermittelt. Die meisten aktiven Knöllchen wurden hier auf dem Betrieb „Häußler“ gefunden. Die geringste Knöllchenaktivität gab es auf allen Betrieben beim letzten Biomasseschnitt mit Werten zwischen 0 („Häußler“ und „Hagenlocher“ und 2,9 „Schmoll“). Gemittelt über alle Betriebe und alle Biomasseschnitte wurden für die Varianten Knöllchenaktivitäten zwischen 3 und 4,1 ermittelt, welche sich aber nicht signifikant voneinander unterschieden (Abb. 25).

3.5.2.1.3 Oberirdische- und Wurzelbiomasse von Linse und Stützfrucht

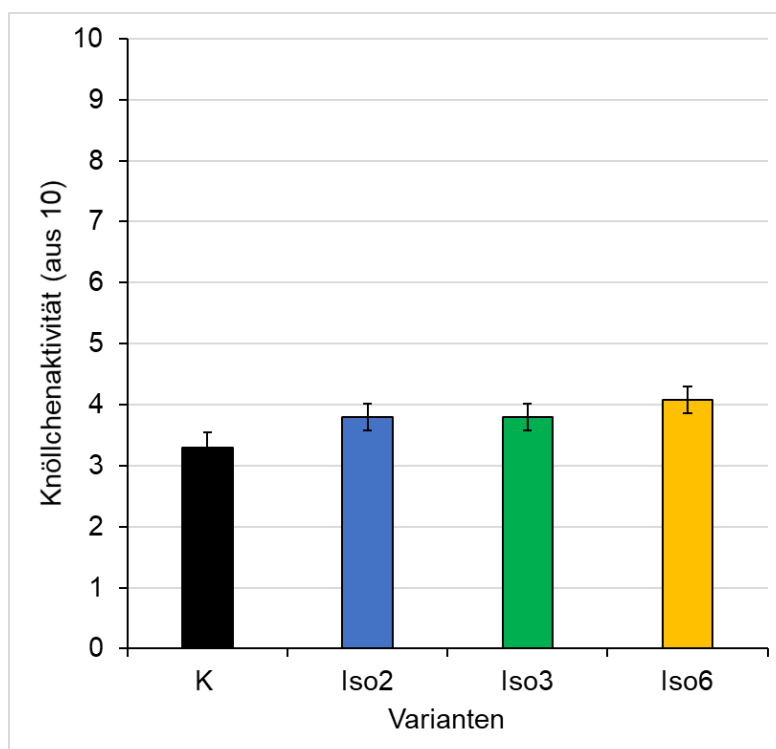


Abb. 25: Knöllchenaktivität (aus 10) der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) in 2020 gemittelt über alle Betriebe.. Fehlerbalken = Standardfehler.

Für die oberirdische Biomasse der Linse konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Varianten bestimmt werden (Abb. 26). Die ungeimpfte Kontrolle bildete gemittelt über alle Betriebe und Biomasseschnitte mit 38,8 g Trockenmasse (TM) die höchste TM und Isolat 2 die geringste (33 g). Signifikante Unterschiede für die Varianten wurden für die oberirdische Biomasse der Stützfrucht gefunden. Hier erreichte Isolat 2 die höchsten TM-Erträge (105 g) und unterschied sich signifikant von den TM-Erträgen von Isolat 6 (93,4 g).

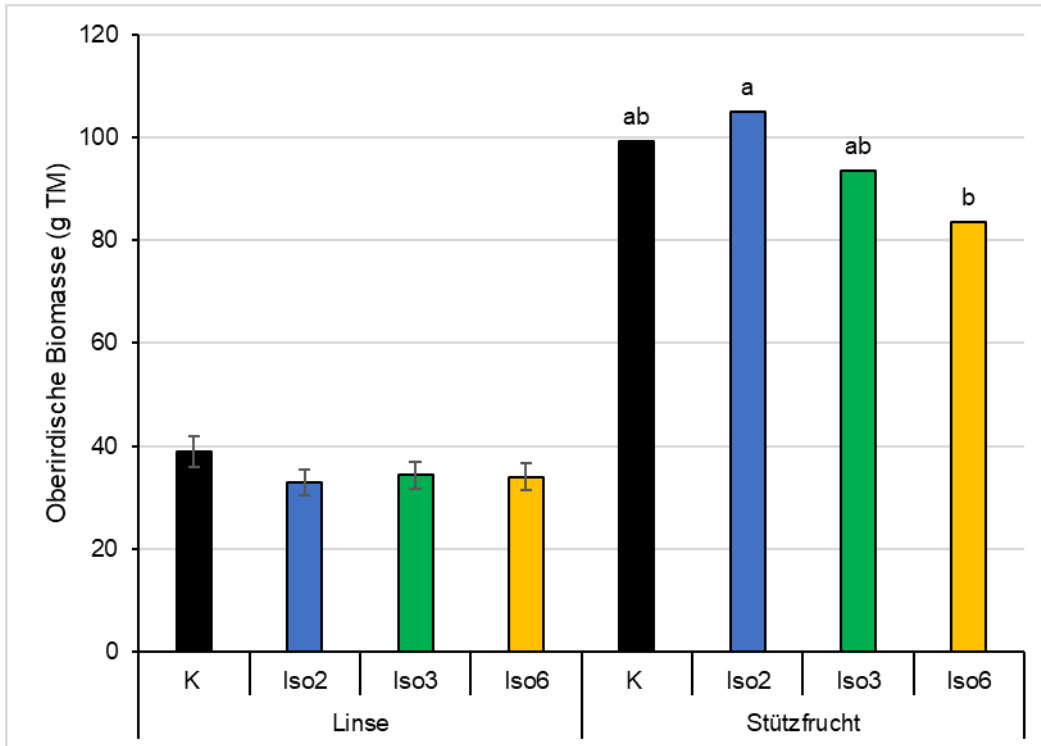


Abb. 26: Oberirdische Biomasse (g TM pro 0.25 m²) von Linse und Stützfrucht der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) gemittelt über die sechs Betriebe und den drei Biomasseschnitten in 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Varianten an für p<0,05 (LSD) an. Fehlerbalken = Standardfehler).

Die oberirdische Biomasse von Linse und Stützfrucht zeigte eine signifikante Betrieb*Schnitt-Interaktion (Tabelle 9). Die höchste Trockenmasse (TM) der Linse wurden beim Betrieb „Hagenlocher“ in allen drei Schnitten erzielt. Die geringsten Linsen TM gab es im Betrieb „Kayser“. Bei den Betrieben „Mammel“, „Häußler“ und „Ott“ nahm die Linsenbiomasse im Verlauf des Versuches zu. Bei den Betrieben „Schmoll“ und „Hagenlocher“ hingegen wurde die höchste Biomasse beim zweiten Biomasseschnitt erreicht. Für die Stützfrucht wurden die höchsten Erträge der oberirdischen Biomasse für alle Biomasseschnitte auf dem Betrieb „Ott“ erfasst. 1. Schnitt: 155,1 g; 2. Schnitt: 192,7 g; 3. Schnitt: 231,5 g (pro 0.25 m²) erzielte. Die

geringste Biomasse der Stützfrucht wurden in allen drei Schnitten in den Betrieben „Kayser“ und „Schmoll“ erhoben. Die Erträge lagen hier zwischen 12,2 und 41,2 g pro 0,25m².

