

Unterschiedliche Nitrogenaseaktivität steriler Keimpflanzen deutscher Getreidesorten nach Beimpfung mit *Azospirillum* spp.

Wachstum unterschiedlich aktiver Pflanzen im Gefäßversuch und Nitrogenaseaktivität steriler, beimpfter Keimpflanzen der F 1-Generation

GERHARD JAGNOW

Institut für Bodenbiologie

Einleitung

Kultursorten verschiedener Getreidearten zeigen oft charakteristische Unterschiede, wenn ihre spontan oder nach Beimpfung mit N₂-bindenden Rhizosphärebakterien besiedelten Wurzeln mit dem Acetylen-Reduktionstest (Hardy et al., 1973) auf Nitrogenaseaktivität geprüft werden. So wurden bei überflutetem Reis zwischen Wild- und Kultursorten sowohl in Gefäßversuchen (Ohta et al., 1984) als auch in Feldversuchen, bei denen Wurzelproben untersucht wurden (Tao und Rao, 1985), Unterschiede der Nitrogenaseaktivität der natürlichen Mikroflora gefunden, die bis um den Faktor 10 variierten. Sortenspezifische Unterschiede der Nitrogenaseaktivität der natürlichen Rhizosphärenmikroflora wurden auch bei Futtergräsern (*Brachiaria* spp.) und Zuckerrohr gefunden (Pereira et al., 1981; Ruschel und Ruschel, 1981).

Verschiedene Autoren haben solche Vergleiche der Fähigkeit, durch Wurzelausscheidungen Wachstum und Nitrogenaseaktivität N₂-bindender Bakterien in der Rhizosphäre zu ermöglichen, auch an steril angezogenen und (meist mit *Azospirillum* spp.) beimpften Keimpflanzen mehrerer Getreidearten durchgeführt. Dabei ergaben sich ebenfalls starke Sortenunterschiede bei Reis (Charyulu et al., 1985), *Sorghum bicolor* (Kiepe-Nolt et al., 1985), Mais (Ela et al., 1982) und *Pennisetum americanum* (Bouton et al., 1985; Venkateswarlu und Rao, 1985). In einem ähnlichen Testverfahren wurden hier auch deutsche Getreidesorten untersucht. Dabei zeigte sich, daß bei den Weizensorten „Max“, „Disponent“ und „Kadett“ Anteile von 66, 26 bzw. nur 3% der geprüften Keimpflanzen nach Beimpfung mit *Azospirillum* Nitrogenaseaktivität zeigten und daß diese Anteile positiver Pflanzen reproduzierbar und statistisch zu sichern waren (Jagnow, 1985).

In dieser Arbeit sollten weitere Kultursorten einbezogen und geprüft werden, ob das positive oder negative „nis“ (nitrogen fixation supporting; Rennie et al., 1983) – Merkmal von Elternpflanzen sich auch bei der F1-Generation wiederfindet. An den hierbei erforderlichen Gefäß-Nachzuchten sollte auch geprüft werden, ob sich eine positive oder negative „nis“-Eigenschaft auf Ertragsmerkmale und Wurzelpopulationen von *Azospirillum* auswirkt.

1 Material und Methoden

1.1 Saatgut

Saatgut von neun Weizensorten, vier Gerstensorten und einer Roggensorte wurden vom Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der FAL zur Verfügung gestellt.

1.2 Sterile Keimlingsversuche

Jeweils 100 Samen wurden (modifiziert nach Barber, 1967) mit 70 % Ethanol überschichtet und im Vakuum (0,1 bar) 2 Min. infiltriert, Ethanol dekantiert, 20 ml 0,5 % HgCl₂-Lösung zugegeben und erneut 2 Min. bei 0,1 bar infiltriert. Anschließend wurde HgCl₂ durch sechsmaliges Waschen im Vakuum (2 Min.) mit sterilem Wasser entfernt und in 50 ml 1:5 verdünnter Chlorbleichlauge (NaOCl) nochmals 2 Min. evakuiert, zweimal mit sterilem Wasser im Vakuum (2 Min.) nachgewaschen und 2 Stunden in 50 ml einer 1 %igen Hydroxylamin-HCl-Lösung stehen gelassen. Nach Dekantieren wurden die Körner ohne Nachwaschen über Nacht im Exsiccator getrocknet. Das angetrocknete Desinfektionsmittel wurde durch sechsmaliges Waschen mit sterilem Wasser im Vakuum ausgewaschen und die Körner auf sterilem Wasseragar bei Raumtemperatur im Dunkeln zum Keimen ausgelegt. Auf diese Weise wurde eine befriedigende Sterilisation der Samenschale ohne Schädigung der Keimlinge erreicht.

