

Kathrin Wächter, Sabine Gruber, Wilhelm Claupein

Unterscheidet sich das Inokulationsergebnis verschiedener Impfmittel bei Soja?

Do soybean inoculants differ in their inoculation efficacy?

401

Zusammenfassung

Um die Entwicklung der Symbiose zwischen Soja und *Bradyrhizobium japonicum* zu garantieren, wird das Saatgut vor der Aussaat hierzulande üblicherweise inokuliert. Die in Deutschland erhältlichen Impfmittel führen nach Einschätzungen aus der Praxis jedoch oft zu unterschiedlich guten Symbioseleistungen und somit Ertragsschwankungen, und letztendlich zu Unsicherheiten bei der Wahl des Produktes. Aus diesem Grund wurden an der Universität Hohenheim mit einem Kurztest in einem Gefäßversuch unter standardisierten Bedingungen verschiedene auf dem deutschen Markt verfügbare Impfmittel auf ihre Wirksamkeit geprüft. Im Versuch wurden die Mittel Force 48, NPPL HiStick, RhizoFlo, NPPL Microgranulés, Radicin N° 7 und das vorinokulierte Saatgut „Fix Fertig“ miteinander verglichen. Die geprüften Soja-Sorten waren Merlin, Primus und Cordoba.

Zwischen den Impfmitteln traten signifikante Unterschiede in der Anzahl der gebildeten Knöllchen und der Knöllchentrockenmasse pro Pflanze auf. Der Knöllchenansatz betrug je nach Impfmittel und Sojasorte zwischen 5 und 143 Knöllchen pro Pflanze. Eine große Anzahl Knöllchen bildete sich durchweg mit Force 48, RhizoFlo und NPPL Microgranulés, eine geringe Anzahl bei Fix Fertig und Radicin. Die Knöllchenmasse pro Pflanze (zwischen 0,17 und 0,40 g) war ebenfalls abhängig vom Impfmittel und auch von der Sorte; am wenigsten bildete die Sorte Merlin mit Radicin und Primus mit NPPL Microgranulés. Die Knöllchenmasse korrelierte außerdem bei der Sorte Merlin positiv mit dem oberirdischen Biomasseaufwuchs.

Eine der Ursachen für die Unterschiede in der Knöllchenbildung waren vermutlich die verschiedenen Men-

gen an lebensfähigen Rhizobienzellen in den Impfmitteln. Weiterhin schienen die Formulierung und zusätzliche Haftmittel die Infektionsrate von *B. japonicum* zu beeinflussen. Speziell bei durch den Hersteller vorinokuliertem Saatgut könnte eine zu lange Zeitspanne zwischen Inokulation und Aussaat geringere Infektionsraten verursacht haben.

Über eine Einteilung der Knöllchen in 14 Größenklassen von $\leq 1,0$ mm bis $\geq 7,1$ mm Durchmesser konnte gezeigt werden, dass ein geringer Knöllchenansatz über die Bildung größerer Knöllchen teilweise kompensiert werden kann.

Grundsätzlich traten die in der Praxis beobachteten Unterschiede in der Wirksamkeit von Impfmitteln bei Soja auch in diesem Gefäßversuch auf. Die Menge an lebensfähigen Rhizobienzellen im Ausgangsprodukt und zum Zeitpunkt der Aussaat scheinen wichtige Aspekte der Wirksamkeit von Impfmitteln zu sein, die angepasst werden können. Für die Optimierung der Inokulation sollten weiterhin spezifische Interaktionen zwischen Sojasorte und Rhizobienstamm geprüft werden.