Tabelle 9: Oberirdische Biomasse (g TM pro 0.25 m²) von Linse und Stützfrucht (SF) der sechs Betriebe zu den drei Biomasseschnitten in 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Biomasseschnitte eines Betriebes an und Großbuchstaben signifikante Unterschiede der Betriebe eines Biomasseschnittes für p<0,05 (LSD) an.

Oberirdische Biomasse (g TM)									
Betrieb	Schnitt	Linse			Stützfrucht				
		Mittelwert	Std.fehler		Mittelwert	Std.fehler			
Häußler	1	22.8	± 2.8	c B	119.7	± 8.2	b A		
	2	47.6	± 6.4	b A	136.9	± 8.1	b A		
	3	51.7	± 8.1	bc A	142.6	± 11.4	b A		
Mammel	1	13.6	± 1.7	d B	79.5	± 8.2	c C		
	2	21.8	± 2.9	c A	113.0	± 8.1	c B		
	3	31.0	± 4.9	d A	172.8	± 11.4	b A		
Ott	1	25.1	± 3.1	c B	155.1	± 8.2	a C		
	2	41.6	± 5.6	b A	192.7	± 8.1	a B		
	3	45.9	± 7.2	cd A	231.5	± 11.4	a A		
Kayser	1	12.1	± 1.5	d A	39.4	± 8.2	d A		
	2	11.4	± 1.5	d A	40.5	± 9.1	e A		
	3	6.9	± 1.2	e B	24.2	± 11.4	d A		
Schmoll	1	44.1	± 5.4	b B	41.2	± 8.2	d A		
	2	119.5	± 16.2	a A	30.3	± 8.1	e A		
	3	98.5	± 15.5	a A	14.2	± 11.4	d A		
Hagenlocher	1	75.2	± 9.2	a A	45.1	± 8.2	d B		
	2	89.3	± 12.1	a A	88.1	± 8.1	d A		
	3	75.6	± 11.9	ab A	87.7	± 11.4	c A		

Die statistische Auswertung der Wurzelbiomasse (g TM) pro 0,25 m² von Linse und Stützfrucht zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Varianten (Abb.27). Die höchste Wurzelbiomasse für Linsen wurde in der unbeimpften Kontrolle bestimmt (1,71 g TM) und für die Stützfrucht in der Kontrolle (2,93 g TM) sowie Isolat 6 (2,94 g TM).

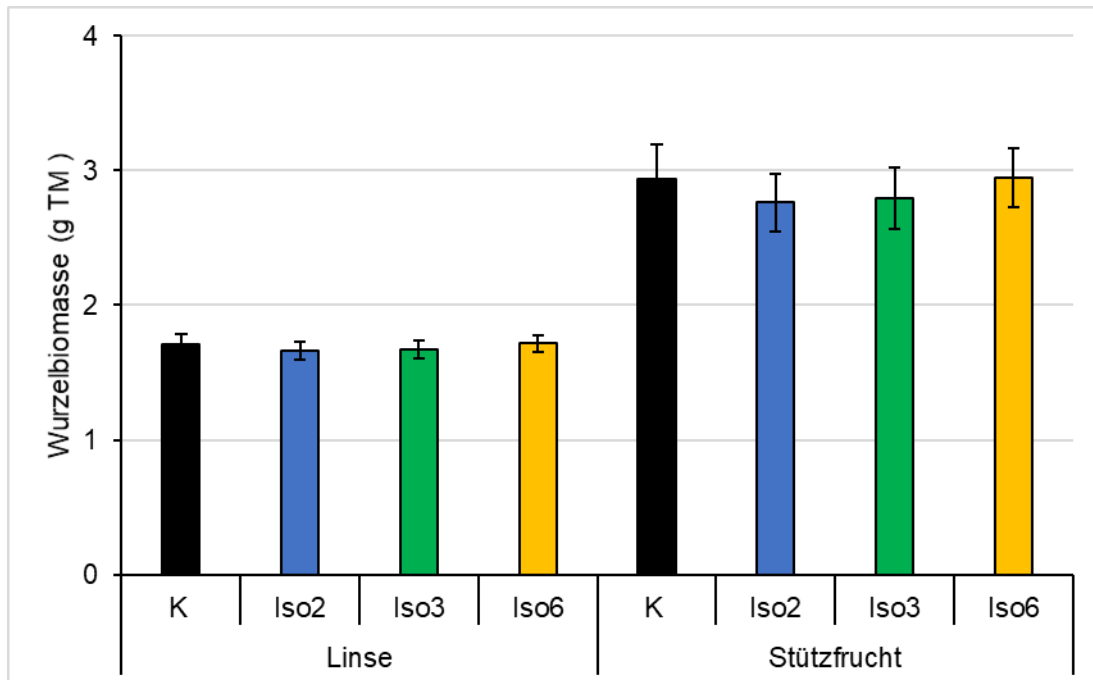


Abb. 27: Wurzelbiomasse (g TM pro 0.25 m²) von Linse und Stützfrucht der vier Varianten (K = ungeimpfte Kontrolle, Iso 2=Isolat 2, Iso3 = Isolat 3 und Iso6 = Isolat 6) gemittelt über die sechs Betriebe und den drei Biomassesschnitten in 2020. Fehlerbalken = Standardfehler.

Weiterhin zeigte die Auswertung der Wurzelbiomasse von Linse und Stützfrucht eine signifikante Interaktion von Betrieb*Schnitt (Tabelle 10). Der höchste Biomassertrag der Linsenwurzel wurde über alle Biomassesschnitte auf den Betrieben „Schmoll“ (6,38 g) und „Hagenlocher“ (6,1 g) erfasst, welche sich signifikant von den anderen Betrieben unterschieden. Innerhalb der Betriebe wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Biomassesschnitten in den Betrieben „Mammel“ und „Hagenlocher“ ermittelt. Auf den Betrieben „Häußler“, „Ott“ und „Kayser“ nahm die Wurzelbiomasse der Linse beim dritten Schnitt ab und unterschied sich damit signifikant von den ersten beiden Schnitten. Eine Zunahme der Wurzelbiomasse zum zweiten Schnitt gefolgt von einer Abnahme wurde auf dem Betrieb „Schmoll“ beobachtet.

Die höchsten Erträge der Wurzelbiomasse der Stützfrüchte erzielte Betrieb „Ott“ bei allen drei Schnittzeitpunkten sowie auch Betrieb „Häußler“ beim ersten Schnitt. Die geringste Biomasse wurde in allen Schnitten im Betrieb „Kayser“ für die Wurzeln der Stützfrucht erfasst. Innerhalb eines Betriebes gab es signifikante Unterschiede mit abnehmenden Biomassegewichten in den Betrieben „Häußler“, „Ott“, „Schmoll“ und „Kayser“. In dem Betrieb „Mammel“ nahm der Ertrag zum zweiten Biomassenschnitt hin zu und erreichte den höchsten Ertrag, bevor sich die Biomasse zum dritten Schnitt wieder verringerte. Für den „Betrieb „Hagenlocher“ gab es signifikante Unterschiede der ersten beiden Schnitte im Vergleich zum dritten Schnittzeitpunkt, an welchem die höchsten Erträge des Betriebes festgestellt wurden.