Sterile Keimlinge mit 10–20 mm Wurzellänge wurden in 18 mm Reagenzgläser mit 4 ml steriler, N-freier Mineralsalzlösung nach Hoagland (modifiziert nach Robbins und Kavanagh, 1938) mit 0,2 % Oxoid Agar Nr. 3 übertragen und die Gläser mit Aluminium-Kappen verschlossen. Sie wurden vor Sonnenstrahlung geschützt bei Tageslicht und Raumtemperatur bis zu einer Koleoptillenlänge von 10–30 mm wachsen gelassen und mit 0,1 ml einer in Phosphatpuffer (0,1 n, pH 7.0) gewaschenen Suspension von *Azospirillum brasilense* (ATCC 29 710) oder *A. lipoferum* (FAL-Isolat aus Mais: Jagnow, 1982) mit einer O.D.₅₄₀ von ca. 1,0 beimpft. Die Bakterien wurden 24 h bei 20 °C in halbkonzentrierter nutrient broth angezogen. Nach Beimpfung wurden die Keimlinge 3–4 Tage im Klimaschrank mit Tageslicht-Leuchtröhren (ca. 2000 Lux) in einem Tag/Nacht-Rhythmus von 16 h (28 °C) und 8 h (20 °C) bis zum Rand der Reagenzgläser wachsen gelassen. Die Kappen wurden dann durch gasdichte, sterile Weichgummikappen ersetzt, mittels einer gasdichten Spritze mit 2 ml Acetylen begast und im Dauerlicht 24 h bei 28 °C weiter inkubiert. Danach wurden 0,5 ml Gasproben entnommen, gaschromatographisch auf ihren Gehalt an Ethylen untersucht (Jagnow, 1983) und aus Gasvolumen und Inkubationsdauer die Nitrogenaseaktivität je Keimpflanze (nmol C₂H₄ · h⁻¹) berechnet.

1.3 Topfkultur bis zur F1-Generation

Neunzehn „nis“-positive (8–34 nmol C₂H₄ · h⁻¹) und vierzehn „nis“-negative Keimlinge von Sommerweizen cv. „Max“ bzw. neunundzwanzig aktive (6–20 nmol C₂H₄ · h⁻¹) und vierundzwanzig inaktive Pflanzen von Sommergerste cv. „Koral“ wurden nach dem Test in vorbereitete 13 cm Plastik-Blumentöpfe mit einer Mischung aus 50 Vol.% gesiebter Parabraunerde (Jagnow, 1983) und 50 Vol.% porösem Perlit-Granulat verpflanzt, im Gewächshaus weiterkultiviert und nach Bedarf mit Leitungswasser bewässert.

Nach 30 und 60 Tagen wurde mit einer modifizierten Hoagland-Nährlösung (Robbins und Kavanagh, 1983) gedüngt, die neben Spurenelementen N, P und K in einer 49, 9 und 11 kg · ha⁻¹ entsprechenden Dosierung enthielt. Nach dem Ährenschieben wurden von der „nis“-positiven Gruppe der Sommergerste „Koral“ die Wurzelballen vorsichtig entnommen, je ein Wurzelstrang entfernt und wieder eingetopft. Von jedem Wurzelstrang wurde die Rhizosphärenpopulation von *Azospirillum* bestimmt (Jagnow, 1983). Vor der Blüte wurden die Ähren von je zwei Pflanzen mit ähnlicher Keimlings-Nitrogenaseaktivität zur Vermeidung der Kreuzung aktiver mit inaktiven Pflanzen in einer Tüte eingeschlossen und bis zur Kornreife weiter kultiviert, zuletzt ohne Bewässerung. Bei der Ernte wurden von jedem Topf Wurzel- und Sproßtrockengewichte (70°C) sowie ihre N-Gehalte nach Kjeldahl-Aufschluß bestimmt. Die Körner wurden nach Pflanze getrennt geerntet und an Sammelproben von je 1–2 Körnern „nis“-positiver und negativer Pflanzen ihre Trockengewichte bestimmt. Von Sommerweizen „Max“ wurden die übrigen Körner nach Pflanze getrennt sterilisiert, zur Keimung gebracht und die Nitrogenaseaktivität der F1-Jungpflanzen wie unter 1.1 beschrieben getestet.