Stichwörter: Sojabohne, *Bradyrhizobium japonicum*, Impfmittelprodukte, Impfmittelqualität, Knöllchenansatz, Größenklassifizierung, Sortenunterschiede, Inokulation

Abstract

Soybean seed usually needs to be inoculated in Germany to guarantee the development of symbiosis between soybean and *Bradyrhizobium japonicum*. In practice, inoculants that are available in Germany often seem to differ in the effectiveness of symbiosis, which may lead to fluctu-

Institut

Universität Hohenheim, Institut für Kulturpflanzenwissenschaften (340a), Stuttgart

Kontaktanschrift

PD Dr. Sabine Gruber, Universität Hohenheim, Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, Fg. Allgemeiner Pflanzenbau, Fruwirthstr. 23, 70599 Stuttgart, E-Mail: Sabine.Grubert@uni-hohenheim.de

Zur Veröffentlichung angenommen

3. September 2013

ation in yield and thus for farmers to uncertainty in the choice of a suitable inoculant. For this reason, different rhizobial inoculants available on the German market were tested for efficacy under standardized conditions in a short-term pot experiment in a greenhouse at the University of Hohenheim. The tested inoculants were Force 48, NPPL HiStick, RhizoFlo, NPPL Microgranulés, Radicin N° 7 and the pre-inoculated seed "Fix Fertig". The tested crop varieties were Merlin, Primus and Coroba.

Significant differences were observed between the inoculants in the number of nodules formed and the nodule biomass per plant. The average number of nodules per plant ranged from 5 for the least effective to 143 for the most effective inoculant, and depended on the plant variety. Many nodules were consistently formed in treatments with Force 48, RhizoFlo and NPPL Microgranulés whereas the number of nodules was low after treatments with Fix Fertig or Radicin. The nodule biomass per plant (0.17 to 0.40 g) was also dependent on the inoculant and the plant variety. The lowest nodule biomass per plant was produced by the soybean variety Merlin inoculated with Radicin, and by Primus inoculated with NPPL Microgranulés. There was positive correlation between nodule biomass and aboveground biomass production for cv. Merlin.

A plausible reason for differences in the nodulation could be the different amount of rhizobium cells in the inoculants. Furthermore, the formulation and additional adhesives could have affected the infection rate of *B. japonicum*. A long storage time between inoculation and sowing might additionally have led to a low infection rate for pre-inoculated seed.

A classification of nodules in 14 size classes from ≤ 1.0 mm to ≥ 7.1 mm diameter showed that formation of large nodules partially compensates for a small number of nodules per plant. Principally, the differences observed in the field also occurred in this pot experiment. The amount of rhizobium cells in the initial inoculant and at time of sowing seem to be important parameters that can affect the efficacy of the product. These quality aspects are adjustable. Further optimization of inoculation should consider specific interactions between soybean varieties and strains of rhizobia.

Key words: Soybean, *Bradyrhizobium japonicum*, inoculant, inoculant quality, nodulation, nodule size, varietal differences, inoculation

Einleitung

Soja (*Glycine max* L. MERR.) ist gemessen an der Anbaufläche die wichtigste Ölfrucht weltweit. Im Jahr 2011 wurden ca. 239 Mio. t Soja produziert, wobei Brasilien, die USA und Argentinien derzeit die wichtigsten Produzenten sind (USDA, 2012). Deutschland zählt nicht zu den klassischen Anbaugebieten, doch im Zuge klimatischer Veränderungen in Kombination mit der Züchtung

frühreifer Sorten wird auch hier, vor allem in Gunstlagen wie im Oberrheingraben, in den letzten Jahren vermehrt Soja angebaut. In Deutschland ist seit 1998 ein Anstieg der Sojaanbaufläche von 422 ha auf ca. 1000 ha im Jahr 2010 (FAOSTAT, 2012) und ca. 5000 ha im Jahr 2012 zu verzeichnen (SOJAFÖRDERRING, 2013). 2011 wurden allein in Baden-Württemberg über 1000 ha Soja angebaut (LEL, 2012). Im Vordergrund der Sojaproduktion steht besonders die Nutzung des hochwertigen Proteins für die menschliche Ernährung und Tierfütterung.