3.5.2.1.4 Stickstoff- und Proteingehalte von Linse und Stützfrucht

Tabelle 10: Oberirdische Biomasse (g TM pro 0.25 m²) von Linse und Stützfrucht (SF) der sechs Betriebe zu den drei Biomassenschnitten in 2020. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede der Biomassenschnitte eines Betriebes an und Großbuchstaben signifikante Unterschiede der Betriebe eines Biomassenschnittes für p<0,05 (LSD) an.

Wurzelbiomasse (g TM)									
Betrieb	Schnitt	Linse				Stützfrucht			
		Mittelwert	Std.fehler			Mittelwert	Std.fehler		
Häußler	1	2.5	± 0.3	bc	A	38.4	± 3.3	a	A
	2	2.3	± 0.3	b	A	17.7	± 2.1	b	B
	3	0.9	± 0.2	bc	B	10.7	± 1.6	b	C
Mammel	1	1.6	± 0.2	d	A	18.7	± 2.2	b	AB
	2	2.0	± 0.3	b	A	20.2	± 2.2	b	A
	3	1.6	± 0.3	b	A	13.5	± 1.8	ab	B
Ott	1	2.8	± 0.3	b	A	34.8	± 3.0	a	A
	2	2.7	± 0.4	b	A	27.3	± 2.5	a	A
	3	0.7	± 0.2	c	B	16.6	± 2.0	a	B
Kayser	1	1.9	± 0.2	cd	A	7.3	± 1.4	c	A
	2	1.9	± 0.3	b	A	3.1	± 0.9	d	B
	3	0.6	± 0.2	c	B	2.5	± 0.8	c	B
Schmoll	1	5.5	± 0.4	a	B	3.8	± 1.0	d	A
	2	7.3	± 0.6	a	A	2.6	± 0.8	d	AB
	3	6.3	± 0.6	a	AB	0.8	± 0.5	c	B
Hagenlocher	1	5.9	± 0.4	a	A	10.3	± 1.7	c	B
	2	6.6	± 0.6	a	A	9.1	± 1.5	c	B
	3	5.8	± 0.6	a	A	16.6	± 2.0	d	A

Für alle untersuchten Parameter wurden signifikante Unterschiede für die Betriebe gefunden. Dabei erreichte Betrieb Mammel bei Gesamtstickstoffgehalt (N_t) von Spross, Hülse, Korn und beim Proteingehalt die höchsten Werte (Tabelle 11). Nur bei dem Wurzel N_t Gehalt wurde im Betrieb Kayser ein höherer Gehalt (1,44 %) festgestellt. Die geringsten N_t Gehalte konnten für den Spross und die Wurzel bei Betrieb Hagenlocher (1,42 % und 1,02 %), für die Hülse im Betrieb Ott (1,21 %) und im Korn bei Betrieb Kayser (3,31 %) gemessen werden. Die statistische Auswertung ergab für die Varianten nur Signifikanzen in den beiden Parametern N_t im Korn und Proteingehalt. Die Varianten Kontrolle, Iso 2 und Iso 3 unterschieden sich dabei nicht signifikant voneinander und lagen in den Bereich von 3,93 - 4,03 % für N_t Korn und 24,5 - 25,2 % für den Proteingehalt des Kornes. Die Variante Iso 6 unterschied sich signifikant von den anderen Varianten und erzielte die geringsten N_t Korn und Proteingehalte (3,77 und 23,6 %).

Tabelle 11: Gesamtstickstoffgehalt (N_t) (%) von Linsenspross, -wurzel, -hülsen und -korn in den sechs Betrieben und den vier Varianten in 2020. K= ungeimpfte Kontrolle, Iso2 = Isolat 2, Iso3 = Isolat 3, Iso6 =Isolat 6. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Betrieben für $p < 0,05$ (LSD) an.

		N_t Spross (%)		N_t Wurzel (%)		N_t Hülse (%)		N_t Korn (%)		Proteingehalt Korn (%)						
		MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler					
Betrieb	Hagenlocher	1.42	± 0.06	d	1.02	± 0.04	c	1.30	± 0.01	bc	4.03	± 0.06	b	25.2	± 0.01	b
	Häußler	1.49	± 0.06	cd	1.03	± 0.04	c	1.24	± 0.01	d	4.20	± 0.06	a	26.2	± 0.01	a
	Kayser	1.69	± 0.07	b	1.44	± 0.04	a	1.25	± 0.02	cd	3.31	± 0.06	d	20.7	± 0.02	d
	Mammel	2.04	± 0.06	a	1.20	± 0.04	b	1.38	± 0.01	a	4.26	± 0.06	a	26.6	± 0.02	a
	Ott	1.58	± 0.06	bc	1.07	± 0.04	c	1.21	± 0.01	d	4.17	± 0.06	ab	26.1	± 0.01	ab
	Schmoll	1.71	± 0.06	b	1.04	± 0.04	c	1.33	± 0.01	b	3.77	± 0.05	c	23.6	± 0.01	c
Variante	K	1.63	± 0.06		1.14	± 0.03		1.63	± 0.04		3.99	± 0.07	a	25.0	± 0.01	a
	Iso 2	1.71	± 0.05		1.13	± 0.03		1.68	± 0.03		3.93	± 0.05	a	24.5	± 0.01	a
	Iso 3	1.63	± 0.05		1.10	± 0.03		1.69	± 0.03		4.03	± 0.05	a	25.2	± 0.01	a
	Iso 6	1.63	± 0.05		1.16	± 0.03		1.61	± 0.03		3.77	± 0.05	b	23.6	± 0.01	b
Typ 3 Tests der festen Effekte																
	Effekt	Num DF	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F
	Betrieb	5	14.79	<0.001	16.58	<0.001	18.67	<0.001	35.87	<0.001	35.82	<0.001				
	Variante	4	0.65	0.63	0.42	0.80	1.34	0.26	4.09	0.01	4.09	0.01	4.09	0.01	4.09	0.01
	ReinIso(Iso)	2	1.22	0.30	0.29	0.75	1.43	0.25	0.29	0.75	0.29	0.75	0.29	0.75	0.29	0.75

Die nach der maschinellen Ernte genommenen Proben zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Betrieben, jedoch keine Signifikanzen für die Varianten beim Proteingehalt von Linse und Stützfrucht (Tabelle 12). Die Betriebe Hagenlocher, Häußler und Ott hatten mit ca. 26 % Proteingehalt einen signifikant höheren Wert im Vergleich zum Betrieb Schmoll mit 25,2 %.