2 Ergebnisse

2.1 Sterile Keimlingsversuche

Die Keimpflanzen der geprüften Weizen-, Gerste- und Roggensorten zeigten sowohl hinsichtlich des Anteils beimpfter Pflanzen mit Nitrogenaseaktivität als auch hinsichtlich der Maximalwerte ihrer aktivsten Pflanzen signifikante Unterschiede (Tabelle 1).

Vorversuche mit Sommerweizen „Max“ sowie Sommergerste „Koral“ und Wintergerste „Diana“ hatten ergeben, daß Beimpfung mit beiden *Azospirillum*-Arten vergleichbare Anteile und Aktivitäten der Keimpflanzen ergab. Deshalb wurden auch die zuerst durchgeführten Versuche mit *A. lipoferum* einbezogen. Die acht Sommerweizensorten zeigten mit 3–68 % aktiven und 3–38 % stärker aktiven Pflanzen die größten Unterschiede. Die Sommergerstensorten „Golda“, „Koral“ und „Georgi“ lagen zusammen mit den Sommerweizensorten „Max“, „Amor“, „Turbo“, „Kokat“ und „Achill“ hinsichtlich der Zahl und Aktivität positiver Pflanzen im oberen Bereich. Die übrigen Sommerweizensorten, der Sommerroggen sowie der Winterweizen wiesen deutlich niedrigere Zahlen und Aktivitäten auf. Die gemessenen Aktivitäten folgen keiner normalen, sondern einer log-normalen Verteilung

Tabelle 1: Häufigkeit und Höhe der Nitrogenaseaktivität steriler mit *Azospirillum brasilense* oder *A. lipoferum* beimpfter Keimpflanzen verschiedener deutscher Getreidesorten

	Zahl geprüfter Pflanzen	% aktiver Pflanzen		Nitrogenaseaktivität (nmol C ₂ H ₄ /h)	
		>0,2 nmol/h	> 5 nmol/h	Medianwert	Maximalwert
Sommerweizen:					
„Max“	63*	68a**	38 _a	8,1	34,2
„Amor“	60	57 _{ab}	23 _{ab}	2,8	21,1
„Turbo“	60	40 _{ab}	17 _{bc}	1,9	12,4
„Kokat“	50	48 _b	14 _{bc}	1,2	12,0
„Achill“	12	42 _{bc}	25 _{ab}	6,4	42,2
„Horizont“	60	37 _{bc}	5 _{bc}	1,2	13,3
„Sokrates“	47	36 _{bc}	6 _{bc}	0,5	11,0
„Kadett“	30*	3 _d	3 _{bc}	–	7,3
Winterweizen:					
„Disponent“	51*	25 _c	6 _{bc}	1,1	13,5
Sommergerste:					
„Golda“	62	63 _{ab}	27 _{ab}	4,2	33,6
„Koral“	55	60 _{ab}	16 _{bc}	3,0	20,8
„Georgi“	62	56 _{ab}	26 _{ab}	4,8	35,4
Wintergerste:					
„Diana“	67	46 _b	10 _{bc}	1,4	10,6
Sommerroggen:					
„Sorom“	62	24 _{bc}	3 _c	1,7	5,6

* beimpft mit *A. lipoferum*
 ** Prozentwerte mit unterschiedlichen Indexbuchstaben unterscheiden sich signifikant nach dem chi-Quadrat-Test (P < 0,05).

(Jagnow, 1985). Dementsprechend wurden in Tabelle 1 die Median- und Maximalwerte der Nitrogenaseaktivität als ein Maß für die innerhalb der aktiven Pflanzen einer Sorte mit steigender Rangfolge logarithmisch ansteigende Nitrogenaseaktivität angegeben. Die höchsten Aktivitäten über 30 nmol C₂H₄ · h⁻¹ wurden von Sommerweizen „Max“ und „Achill“ sowie von Sommergerste „Golda“ und „Georgi“ erreicht.

2.2 Topfkultur bis zur F1-Generation

Aktive und inaktive Keimpflanzen von Sommerweizen „Max“ und Sommergerste „Koral“ zeigten während ihrer Weiterkultivierung im Topfversuch bis zur Reife keine deutlichen Wachstumsunterschiede. Auffallend war lediglich

Tabelle 2: Ertragsdaten von Gefäßversuchen mit vorselektierten, Nitrogenase-negativen und positiven Pflanzen von Sommerweizen „Max“ (11.2.–2.8.1985) und Sommergerste „Diana“ (15.4.–5.9.1985)