Als Leguminose ist Soja in der Lage, in Symbiose mit Rhizobien atmosphärischen Stickstoff in Wurzelknöllchen zu fixieren (SCHÄFER, 2011); hierbei wird Soja zu über 90% von der Rhizobienart *Bradyrhizobium japonicum* (KIRCHNER) Jordan noduliert (WERNER, 1999). Da der Sojaanbau in Europa keine Tradition hat und man in der Praxis davon ausgeht, dass *B. japonicum* im Boden nicht natürlicher Weise und in ausreichender Menge vorkommt, wird in Deutschland eine Saatgutinokulierung empfohlen (SOJAFÖRDERRING, 2013). Eine Inokulation, auch bei Vorhandensein von Rhizobien im Boden, kann zur effizienteren N-Fixierung führen und letztendlich ertragswirksam sein sowie den Proteingehalt im Korn steigern (ABBASI et al., 2010).

Die Impfprodukte werden in Deutschland beim Vertragsanbau meist mit dem Saatgut geliefert oder können bei Genossenschaften bezogen werden. Sie werden hauptsächlich mit Torfmoos als Trägersubstanz, flüssig oder als Torfgranulat vermarktet. Die Beimpfungstechnik kann hierbei sehr unterschiedlich sein. Prinzipiell werden Torf- und Flüssigprodukte als Kontaktimpfung zur direkten Inokulation des Saatgutes verwendet, während granuliert Impfmittel für gewöhnlich bei der Aussaat mit in die Saatrille gestreut werden (STEPHENS und RASK, 2000). Eine weitere Möglichkeit für den Landwirt ist der Bezug von bereits inokuliertem Saatgut. Bei dieser Methode wird das Saatgut direkt beim Hersteller beimpft, sodass es wie gewohnt ausgesät werden kann (DEAKER et al., 2004).

Ein Impfmittel muss verschiedene Anforderungen erfüllen, um die Entwicklung der Symbiose zwischen Soja und *B. japonicum* zu gewährleisten. Hierzu gehört unter anderem eine ausreichende Menge an lebensfähigen Rhizobienzellen pro Einheit Impfmittel. Weiterhin sollte das Produkt frei von Verunreinigungen und einfach anzuwenden sein. Auch die Lebensdauer der Rhizobienstämme unter den vom Hersteller empfohlenen Lagerbedingungen ist ein wichtiger Qualitätsfaktor (LUPWAYI et al., 2000; CATROUX et al., 2001).

Die Wirksamkeit verschiedener Impfmittel in Deutschland wird in der Praxis zum Teil subjektiv und widersprüchlich bewertet, was zu Unsicherheiten bei der Wahl des Produktes führen kann. Um zu prüfen, ob tatsächlich Abweichungen in der Wirksamkeit auftreten und worauf diese gegebenenfalls zurückzuführen sind, wurden Impfmittel und Impfverfahren verschiedener Hersteller in einem Kurzzeit-Gefäßversuch unter kontrollierten Umweltbedingungen untersucht. Die Wirksamkeit der Impfmittel sollte hierbei über den Knöllchenansatz sowie die

Bildung von ober- und unterirdischer Biomasse im unreifen Zustand der Pflanzen gemessen werden.

Material und Methoden

Sojasorten und Impfmittel

Der Versuch wurde zweifaktoriell (Faktor 1: Impfmittel, Faktor 2: Sorte) als Gefäßversuch in einer randomisierten, vollständigen Blockanlage mit vier Wiederholungen angelegt und über sieben Wochen vom 13. April 2012 bis 1. Juni 2012 im Gewächshaus des Instituts für Kulturpflanzenwissenschaften an der Universität Hohenheim durchgeführt. Versuchseinheit war ein Gefäß mit einer Pflanze. Der Versuch umfasste sieben in der Praxis gängige Rhizobien-Impfmittel, die von den jeweiligen Herstellern zur Verfügung gestellt wurden (Tab. 1), dazu eine unbeimpfte Kontrolle. Bei der Auswahl der Produkte wurde darauf geachtet, möglichst alle praxisüblichen Impfverfahren wie Kontaktimpfung, Bodenimpfung sowie beim Hersteller beimpftes Saatgut zu berücksichtigen. Weiterhin unterschieden sich die Rhizobienpräparate in ihrer Formulierung (flüssig oder auf Torfbasis) und Zusätzen wie z.B. Haftmitteln.