Tabelle 12: Proteingehalt (%) in Korn von Linse und Stützfrüchten der maschinellen Ernte in den vier Betrieben und vier Varianten in 2020. K= ungeimpfte Kontrolle, Iso2 = Isolat 2, Iso3 = Isolat 3, Iso6 =Isolat 6. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Betrieben für $p < 0,05$ (LSD) an.

		Proteingehalt Korn Linse (%)			Proteingehalt Korn SF (%)		
		MW	Std.fehler		MW	Std.fehler	
Betrieb	Hagenlocher	26.0	± 0.11	a	12.6	± 0.16	b
	Häußler	26.1	± 0.12	a	12.2	± 0.15	bc
	Ott	26.1	± 0.11	a	12.1	± 0.15	c
	Schmoll	25.2	± 0.11	b	20.5	± 0.26	a
Variante	K	25.9	± 0.13		0.8	± 0.02	
	Iso 2	25.9	± 0.11		0.8	± 0.01	
	Iso 3	25.9	± 0.12		0.8	± 0.01	
	Iso 6	25.6	± 0.11		0.8	± 0.01	
Typ 3 Tests der festen Effekte							
Effekt	Num DF	F-Wert Pr > F		F-Wert Pr > F			
Betrieb	3	16.31	<0.0001	427.3	<0.0001		
Variante	4	1.12	0.38	1.35	0.29		
ReinIso(Iso)	1	0.5	0.49	0.01	0.92		

3.5.2.2 Ergebnisse 2021

3.5.2.2.1 Linsenertrag, Linsen- und Hülsenanzahl

Bei der Auswertung der Linsenerträge konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsvarianten (unbeimpfte Kontrolle, Mischung der Isolate, Biokohle geimpft mit den Isolat) festgestellt werden (Abb. 28). Die Kovarianz-Parameter-Schätzung ergab einen deutlich höheren Einfluss der verschiedenen Betriebe (Standorte) auf den Ertrag sowie eine Betrieb*Variante-Interaktion. Von den drei Varianten erzielte die Mischung höhere Erträge ($0,76 \text{ t ha}^{-1}$) im Vergleich zur Kontrolle ($0,62 \text{ t ha}^{-1}$) und der Variante Mischung+Biokohle ($0,61 \text{ t ha}^{-1}$), allerdings waren diese Ergebnisse nicht signifikant verschieden. Dabei ist festzustellen,

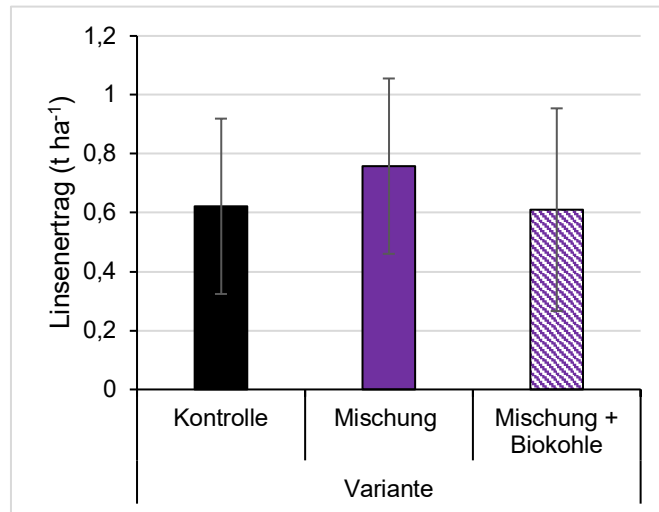


Abb. 28: Linsenertrag (t ha^{-1}) des dritten Biomasseschnittes in den drei Varianten in 2021. Fehlerbalken = Standardfehler.

dass zwischen den Betrieben große Ertragsunterschiede vorlagen. Auch bei der Anzahl Linsenkörner wurden ähnliche Ergebnisse festgestellt (Abb. 29). Die Anzahl unterschied sich nicht signifikant zwischen den Varianten. Die meisten Linsenkörner wurden in der Mischung

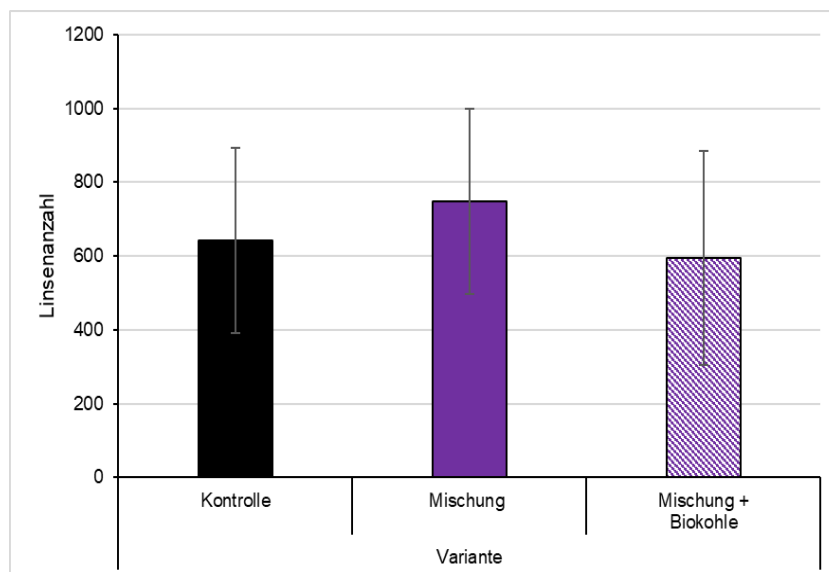


Abb. 29: Anzahl der Linsenkörner ($1/4 \text{ m}^2$) des dritten Biomasseschnittes in den drei Varianten in 2021. Fehlerbalken = Standardfehler.

gezählt (749 Körner 0,25 m⁻²). Die Kontrollvariante ohne Inokulation mit Rhizobien bildete durchschnittlich 642 Körner 0,25 m². Die Auswertung der Hülsenanzahl ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Varianten und den zwei Biomasseschnitten. Die Hülsenanzahl nahm nach dem zweiten Biomasseschnitt um durchschnittlich 150 Hülsen ab. Innerhalb der Varianten wurde die höchste Hülsenanzahl in der Mischung erfasst (814), gefolgt von der Kontrolle (772) und der Variante Mischung + Biokohle (734). Die Analyse des dritten Schnittzeitpunktes ergab keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl an gefüllten Hülsen und leeren Blindhülsen. Die Variante Mischung produzierte circa 81 % gefüllte Hülsen und 19 % Blindhülsen, die Variante mit Biokohle 79% gefüllte Hülsen und 21% leere Hülsen und die Kontrolle 77% gefüllte Hülsen sowie 23% Blindhülsen.