	Sommerweizen „Max“		Sommergerste „Koral“	
	inaktive Pflanzen	% Abweichung aktiver Pflanzen	inaktive Pflanzen	% Abweichung aktiver Pflanzen
Anzahl Pflanzen	14	19 ¹	24	29 ¹
Sproß-Trockengewicht (mg)	2261	– 6,2	1170	– 3,6
Wurzel-Trockengewicht (mg)	444	+ 6,5	223	+ 15,7
Korn-Trockengewicht (mg)	1513	+ 0,3	1107	+ 13,4
Körner je Ähre	43,4	– 5,5	34,0	– 10,3
Tausendkorngewicht (g)	34,7	+ 7,2 _a	33,3	+ 9,9
% im Sproß	0,319	– 4,1	0,585	– 12,3
% in der Wurzel	0,516	– 1,6	0,698	– 4,6 _a
N-Aufnahme mit Ähre (mg) ohne Korn	10,8	– 2,8	10,0	– 12,0 _a

1 Abweichungen mit Indexbuchstaben „a“ sind aufgrund des t-Testes signifikant mit P ≤ 0,05.

das bei den aktiven Pflanzen um zwei Tage früher einsetzende Ährenschieben. Es erfolgte z.B. bei aktiven und inaktiven Pflanzen von Sommerweizen „Max“ am 86. bzw. 88. Tag nach dem Auspflanzen (11.02.85).

Zwischen der Nitrogenaseaktivität der Keimpflanzen und der *Azospirillum*-Population der im Gefäßversuch 75 Tage lang weiter kultivierten Pflanzen der Sommergerste „Koral“ bestand keine Beziehung. Sowohl bei Pflanzen mit geringer (unter $1 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$) als auch bei Pflanzen mit hoher Keimlingsaktivität (über $15 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$) wurden sowohl niedrige (unter $10^3 \cdot \text{g}^{-1}$) als auch hohe (über $10^5 \cdot \text{g}^{-1}$) *Azospirillum*-Populationen gefunden.

Bei den Ertragsdaten der ursprünglich Nitrogenase-aktiven Getreidepflanzen wurden im Vergleich zu denjenigen ursprünglich inaktiven Pflanzen sowohl positive als auch negative Abweichungen gefunden (Tabelle 2). Bei aktiven Pflanzen beider Arten waren das Sproß-Trockengewicht und der N-Gehalt der Sprosse erniedrigt, dagegen das Wurzel-Trockengewicht und das Tausendkorngewicht erhöht. Stärkere Unterschiede bis zu ca. 16 % traten nur bei aktiven Pflanzen der Sommergerste auf. Wurzel- und Korn-Trockengewicht waren erhöht, aber die N-Gehalte von Sproß und Wurzel sowie die N-Aufnahme der Pflanzen ohne Korn erniedrigt. Wegen der starken Varianz der Versuchsgefäße innerhalb der Gruppen ließen sich jedoch insgesamt nur drei Abweichungen statistisch sichern: Die Erhöhung des Tausendkorngewichts bei Weizen sowie die Erniedrigung des N-Gehaltes der Wurzel und der N-Aufnahme der Pflanzen bei Gerste.

2.3 Nitrogenaseaktivität von Keimpflanzen aus Kreuzungen zwischen Nitrogenase-positiven und negativen Pflanzen von Sommerweizen „Max“

Die Anteile Nitrogenase (N_2 -ase)-positiver und stark

positiver Keimpflanzen aus den vor Antherenaustritt paarweise eingeschlossenen Ähren von Elternpflanzen unterschiedlicher N_2 -ase-Aktivität im Keimlingsstadium sind sehr unterschiedlich (Tabelle 3).

Da zunächst nur geprüft werden sollte, ob die F1-Generation selektierter Elternpflanzen mit hoher oder fehlender N_2 -ase-Aktivität im Keimlingsstadium ähnliche Anteile aktiver Pflanzen aufweisen wie die Population der Eltern-generation mit entweder 68 % aktiven bzw. 38 % höher aktiven oder inaktiven Pflanzen (Tabelle 1), wurde auf die gemeinsame Bestäubung aktiver und inaktiver Elternpflanzen verzichtet. Es zeigte sich, daß sowohl die Nachkommen aktiver als auch inaktiver Pflanzen in der F1-Generation keine, geringe oder auch höhere Anteile N_2 -ase-positiver Pflanzen hervorbringen können. Oft verhielten sich auch die Nachkommen von gemeinsam eingeschlossenen Ähren unterschiedlich, wie z.B. bei der zweiten und der achten Gruppe aktiver Elternpflanzen mit signifikant unterschiedlichen Anteilen von 30 und 18 % bzw. 26 und 63 % N_2 -ase-positiver Pflanzen in der F1-Generation. Ähnlich große Unterschiede gemeinsam bestäubter Pflanzen traten auch bei der F1-Generation N_2 -ase-inaktiver Elternpflanzen auf, so z.B. in der dritten, vierten und siebenten Gruppe in Tabelle 3. Jedoch erlaubten hier die geringeren Zahlen getesteter F1-Pflanzen keine statistische Sicherung. Von den Nachkommen 17 aktiver Elternpflanzen hatte nur eine einzige mit 63 % einen ähnlich hohen Anteil aktiver Pflanzen wie die Eltern-generation. Der Anteil an F1-Pflanzen mit einer Aktivität über $5 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$ lag mit 0–3 % verglichen mit 38 % in der Eltern-generation dagegen weit niedriger.