Bei den Sojasorten handelt es sich um die in Deutschland anbaurelevante, frühreife Sorte Merlin (000, Züchter Prograin Eurasia B.V.) zur Futterproduktion sowie um die Sorte Primus (00; Züchter Saatbau Linz), die unter anderem in Deutschland zur Herstellung von Tofu und Sojamilch verwendet wird. Da Fix Fertig-Saatgut der Sorte Primus vom Hersteller nicht angeboten wird, diente die Sorte Cordoba (000/00, Züchter Saatbau Linz) als Ersatz. Zur Vorbereitung der Aussaat wurden sowohl die Tische im Gewächshaus als auch alle Pflanzgefäße (Länge × Breite × Tiefe: 15 × 15 × 18 cm; nach Versuchen von SCHILL et al., 2010) zwei Tage vor Anlage

des Versuches mit 70%igem Äthanol gereinigt, um eine etwaige Kontamination mit noch aktiven Rhizobien aus früheren Versuchen auszuschließen. Anschließend wurden die Gefäße mit einem Substrat aus gedämpftem Lösslehm und Sand im Verhältnis 3:2 befüllt. Diese Mischung erlaubt später ein einfaches Auswaschen der Wurzeln und Knöllchen. Um eine Vermischung der Rhizobien von verschiedenen Versuchsvarianten durch Gießwasser zu vermeiden, wurde jedes Gefäß auf einen separaten Untersetzer gestellt.

Im nächsten Schritt wurde das Sojasaatgut (Z-Saatgut) mit den verschiedenen Produkten entsprechend der Anleitung beimpft. Hierfür wurde von einer fiktiven Aussaatmenge von 100 kg ha⁻¹ ausgegangen und die erforderliche Menge Impfmittel für Saatgutportionen von jeweils 100 g berechnet (Tab. 1). Die Inokulation mit dem Produkt NPPL HiStick (IM4) ist laut Hersteller sowohl trocken als auch mit Wasser vermischt möglich; in diesem Versuch wurde eine Trockeninokulation gewählt.

Anschließend wurden im Gewächshaus zunächst sieben Samen in vorgeformte, 4 cm tiefe Löcher in den Pflanzgefäßen ausgesät und mit Erde bedeckt, um sicher zu stellen, dass eine Pflanze pro Gefäß aufläuft. Um Kontaminationen der unbehandelten Kontrolle mit Rhizobien der anderen Varianten zu vermeiden, wurde zuerst die unbeimpfte Kontrolle ausgesät und anschließend schrittweise jede inokulierte Variante. Nach Beendigung der Aussaat einer Variante wurden die Arbeitshandschuhe gewechselt und alle Arbeitsgeräte mit 70%igem Äthanol gründlich gereinigt. Nachdem das zweite Laubblatt am zweiten Nodium entfaltet war (BBCH 12), wurden die Pflanzen pro Gefäß auf eine kräftig entwickelte Pflanze vereinzelt. Dieses Vorgehen diente dazu, genau eine normal entwickelte Pflanze pro Gefäß für den eigentlichen Versuch zu erhalten. Zu diesem Zeitpunkt waren noch keine Knöllchen sichtbar, sodass ein Effekt der unter-