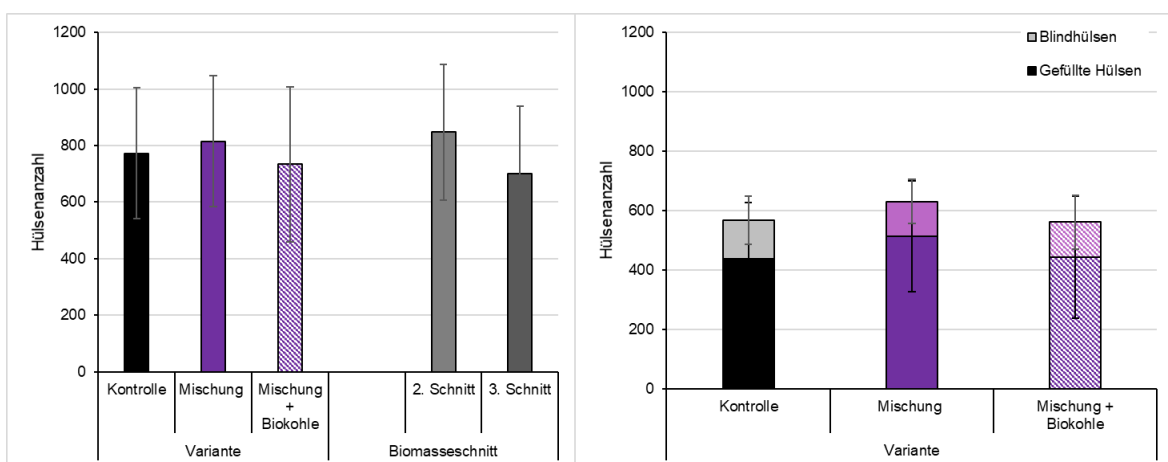


Abb. 30: Anzahl an Hülsen in den drei Varianten und den zwei Biomasseschnitten (links) und Anzahl an gefüllten Hülsen und leeren Blindhülsen des dritten Biomasseschnittes (rechts) in 2021. Fehlerbalken = Standardfehler.

3.5.2.2.2 Gesamtstickstoffgehalte von Linse

Für die drei Biomasseschnitte die statistische Auswertung des Gesamtstickstoffgehaltes sowie der Proteingehaltes im Korn der Linse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten. Die N_T-Gehalte lagen für die Parameter in den folgenden Bereichen: Spross: 2,20 – 2,25 %, Wurzel: 1,39 -1,45 %, Hülse: 1,77-1,99 % und Korn: 4,18 – 4,29 %. Der Proteingehalt des Linsenkornes lag für alle Varianten bei durchschnittlich 26,0 %.

Die statistische Auswertung des Proteingehaltes der nach der maschinellen Ernte der Landwirte entnommenen Proben zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten (Tabelle 13). Der Proteingehalt der Linse lag in der Variante Mischung bei 27,2 % und in der Kontrolle bei 26,8 % und entsprach damit den Proteingehalten, die im letzten Biomasseschnitt ermittelt wurden.

Tabelle 13: Gesamtstickstoffgehalt (N_t) (%) von Linsenspross, -wurzel, -hülse und -korn sowie Proteingehalt in den drei Varianten in 2021. K=Kontrolle, M=Mischung, M+BK=Mischung & Biokohle; Std.fehler= Standardfehler

Variante	N _t Spross (%)		N _t Wurzel (%)		N _t Hülse (%)		N _t Korn (%)		Proteingehalt Korn (%)	
	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler	MW	Std.fehler
K	2.20	± 0.11	1.45	± 0.07	1.77	± 0.20	4.21	± 0.07	26.29	± 0.43
M	2.25	± 0.11	1.42	± 0.07	1.87	± 0.20	4.29	± 0.07	26.84	± 0.43
M+BK	2.22	± 0.26	1.39	± 0.08	1.99	± 0.45	4.18	± 0.10	26.10	± 0.62

Typ 3 Tests										
Effekt	Num	DF	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F	F-Wert	Pr > F
Variante	2		0.09	0.91	0.96	0.44	0.19	0.83	3.37	0.12

3.5.2.2.3 Knöllchenanzahl und –aktivität

Bei der Auswertung der Knöllchenanzahl pro Pflanzenwurzel gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten. Die Biomasseschnitte unterschieden sich jedoch signifikant voneinander. Die höchste Anzahl an Knöllchen wurden im ersten Biomasseschnitt mit 16,2 Knöllchen pro Wurzel erfasst, gefolgt von 14,9 Knöllchen pro Wurzel im zweiten Schnitt. Die beiden Schnitte unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Der dritte Biomasseschnitt zeigte jedoch signifikante Unterschiede zu den ersten beiden Schnitten. Die Anzahl der Knöllchen nahm ab und die Wurzeln hatten durchschnittlich nur noch 9,5 Knöllchen pro Wurzel (Abb.31).

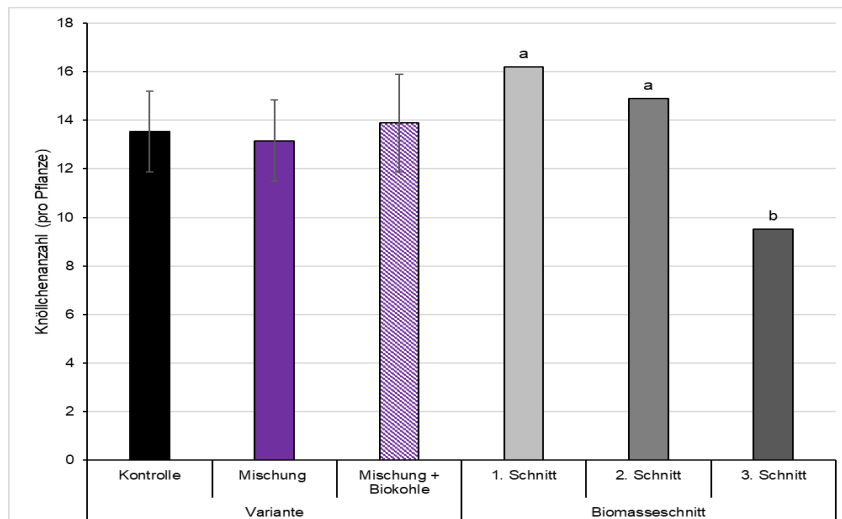


Abb. 31: Knöllchenanzahl pro Pflanzenwurzel in den drei Varianten und den drei Biomasseschnitten in 2021. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Biomasseschnitten für $p < 0,05$ (LSD) an; Fehlerbalken = Standardfehler.

Die Aktivität der Knöllchenwurzeln unterschied sich nicht signifikant zwischen den Varianten. Die geringste Anzahl von durchschnittlich 3,6 von 10 aktiven Knöllchen wurde in der Kontrolle bestimmt und die meisten Knöllchen in der Variante Mischung + Biokohle (4,3 von 10). Für die Biomasseschnitte wurden signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Biomasseschnitten gefunden. Die höchste Aktivität wurde im ersten Biomasseschnitt erfasst (7 aus 10). Mit zunehmender Vegetationsdauer nahm die Knöllchenaktivität weiter ab und erreicht zum Zeitpunkt der Erntereife (3. Schnitt) die geringste Aktivität (0,3 aus 10, Abb. 32).