Insgesamt traten unter 523 F1-Pflanzen aktiver Elternpflanzen sowie unter 379 F1-Pflanzen inaktiver Elternpflanzen 81 bzw. 66 Pflanzen mit N_2 -ase-Aktivität und nur 3 bzw. 2 Pflanzen mit einer Aktivität über $5 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$ auf. Dies entspricht praktisch gleichen Anteilen von 15,5

Tabelle 3: Nitrogenaseaktivität der Keimpflanzen von gemeinsam zur Bestäubung eingeschlossenen Ähren von Elternpflanzen mit unterschiedlicher Nitrogenaseaktivität im Keimlingsstadium von Sommerweizen „Max“

Aktivität der Elternpflanzen (nmol $\text{C}_2\text{H}_4/\text{h}$)	Zahl von F1-Pflanzen je Ähre	% aktive F1-Pflanzen		Aktivität der Elternpflanzen	Zahl von F1-Pflanzen je Ähre	% aktive F1-Pflanzen	
		gesamt	> 5 nmol/h			gesamt	> 5 nmol/h
34,2	30 ¹	23 _{ab}	0	0	24 ¹	4 _a ²	0
32,3	31	22 _{ab}	0	0	24	4 _a	0
34,6	30	30 _b	3	0	24	12 _{ab}	0
30,0	33	18 _a	0	0	24	4 _a	0
25,4	32	0 _a	0	0	24	29 _{ab}	0
21,0	27	0 _a	0	0	24	0 _a	0
17,3	36	3 _{ab}	0	0	24	42 _{bc}	0
16,1	34	6 _{ab}	3	0	24	8 _{ab}	0
14,2	17	0 _a	0	0	24	0 _a	0
13,2	23	0 _a	0	0	24	0 _a	0
13,2	29	0 _a	0	0	25	40 _{bc}	4
12,4	24	0 _a	0	0	33	39 _c	0
10,9	31	23 _{ab}	0	0	39	31 _{bc}	3
10,5	34	3 _{ab}	0	0	42	14 _{ab}	0
10,4	31	26 _b	0				
7,3	41	63 _c	2				
8,1	40	18 _{ab}	0				

1 In Zeilen mit geringerem Abstand sind zur wechselseitigen Bestäubung gemeinsam eingeschlossene Ähren zusammengestellt.
2 Prozentuale Anteile von aktiven Keimpflanzen mit unterschiedlichen Indexbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($P < 0,05$) nach dem chi-Quadrat-Test.

bzw. 17,4 % und 0,6 bzw. 0,5 % bei den Nachkommen aktiver bzw. inaktiver Elternpflanzen. Dieses Ergebnis zeigt aber auch, daß die Elternpflanzen in Bezug auf den hier getesteten Phänotyp genetisch uneinheitlich sind und nicht pauschal behandelt werden können.