Tab. 1. Übersicht der im Gefäßversuch verwendeten Rhizobien-Impfmittel

Summary of rhizobial inoculants used in the pot experiment

Produkt	Code	Inhalt für 1 ha	Impfverfahren	Lebendkeimzahl pro Einheit Impfmittel (lt. Hersteller)
Fix Fertig Saatgut (beimpft mit HiStick)	IM1	Spezielles Beimpfungsverfahren durch Hersteller	Saatgut wird inokuliert geliefert	keine Angaben
Radicin Nr. 7	IM2	75 ml Flüssig-Impfmittel	Kontaktimpfung	1 × 10 ⁷ KbE ¹ /ml
Force 48	IM3	400 g Impfmittel auf Torfbasis + 800 ml Haftmittel	Kontaktimpfung	1 × 10 ⁹ KbE/g
NPPL HiStick	IM4	400 g Impfmittel auf Torfbasis	Kontaktimpfung	4 × 10 ⁹ KbE/g
RhizoFlo	IM5	400 ml Flüssig-Impfmittel	Kontaktimpfung	1 × 10 ⁹ KbE/ml
NPPL Microgranulés	IM6	400 g Impfmittel auf Torfbasis + 10 kg Mikrogranulat	Bodenimpfung	1 × 10 ⁹ KbE/ml
Fix Fertig + NPPL Microgranulés	IM7	Fix Fertig Saatgut + Bodenimpfung	Kontakt- und Bodenimpfung	keine Angaben

¹ Kolonienbildende Einheit

schiedlichen Präparate auf die Pflanzenentwicklung in diesem Stadium ausgeschlossen sein sollte.

Die Beleuchtung über Gewächshauslampen (Philips MASTER SON-T PIA Agro 400 W E E40 SLV; Abstand Lampe zu Pflanze der Pflanzenentwicklung angepasst) sollte die Auflauf- und Entwicklungsbedingungen der Sojapflanzen optimieren. Sie wurden zunächst auf 12 Stunden Leuchtdauer eingestellt, und nachdem das erste Laubblattpaar entfaltet war (BBCH 11) auf 14 Stunden. Aufgrund sehr hoher Außentemperaturen wurden die Lampen ab dem 25. Mai 2012 ausgeschaltet.

Am 7. Mai 2012 wurden die Pflanzen wegen des Befalls mit Weißer Fliege (*Trialeurodes vaporariorum*) mit einer 4%igen Lösung Neem TS behandelt, ansonsten erfolgten keine weiteren Pflanzenschutz- oder Düngungsmaßnahmen.

Datenerhebung

Gewächshaus und Vegetationshalle. Die Ernte der Pflanzen fand zu dem Zeitpunkt statt, an dem die erste Hülse der Pflanzen die endgültige Länge erreicht hatte (BBCH 71). Zunächst wurde je Pflanze die Anzahl aller Hülsen bestimmt, sowie die Frischmasse der gesamten oberirdischen Biomasse (Schnitt an der Bodenoberfläche).

Auch Unterschiede in der Intensität der Grünfärbung der oberirdischen Biomasse wurden mit Hilfe einer Boniturskala bestimmt, nachdem die ersten Hülsen an den Pflanzen sichtbar wurden (BBCH 69). Hierzu wurde die Grünfärbung des Sprosses in die Klassen 1 (schwache/helle Grünfärbung), 3 (mittlere Grünfärbung), 5 (starke/dunkle Grünfärbung) eingeteilt, um den Zustand der Pflanze zu beurteilen.

Zur Bestimmung der unterirdischen Biomasse wurde der Wurzelballen auf einem Wurzelwaschtisch vorsichtig ausgewaschen. Um die Funktionsfähigkeit der Knöllchen zu beurteilen, wurden von verschiedenen Stellen jeder Wurzel zufällig fünf Knöllchen entnommen und mit einem Skalpell in zwei Hälften zerteilt. Mit Hilfe des Boniturschemas der BioAustria (BIOAUSTRIA, 2012) wurde anschließend die N-Fixierungs-Aktivität der Knöllchen bestimmt. War das Innere rosa bis rot gefärbt, so galten alle Knöllchen dieser Wurzel als aktiv. Bei abweichender Färbung einer oder mehrerer Knöllchen wären die betreffenden Pflanzen gesondert auszuwerten gewesen; dieser Fall trat jedoch nicht ein.

Die Bestimmung der Trockenmasse von Hülsen, Spross und Wurzeln mit Knöllchen erfolgte nach der Trocknung für vier Tage bei 80°C.