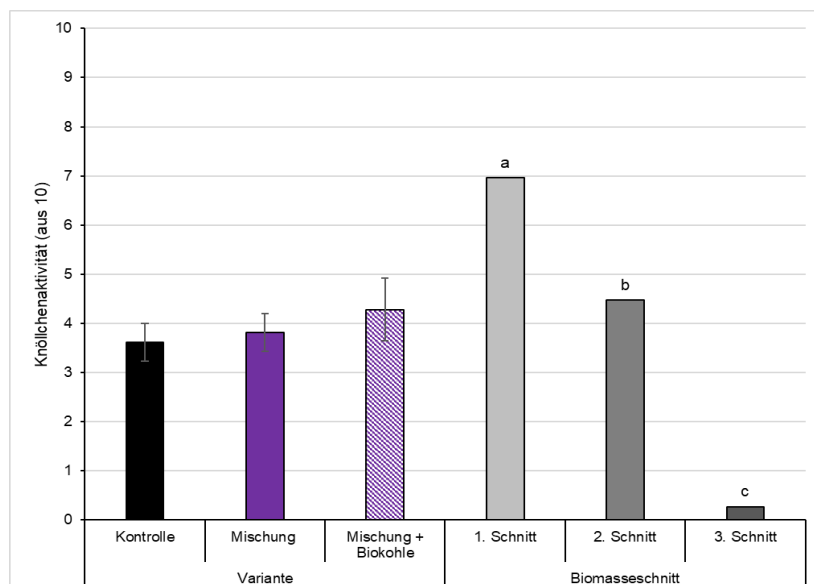


Abb. 32: Knöllchenaktivität (aus 10) der drei Varianten und der drei Biomasseschnitten in 2021. Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Biomasseschnitten für $p < 0,05$ (LSD) an; Fehlerbalken = Standardfehler.

3.5.3 Diskussion

Frühere Studien weisen auf die positiven Wirkungen der Rhizobienimpfung auf Biomasse und Ertrag bei Linsen hin (Argaw, 2013; El-Wakeil & El-Sebai, 2007; Khanna & Sharma, 2011; Pereyra et al., 2015), jedoch zeigten die Versuchsergebnisse im On-Farm-Versuch für die Jahre 2020 in 2021 keine signifikanten Unterschiede zwischen den mit Rhizobien beimpften Pflanzen und der Kontrolle. Bei den Ertragsparametern hatten die Isolate lediglich eine signifikante Wirkung auf das Samengewicht sowie den Proteingehalte im Linsenkorn. Im Gegensatz zu den erwarteten höheren Erträgen für alle Isolate hatte die Kontrolle in 2020 einen höheren Samenertrag als die drei mit Isolaten behandelten Varianten. Mit einem durchschnittlichen Ertrag von $1,4 \text{ t ha}^{-1}$ lag die Kontrolle höher als der weltweite Durchschnitt von 10 t ha^{-1} im Jahr 2018 (FAOSTAT, 2020) und höher als die Ertragsprognosen für Deutschland zwischen $0,4$ und $1,2 \text{ t ha}^{-1}$ (LTZ, 2019). Allerdings wurde dieser Ertrag durch händisch durchgeführten Biomasseschnitten ermittelt, wodurch der Ertrag überschätzt wird. Im maschinellen Drusch sind die Ernteverluste deutlich höher. Insofern sollten diese Ertragsergebnisse im Vergleich zu Ertragsdaten aus einer echten maschinellen Ernte nicht überbewertet werden. Eine höhere Knöllchenaktivität führte nicht unbedingt zu höheren Erträgen. Nach Thies et al., (1991) hängt die Knöllchenaktivität von den Boden- und Klimabedingungen, aber auch vom pflanzenverfügbaren Stickstoff im Boden und von der Qualität der einheimischen Rhizobienpopulationen ab. Die Leguminosen reagieren am stärksten auf die Inokulation, wenn sie zum ersten Mal auf einer bestimmten Fläche angebaut werden. Danach ist die Wirkung abnehmend (Thies et al., 1991; van Kessel & Hartley, 2000). Da Rhizobien saprophytisch im Boden überleben können, können sie sich auf einem Feld etablieren und einen stabilen einheimischen Stamm aufbauen (van Kessel & Hartley, 2000) was vermutlich auf den Flächen der Partnerbetriebe der Fall ist, da die im Projekt mitwirkenden Landwirte bereits seit mehreren Jahren Linsen anbauen. Außerdem zeigen verschiedene Stämme sehr unterschiedliche Wirkungen, was darauf hindeutet, dass die Symbiose zwischen *R. leguminosarum* und der Linse (*Lens culinaris* Med.) sehr spezifisch ist und sich die Wirksamkeit je nach Rhizobienstamm ändern kann (Bremer et al., 1990). Die Ergebnisse der Versuche deuten darauf hin, dass genügend und gut etablierte Rhizobienstämme im Boden vorhanden waren. Somit konnte die Zugabe von Rhizobien über die Beimpfung des Saatguts den Linsenertrag nicht verbessern. Auch der Einsatz von Biokohle als Trägerstoff für die Isolatmischung in 2021 konnte den Ertrag nicht positiv beeinflussen. Genaue Rückschlüsse über den Einfluss der Isolatmischung und sowie des Einsatzes von Biokohle als Trägerstoff der Rhizobien konnte anhand der Unterschiede in den Versuchen auf den verschiedenen Betrieben sowie der hohen Niederschläge in 2021 nicht gezogen werden. Grundsätzlich muss an dieser Stelle angemerkt werden, dass alle Ergebnisse aus den On-Farm-Versuchen mit sehr großen Unsicherheiten behaftet sind und nur unter ausgesprochener Vorsicht interpretiert

werden dürfen, da die verschiedenen Isolate bzw. Isolat-Biokohlemischung lediglich einjährig geprüft wurden. Dies entspricht nicht den wissenschaftlichen Standards zur Untersuchung von Impfmitteln in On-Farm-Versuchen. Der Universität Hohenheim wurden von nadicom im Versuchsjahr 2020 jedoch nur die Mischung der Isolate und die Mischung der Isolate mit Biokohle zur Verfügung gestellt, so dass auch die Isolate 2, 3 und 6 nicht zweijährig geprüft werden konnten. Aufgrund des Projektendes zum 31.03.2021 konnte auch kein weiteres Untersuchungsjahr zur Prüfung der Mischung der drei Isolate und die Mischung + Biokohle durchgeführt werden. Um statistisch besser abgesicherte Aussagen treffen zu können, wäre eine Wiederholung der Versuche sinnvoll. Für weitere Versuche wäre es außerdem interessant, die Inokulationseffekte zwischen den Betrieben genau zu unterscheiden und dies in Zusammenhang mit den Vorfrüchten und den dadurch möglichen Rhizobienstämmen im Boden zu bringen. Außerdem liegen den Versuchsanstellern so gut wie keine Informationen über die in den Isolaten enthaltenen Rhizobienstämme und die im Boden vorhandenen einheimischen Stämme vor. Eine genauere Kenntnis der Rhizobienstämmen könnte dazu beitragen, die Wechselwirkungen zwischen den Rhizobien im Boden und den durch die Inokulation hinzugefügten Stämmen richtig zu bewerten.