3 Diskussion

Das Merkmal „nis“, d.h. nach Beimpfung mit *Azospirillum N₂-ase*-positiv oder negativ, wurde bisher nur bei Mais (Ela et al., 1982) und *Pennisetum* spp. (Bouton et al., 1982, 1985; Manga et al., 1985) auf seine unterschiedliche Ausprägung und sein genetisches Verhalten bei verschiedenen Sorten und Linien untersucht. Nunmehr liegen erste Untersuchungen einheimischer Getreidesorten vor. Während die untersuchten Linien von *Pennisetum americanum* nur unterschiedliche Abstufungen von „nis“-positiven, aber keine „nis“-negativen Pflanzen aufwiesen (Bouton et al., 1982, 1985), besaßen die hier untersuchten Weizen- und Gerstensorten Anteile „nis“-negativer Pflanzen zwischen 32 und 97 % bzw. 37 und 54 %. Bei *P. americanum* wurden Abstufungen der *N₂-ase*-Aktivität einzelner Linien zwischen 3 und 23 nmol C₂H₄ · h⁻¹ gefunden, bei den heimischen Getreidesorten dagegen ein mehr oder weniger kontinuierliches, log-normal verteiltes Spektrum unterschiedlich aktiver Pflanzen zwischen 0,2 und maximal 42 nmol C₂H₄ · h⁻¹. Bei einzelnen Sommerweizen- und Sommergersten-Sorten wurden deutlich höhere Aktivitäten beobachtet als bei den aktivsten Linien von *P. americanum*. Da unsere Getreidesorten nicht auf das Merkmal „nis“ selektiert und gezüchtet wurden, kann bei ihm auch keine genetische Einheitlichkeit erwartet werden. Gleichwohl scheinen die Anteile positiver Pflanzen und der Bereich der *N₂-ase*-Aktivitäten für die Sorten charakteristisch zu sein. Hohe Aktivitäten wurden nur bei Sommergetreide-Sorten beobachtet.

Bei der weiteren Kultivierung „nis“-aktiver und inaktiver Pflanzen im Gefäßversuch war das frühere Ährenschieben positiver Pflanzen ein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen. Beschleunigtes Austreiben der Blütenstände wurde von Manga et al. (1982) auch von „nis“-aktiven Linien von *P. typhoides* berichtet. Es ist möglich, daß dies lediglich ein Merkmal der betreffenden Pflanzenlinien ist oder auch, daß die verstärkte Besiedlung der aktiven Pflanzen mit *Azospirillum* spp. im Jungpflanzenstadium zu einer Beeinflussung der Pflanzen durch bakteriell verstärkt gebildete Wachstumsregulatoren führte, denen die „nis“-negativen Pflanzen nicht oder weniger ausgesetzt gewesen waren. Beschleunigtes Ährenschieben, vermehrte Bestockung, verstärktes Wachstum und Verzweigung der Wurzeln sowie erhöhte Erträge wurden auch bei Sommerweizen in Israel nach Beimpfung mit *A. brasilense* berichtet (Kapulnik et al., 1985; Bashan, 1986), wobei bakteriell gebundener *N₂* als Ursache weitgehend ausgeschlossen wurde und statt dessen wachstumsregulatorisch wirksam bakterielle Metaboliten als wahrscheinliche Ursache angenommen wurden (Kapulnik et al., 1985). Zum Beispiel wurden gleiche Effekte durch *A. brasilense* und Indolylessigsäure in der Rhizosphäre von beimpftem Weizen nachgewiesen (Kolb und Martin, 1985). Ein erhöhtes Wurzel-Trockengewicht wurde in unserem Versuch mit „nis“-aktiven Weizen- und Gerstenpflanzen ebenfalls beobachtet (Tabelle 2).

Zwischen den *Azospirillum*-Populationen der Wurzeln „nis“-positiver, 75 Tage alter Gerstenpflanzen und ihrer *N₂-ase*-Aktivität als steril beimpfte Jungpflanzen bestand keine Korrelation. *A. brasilense* zeigte nach

Beimpfung von Weizenpflanzen in unsterilem Boden nur zu Beginn eine stärkere Wurzelbesiedlung, wurde dann aber innerhalb von zwei Wochen zu 90 % oder mehr durch konkurrierende Mikroorganismen verdrängt, falls diese nicht durch mikrobizide Chemikalien, gegen die der Impfstamm resistent war, gehemmt wurden (Bashan, 1986). Es ist möglich, daß eine Korrelation zwischen Populationen und Aktivitäten bei monoxenischen Pflanzen bestanden hätte, diese aber durch die mit hoher Variabilität wirksame Konkurrenz anderer Rhizosphäre-Mikroorganismen überdeckt wurde.