Größenklassifizierung der Knöllchen im Labor. Eine Einteilung der Knöllchen in Größenklassen sollte Aufschluss über eventuelle Unterschiede des Einflusses der Impfmittel auf die Knöllchenausbildung geben. Dazu wurde eine Schablone angefertigt, die aus 14 verschiedenen Größenklassen von $\leq 1,0$ mm bis $\geq 7,1$ mm Durchmesser bestand. Nach dem Separieren von Wurzel und Knöllchen jeder Pflanze wurde mit Hilfe dieser Schablone die Größenklasse jedes einzelnen Knöllchens bestimmt. Anschließend wurden für jede Pflanze die Knöllchenanzahl

je Größenklasse sowie die Gesamtanzahl erfasst und die Trockenmasse von Knöllchen je Klasse und Pflanze und der verbliebenen Wurzel ermittelt.

Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SAS 9.3. Zur Auswertung der Daten des Knöllchenansatzes, der Knöllchentrockenmasse, der oberirdischen Trockenmasse und der Wurzeltrockenmasse wurde eine Varianzanalyse mit der Prozedur *Mixed* durchgeführt. „Sorte“ und „Impfmittel“ wurden als fixe Effekte behandelt, die Mittelwertvergleiche erfolgten mit dem t-Test. Zur Überprüfung bestehender Zusammenhänge zwischen den Messgrößen wurde die Pearson'sche Produkt-Moment Korrelation mit der Prozedur *Corr* durchgeführt und das Bestimmtheitsmaß (R^2) mit der Prozedur *Reg* berechnet.

Die Daten zur Aufteilung der Knöllchen in Größenklassen und zur Bestimmung der Farbintensität des Sprosses wurden deskriptiv ausgewertet, indem die Mittelwerte der vier Wiederholungen jeder Variante berechnet wurden.

Ergebnisse

Varianzanalyse

Die Varianzanalyse ergab für den Knöllchenansatz, die Knöllchenbiomasse und die Wurzelmasse Wechselwirkungen zwischen Sorten und Behandlungen, sodass die Tests der Haupteffekte ignoriert wurden (Tab. 2). Für die oberirdische Biomasse war die Wechselwirkung nicht signifikant, deshalb wurden die Tests der Haupteffekte durchgeführt. Diese waren beide signifikant, sodass sowohl die Mittelwerte der Behandlungen über die Sorten als auch die Sortenmittelwerte über die Behandlungen geprüft werden konnten. Signifikante Unterschiede zwischen den Wiederholungen könnten auf inhomogene Umweltbedingungen im Gewächshaus (Streulicht der Straßenbeleuchtung, unterschiedliche Temperaturzonen) zurückzuführen sein.

Knöllchenansatz

Die Kontrollpflanzen in der Variante ohne Beimpfung des Saatgutes waren in allen Wiederholungen ohne Knöllchenbesatz; folglich müssten die Wurzeln in allen weiteren Varianten mit den Rhizobien des jeweiligen Impfmittels infiziert worden sein.

Die Behandlung mit IM2 resultierte bei der Sorte Merlin im signifikant geringsten Knöllchenansatz (fünf Knöllchen pro Pflanze; Abb. 1). Mit IM5 behandeltes Saatgut der Sorte Merlin führte zum höchsten gemessenen Knöllchenansatz (im Schnitt 143 Knöllchen/Pflanze). Bei der Sorte Primus bildete sich ebenfalls nach der Behandlung mit IM2 der geringste Knöllchenansatz mit im Mittel 28 Knöllchen pro Pflanze, ohne signifikante Unterschiede zu den Varianten IM1 und IM6. Die Inokulation mit IM3, IM4, IM5 und IM7 ergab 74 bis 99 Knöllchen pro Pflanze.