4 Fazit

Leguminosen können aufgrund von Knöllchenbakterien Stickstoff aus der Luft binden. Für jede Leguminose gibt es dabei Bakterienstämme die an sie angepasst ist. Für die Linse sind dies *Rhizobium leguminosarium*-Stämme. Bei vielen Leguminosen konnten Mehrerträge beim Einsatz von Impfmitteln erzielt werden wobei bisher im Linsenanbau in Deutschland keine Impfmittel eingesetzt werden und es daher unklar ist, ob eine Beimpfung bei Linsen ähnlich positive Effekte erzeugen würde. Im Projekt Rhiozolinse wurden unterschiedliche Impfmittel im Gefäßversuch, im Exaktversuch und in On-Farm-Versuchen geprüft. Zum aktuellen Stand (nach Projektende) können aus pflanzenbaulicher Sicht die in dem Projekt geprüften Impfmittel sowie Biokohle als Trägerstoff nicht für den Einsatz im Linsenanbau empfohlen werden. Gründe dafür sind (I) der fehlende statistisch signifikante Mehrertrag der Isolate (einzeln oder in Mischung) über alle Sorten und Varianten hinweg und. (II) die Sorten*Varianten Interaktion beim Linsenertrag, die im Exaktversuch dokumentiert wurde. Die ertragsschwächere Sorte „Späth's Alblinse I“ zeigte eine leichte Ertragssteigerung bei einzelnen Isolaten wohingegen diese bei „Anicia“, der am häufigsten in der Praxis genutzte Sorte, keine Wirkung zeigten. Um in der Praxis eingesetzt werden zu können, muss ein Impfmittel bei allen Sorten stabil wirken. Es gilt, dass der Ertragseffekt der Isolate deutlich und stabil über dem der natürlichen Inokulation liegen muss, um für die Landwirte vorteilhaft zu sein: Solche Ertragseffekte wurden im Projekt mit den geprüften Isolaten und Mischungen nicht erreicht. Allerdings zeigt der geringe Mehrertrag, der durch die Impfung mit einzelnen Isolaten bei der Sorte „Späth's Alblinse I“ erzielt wurde, dass die Isolate prinzipiell zu höheren Erträgen führen können, aber noch eine umfangreiche Weiterentwicklung notwendig ist, sollten sie in der landwirtschaftlichen Praxis eingesetzt werden.

Für eine weitere Prüfungen für ein aus pflanzenbaulicher Sicht funktionierendes Impfmittel für Linsen sind sollten die zu testenden Varianten über mehrere Jahre (Empfohlen: 3 Jahre) in Exaktversuchen auf mehreren Standorten getestet werden um die Impfmittel zu prüfen und mit anderen Bakterienstämmen und über mehrere Sorten hinweg zu testen. Der Wechsel der Isolate in den Versuchsjahren, sowie die kurzen Zeiträume der Testung und keine Prüfung der Mischung (aus 2021) im Exaktversuch schwächen die Aussagekraft der Ergebnisse dieses Projektes. Weiterhin gibt es keine Erkenntnisse, ob sich die Bakterienstämmen aus den Isolaten gegen die natürlich vorkommenden Rhizobien durchsetzen konnten, da keine entsprechenden Untersuchungen im Rahmen des Projektes durchgeführt wurden. Eine genetische Untersuchung der Rhizobien in den Knöllchen der beimpften Pflanzen zur Erfolgskontrolle der Inokulation wäre hierzu sinnvoll gewesen. Empfehlenswert wäre zusätzlich eine Prüfung der Formulierung der Impfmittel, da es zum aktuellen Zeitpunkt keine Erkenntnisse zum Einfluss der Formulierung des Impfmittels (fest –flüssig) auf die Linse gibt.

Falls zukünftig ein Impfmittel gefunden wird, das stabil und über alle Sorten hinweg zu einem Mehrertrag führt, ist zusätzlich eine ökonomische Bewertung notwendig. Selbst wenn ein Mehrertrag durch den Einsatz von Impfmitteln bei Linsen erzielt werden kann, spielen die Kosten des Impfmittels sowie der zeitliche Mehraufwand für die Impfung eine große Rolle in der landwirtschaftlichen Praxis. Im Unterschied zu Soja und Kichererbsen, deren Rhizobien in Deutschland nicht vorkommen und für die daher eine Impfung des Saatguts unumgänglich ist, kommt *R. leguminosarum* als Symbiont der Linse in den Böden Baden-Württembergs vor. Ein Impfmittel muss also zu einem deutlichen Mehrertrag führen, um den Mehraufwand und die Mehrkosten für das Impfmittel zu kompensieren.

5. Literaturangaben

- Argaw A (2013) Evaluation of symbiotic effectiveness and size of resident *Rhizobium leguminosarum* var. *viciae* nodulating lentil (*Lens culinaris* medic) in some Ethiopian soils. *Arch Agron Soil Sci* 59:929–945. <https://doi.org/10.1080/03650340.2012.690144>
- Bazzano LA, He J, Ogden LG, Loria C, Vupputuri S, Myers L, Whelton PK (2001) Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Intern Med* 161:2573–2578. <https://doi.org/10.1001/archinte.161.21.2573>
- Beck DP, Materon LA, Afandi F (1993) Practical *Rhizobium*-legume technology manual. In: *Technical Manual - International Center for Agricultural Research in the Dry Areas*. p 389 pp
- Blessing C, Finck M, Hüsgen K (2022) Linse (*Lens culinaris*) - Hinweise zum Pflanzenbau
- Bourion V, Laguerre G, Depret G, Voisin AS, Salon C, Duc G (2007) Genetic variability in nodulation and root growth affects nitrogen fixation and accumulation in pea. *Ann Bot* 100:589–598. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm147>
- Boye J, Zare F, Pletch A (2010) Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Res Int* 43:414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Bremer E, Van Kessel C, Nelson L, Rennie RJ, Rennie DA (1990) Selection of *Rhizobium leguminosarum* strains for lentil (*Lens culinaris*) under growth room and field conditions. *Plant Soil* 121:47–56. <https://doi.org/10.1007/BF00013096>
- Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Oomah BD (2010) Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Res Int* 43:461–482. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.004>
- Cubero JI, de la Vega Pérez M, Fratini R (2009) Origin, phylogeny, domestication and spread. *Lentil Bot Prod uses* 13–33. <https://doi.org/10.1079/9781845934873.0013>
- Dudda E (1985) Linsenbau – eine Variante im Angebot landwirtschaftlicher Produkte?! 59
- El-Wakeil NE, El-Sebai TN (2007) Role of biofertilizer on faba bean growth, yield, and its effect on bean aphid and the associated predators. *Res J Agric Biol Sci* 3:800–807. <https://doi.org/10.1080/03235400701650882>
- Erskine W (2009) Global Production, Supply and Demand. In: *The Lentil: Botany, Production and Uses*. pp 4–12
- FAO (2022) Compare Data - Lentil. <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>
- Ferguson ME, Maxted N, Slageren M Van, Robertson LD (2000) A re-assessment of the taxonomy of *Lens* Mill. (Leguminosae, Papilionoideae, Viciae). *Bot J Linn Soc* 133:41–59. <https://doi.org/10.1006/bojl.1999.0319>
- Grusak MA (2009) Nutritional and Health-beneficial Quality. In: *The Lentil: Botany, Production and Uses*. CAB International, pp 368–390
- Harun-or Rashid M, Gonzalez J, Young JPW, Wink M (2014) *Rhizobium leguminosarum* is the symbiont of lentils in the Middle East and Europe but not in Bangladesh. *FEMS Microbiol Ecol* 87:64–77. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12190>
- Hobbs SLA, Mahon JD (1982) Effects of pea (*Pisum sativum*) genotypes and *Rhizobium leguminosarum* strains on N₂(C₂H₂) fixation and growth. *Can J Bot* 60:2594–22600. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/b82-315>