Die Unterschiede in den Anteilen „nis“-positiver F₁-Pflanzen von Ähren gemeinsam eingeschlossener Elternpflanzen lassen vermuten, daß praktisch nur Selbstbestäubung innerhalb der gleichen Ähre und keine echte Kreuzung vorlag (Tabelle 3). Ferner traten sowohl bei den Nachkommen aktiver als auch inaktiver Elternpflanzen niedrigere und hohe Anteile nis-positiver Pflanzen auf. Da die ausgewählten Elternpflanzen keine reinen Linien wie bei *P. americanum* repräsentierten und die F₁-Generation nur ein erster Schritt zu reinen Linien war, ist dies verständlich. Hiernach sollte die Ausprägung von „nis“ vom Zusammenwirken mindestens zweier, wahrscheinlich aber mehrerer Gene abhängig sein. Manga et al. (1985) postulierten aufgrund ihrer genetischen Analyse des „nis“-Charakters von *P. typhoides* für dessen Ausprägung sowohl dominante als auch rezessive Gene. Wenn sich bei unseren Getreidesorten die Manipulation ihrer Rhizosphäre durch wachstumsfördernde Bakterien oder VA-Mycorrhizapilze als lohnend erweisen sollte (Whipps und Lynch, 1986), sollte auch ihre durch den „nis“-Charakter zum Ausdruck kommende Fähigkeit, durch Menge und Art ihrer Wurzelexudate geeignete Populationen von Rhizosphärebakterien zu ernähren, genetisch und züchterisch besser bearbeitet worden sein.

Zusammenfassung

Steril angezogene und mit *Azospirillum* spp. beimpfte Jungpflanzen von neun Weizen-, vier Gersten- und einer Roggensorte zeigten sowohl hinsichtlich ihrer Anteile von Pflanzen mit Nitrogenaseaktivität als auch hinsichtlich der Maximalwerte ihrer aktivsten Pflanzensortenspezifische Unterschiede. Bei acht Sommerweizensorten traten mit 3–68 % aktiven Pflanzen die größten Unterschiede auf. Die Aktivitäten von Pflanzen einer Sorte entsprachen einer log-normalen Verteilung. Die höchsten Aktivitäten über 30 nmol C₂H₄ · h⁻¹ wurden von Sommerweizen „Max“ und „Achill“ sowie von Sommergerste „Golda“ und „Georgi“ erreicht. Bei Weiterkultivierung trat das Ährenschieben aktiver Weizenpflanzen zwei Tage früher ein. Zwischen der Nitrogenaseaktivität der Keimpflanzen und der *Azospirillum*-Population der Wurzeln 75 Tage unsteril in Boden weiterkultivierter Sommergerste bestand keine Korrelation. Sowohl bei Nachkommen aus Ähren aktiver als auch aus denjenigen inaktiver Weizenpflanzen traten sowohl keine als auch geringe oder höhere Anteile aktiver Pflanzen auf. Die Ergebnisse werden im Hinblick auf genetische Grundlagen, weitere Züchtung und Anwendungsmöglichkeit diskutiert.

Differences in nitrogenase activity of German cereal cultivars after inoculation of sterile seedlings with *Azospirillum* spp., growth of plants with different activity in pots and nitrogenase activity of sterile, inoculated seedlings of the F₁-generation

Seedlings of nine wheat and four barley cultivars and one rye cultivar were different with respect to their frac-

tions of plants with nitrogenase activity and to the activities of their most active plants. The largest differences in fractions of active plants ranging from 3–68 % were found with eight cultivars of summer wheat. Activities of plants within cultivars followed log-normal distributions. The highest activities exceeding $30 \text{ nmol C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1}$ were found with summer wheat „Max“ and „Achill“ and summer barley „Golda“ and „Georgi“. In subsequent pot culture heading of active plants took place two days earlier. There was no correlation between nitrogenase activity of seedlings and rhizosphere populations or *Azospirillum* from summer barley after 75 days of pot cultivation. The offspring from ears of both active and inactive wheat plants had either zero or low or higher fractions of active plants. Results are discussed considering genetics, breeding and possible relevance to plant husbandry.

Danksagung

Der Verfasser dankt Frau Susanne Scheil und Frau Ilse Schmidt für ihre zuverlässige Hilfe bei den Versuchen. Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Literatur