- Hossain Z, Wang X, Hamel C, Gan Y (2017) Nodulation and nitrogen accumulation in pulses vary with species, cultivars, growth stages, and environments. *Can J Plant Sci* 98:527–542. <https://doi.org/10.1139/cjps-2017-0114>
- Howard JB, Rees DC (1996) Structural basis of biological nitrogen fixation. *Chem Rev* 96:2965–2982. <https://doi.org/10.1021/cr9500545>
- Huang J, Keshavarz Afshar R, Chen C (2016) Lentil Response to Nitrogen Application and Rhizobia Inoculation. *Commun Soil Sci Plant Anal* 47:2458–2464. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1254786>
- Jarpa-Parra M (2018) Lentil protein: a review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. *Int J Food Sci Technol* 53:892–903. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13685>
- Khanna V, Sharma P (2011) Potential for enhancing lentil (*Lens culinaris*) productivity by co-inoculation with PSB, plant growth-promoting rhizobacteria and *Rhizobium*. *Indian J Agric Sci* 81:932–934
- Kim J, Rees DC (1994) Nitrogenase and Biological Nitrogen Fixation. *Biochemistry* 33:389–397
- Ladizinsky G (1979) The Origin of Lentil and its Wild Genepool. *Euphytica* 28:179–187
- Lau JA, Bowling EJ, Gentry LE, Glasser PA, Monarch EA, Olesen WM, Waxmonsky J, Young RT (2012) Direct and interactive effects of light and nutrients on the legume-rhizobia mutualism. *Acta Oecologica* 39:80–86. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2012.01.004>
- Leibnitz E (1974) Brockhaus ABC Landwirtschaft, 3rd edn. Brockhaus Verlag, Leipzig
- Manjunath A, Bagyaraj DJ, Gowda HSG (1984) Dual inoculation with VA mycorrhiza and *Rhizobium* is beneficial to *Leucaena*. *Plant Soil* 78:445–448. <https://doi.org/10.1007/BF02450380>
- May SN, Bohlool BB (1983) Competition among *Rhizobium leguminosarum* strains for nodulation of lentils (*Lens esculenta*). *Appl Environ Microbiol* 45:960–965. <https://doi.org/10.1128/aem.45.3.960-965.1983>
- Mylona P, Pawlowski K, Bisseling T (1995) Symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell* 7:869–885. <https://doi.org/https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.869>
- Pereyra G, Hartmann H, Michalzik B, Ziegler W, Trumbore S (2015) Influence of rhizobia inoculation on biomass gain and tissue nitrogen content of *Leucaena leucocephala* seedlings under drought. *Forests* 6:3686–3703. <https://doi.org/10.3390/f6103686>
- Pflaum S, Mammel W, Lenz R, Sneyd J, Zimmermann C, Pektrun C (2011) Linsenprojekt-Abschlussbericht 2008–2010. 77
- Piepho HP (2012) A SAS macro for generating letter displays of pairwise mean comparisons. *Commun Biometry Crop Sci* 7:4–13
- Pommeresche, R., & Hansen S (2017) Examining root nodule activity. 1–4
- Reece JB, Urry LA, Crain ML, Wassermann SA, Minorsky P V, Jackson R (2016) Campbell Biologie, 10. Pearson, Hallbergmoos, Germany
- Rizvi AH, Aski M, Sarker A, Dikshit HK, Yadav P (2019) Origin, Distribution, and Gene Pools. In: Singh M (ed) *Lentils - Potential Resources for Enhancing Genetic Gains*. Elsevier, pp 7–19
- Shisanya CA (2002) Improvement of drought adapted tepary bean (*Phaseolus acutifolius* a.

- Gray var. latifolius) yield through biological nitrogen fixation in semi-arid SE-Kenya. *Eur J Agron* 16:13–24. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(01\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00117-4)
- Spehn EM, Scherer-Lorenzen M, Schmid B, Hector A, Caldeira MC, Dimitrakopoulos PG, Finn JA, Jumpponen A, O'Donovan G, Pereira JS, Schulze ED, Troumbis AY, Körner C (2002) The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos* 98:205–218. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980203.x>
- Tena W, Wolde-Meskel E, Walley F (2016) Symbiotic efficiency of native and exotic *Rhizobium* strains nodulating lentil (*Lens culinaris* Medik.) in soils of southern Ethiopia. *Agronomy* 6:1–10. <https://doi.org/10.3390/agronomy6010011>
- Thies JE, Singleton PW, Bohlool BB (1991) Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. *Appl Environ Microbiol* 57:19–28. <https://doi.org/10.1128/aem.57.1.19-28.1991>
- Tricot F, Crozat Y, Pellerin S (1997) Root system growth and nodule establishment on pea (*Pisum sativum* L.). *J Exp Bot* 48:1935–1941. <https://doi.org/10.1093/jxb/48.11.1935>
- Virtanen AI, Laine T (1946) Red, brown and green pigments in leguminous root nodules. *Nature* 157:25–26
- Wang L, Gruber S, Claupein W (2012) Optimizing lentil-based mixed cropping with different companion crops and plant densities in terms of crop yield and weed control. *Org Agric* 2:79–87. <https://doi.org/10.1007/s13165-012-0028-5>
- Wilson DO, Reisenauer HM (1963) Determination of leghemoglobin in legume nodules. *Anal Biochem* 6:27–30. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(63\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(63)90004-6)
- Young JPW, Johnston AWB, Brewin NJ (1982) A SEARCH FOR PEAS (*PISUM SATIVUM* L.) SHOWING STRAIN SPECIFICITY FOR SYMBIOTIC RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM. *Heredity* (Edinb) 48:197–201
- Zaccardelli M, Campanile F, Del Galdo A, Lupo F (2012) Selection of *Rhizobium* isolates able to improve productivity of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci* 62:256–262. <https://doi.org/10.1080/09064710.2011.605386>
- Zhang B, Deng Z, Ramdath DD, Tang Y, Chen PX, Liu R, Liu Q, Tsao R (2015) Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chem* 172:862–872. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144>
- Zhang B, Deng Z, Tang Y, Chen P, Liu R, Ramdath DD, Liu Q, Hernandez M, Tsao R (2014) Fatty acid, carotenoid and tocopherol compositions of 20 Canadian lentil cultivars and synergistic contribution to antioxidant activities. *Food Chem* 161:296–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.014>