- Barber, D.A.: The effect of microorganisms on the absorption of inorganic nutrients by intact plants. – In: *J. Exp. Botany* 54, (1967), S. 163–169.
- Bashan, Y.: Enhancement of wheat root colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd. following temporary depression of rhizosphere microflora. – In: *Appl. Envir. Microbiol.* 51 (1986), S. 1067–1071.
- Bouton, J.H. and Brooks, C.O.: Screening pearl millet for variability in supporting bacterial acetylene reduction activity. – In: *Crop Sci.* 22 (1982), S. 680–682.
- Bouton, J.H., Albrecht, S.L. and Zuberer, D.A.: Screening and selection of pearl millet for root associated bacterial nitrogen fixation. – In: *Field Crops Res.* 11 (1985), S. 131–140.
- Charyulu, P.B.B.N. et al.: Field inoculation of rice using in vitro selected bacterial and plant genotypes. – In: Klingmüller (Hrsg.): *Azospirillum III, Genetics, Physiology, Ecology*, Springer Verlag Berlin (1985), S. 163–179.
- Ela, St.W., Anderson, M.A. and Brill, W.J.: Screening and selection of maize to enhance associative bacterial nitrogen fixation. – In: *Plant Physiol.* 70 (1982), S. 1564–1568.
- Hardy, R.W.F., Burns, R.C. and Holsten, R.D.: Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement for nitrogen fixation. – In: *Soil Biol. Biochem.* 5 (1973), S. 47–81.
- Jagnow, G.: Growth and survival of *Azospirillum lipoferum* in soil and rhizosphere as influenced by ecological stress conditions. – In: Klingmüller, W. (Hrsg.): *Azospirillum, Genetics, Physiology, Ecology*, *Experientia Suppl.* Vol. 42 (1982), S. 100–107.
- Jagnow, G.: Nitrogenase (C_2H_2) activity in roots of non-cultivated and cereal plants: Influence of nitrogen fertilizer on populations and activity of nitrogen-fixing bacteria. – In: *Z. Pflanzenern. Bodenk.* 146 (1983), S. 217–227.
- Jagnow, G.: Root colonization and plant growth of grasses and cereals in unsterile soil and nitrogenase (C_2H_2) activity of sterile cereal seedlings after inoculation with *Azospirillum* spp. – In: Klingmüller (Hrsg.): *Azospirillum III*, Springer-Verlag, Berlin 1985, S. 203–214.
- Kapulnik, Y., Feldmann, M. Okon, Y. and Henis, Y.: Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the nutrition of spring wheat in Israel. – In: *Soil Biol. Biochem.* 17 (1985), S. 509–515.
- Kiepe-Nolt, J.A., Avalakki, U.K. and Dart, P.J.: Root exudation of Sorghum and utilization of exudate by nitrogen-fixing bacteria. – In: *Soil Biol. Biochem.* 17 (1985), S. 859–863.
- Kolb, W. and Martin, P.: Response of plant roots to inoculations with *Azospirillum brasilense* and to application of indole acetic acid. – In: Klingmüller, W. (Hrsg.): *Azospirillum III: Genetics, Physiology, Ecology*, Springer-Verlag (1985), S. 215–221.
- Manga, V.K., Vekateswarlu, B. and Saxena, M. B.L.: Gene action for nitrogenase activity in the roots of pearl millet. – In: *Ind. J. Agric. Sci.* 55 (1985), S. 391–392.
- Ohta, K., Sano, Y., Fuji, T. and Iyama Shinya: Variation in nitrogen fixing activity among wild and cultivated rice strains. – In: *Japan. J. Breed.* 34 (1984), S. 29–35.
- Pereira, P.A., Döbereiner, J. and Neyra, C.A.: Nitrogen assimilation and dissimilation in five genotypes of *Brachiaria* spp. – In: *Can. J. Botany* 59 (1981), S. 1475–1479.
- Rao, J. L. N. and Rao, V. R.: Rhizosphere soil nitrogenase (C_2H_2 reduction) as influenced by rice variety. – In: *Current Sci.* 54 (1985), S. 752–754.
- Rennie, R.J., de Freitas, J.R., Ruschel, A.P. and Vose, P.V.: ^{15}N isotope dilution to quantify dinitrogen fixation associated with Canadian and Brazilian wheat. – In: *Can. J. Bot.* 61 (1983), S. 1667–1671.
- Robbins, W. J. and Kavanagh, F.: – In: *Amer. J. Bot.* 25 (1938), S. 229–236.
- Ruschel, R. and Ruschel, A.P.: Inheritance of N_2 -fixing ability in sugar cane. – In: Vose, P. B., Ruschel, A. P. (eds.): *Associative N_2 -Fixation*, Vol. II, CRC Press (1981), S. 133–141.
- Venkateswarlu, B. and Rao, A.V.: Interaction between the root exudates of pearl millet and *Azospirillum brasilense*. – In: *Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.)* (1985), S. 237–235.
- Whipps, J.M. and Lynch, J.M.: The influence of the rhizosphere on crop productivity. – In: K.C. Marshall (Hrsg.): *Advances in Microbial Ecology* 9 (1986), S. 187–244.
- Verfasser: Jagnow, Gerhard, Prof. Dr. rer. nat., Institut für Bodenbiologie der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode (FAL), Institutsleiter: Prof. Dr. rer. nat. K. H. Domsch.