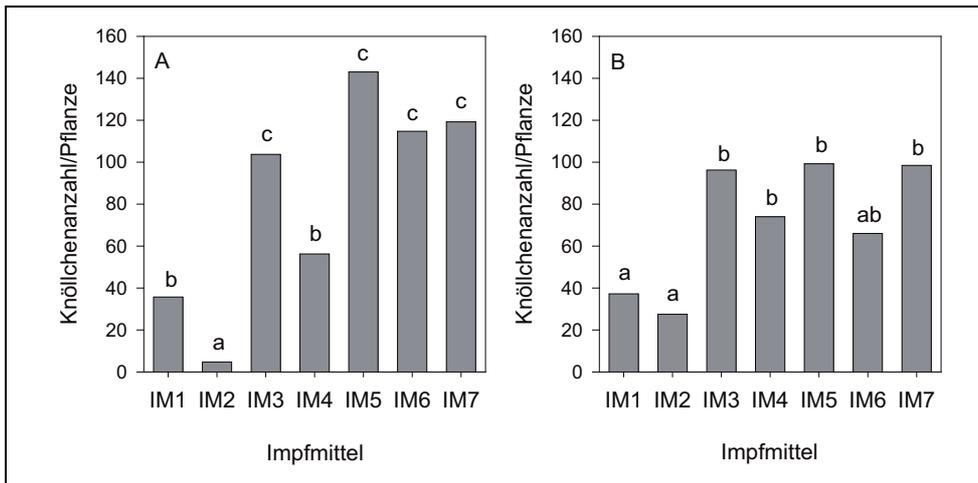


Abb. 1. Anzahl von Knöllchen pro Pflanze bei zwei Sojasorten in einem Gefäßversuch in Abhängigkeit vom Impfmittel. A: Sorte Merlin, Standardfehler des Mittelwerts = 9,67. B: Sorte Primus bzw. Cordoba, Standardfehler des Mittelwerts = 6,59. Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden; $p \leq 0,05$.
Nodule number per plant of two soybean varieties in a pot experiment dependent on the rhizobial inoculant. A: Variety Merlin, standard error of mean = 9.67. B: Variety Primus or Cordoba, respectively; standard error of mean = 6.59. Means followed by different letters are statistically different; $p \leq 0.05$.

Tab. 2. Varianzanalyse-Tabelle für den Knöllchenansatz, die Knöllchenbiomasse, die oberirdische Biomasse und die Wurzelmasse bei zwei Sojasorten nach der Inokulation mit verschiedenen Rhizobien-Impfmitteln in einem Gefäßversuch
Table of variance for nodule number, nodule biomass, aboveground biomass and root biomass for two soybean varieties after inoculation with different rhizobial inoculants in a pot experiment

	Freiheitsgrade	F-Statistik	Pr > F
Anzahl Knöllchen			
Sorten	1	1,49	0,2380
Behandlungen	6	20,33	< 0,0001
Wiederholungen	3	0,71	0,5541
Sorten × Behandlungen	6	3,15	0,0176
Knöllchenbiomasse (Trockenmasse)			
Sorten	1	4,97	0,0317
Behandlungen	6	3,80	0,0045
Wiederholungen	3	6,08	0,0117
Sorten × Behandlungen	6	4,51	0,0015
Oberirdische Biomasse (Trockenmasse)			
Sorten	1	12,15	< 0,0001
Behandlungen	6	3,24	0,0110
Wiederholungen	3	5,97	0,0019
Sorten × Behandlungen	6	2,31	0,0622
Wurzelmasse (Trockenmasse)			
Sorten	1	14,24	0,0005
Behandlungen	6	14,64	< 0,0001
Wiederholungen	3	6,20	0,0015
Sorten × Behandlungen	6	4,66	0,0012

Beim Sortenvergleich innerhalb der Behandlungen bildete Primus in den Varianten IM2 (signifikant) und IM4 mehr Knöllchen als Merlin (nicht dargestellt), Merlin bildete entsprechend mit IM3, IM5, IM6 und IM7 tendenziell mehr Knöllchen.

Knöllchenbiomasse

Die signifikant geringste Knöllchenbiomasse bildete Merlin in IM2 mit 0,17 g TM pro Pflanze aus, die größte Knöllchenbiomasse in Variante IM3 mit 0,40 g TM pro Pflanze (Abb. 2). Bei Primus fand sich in IM6 mit 0,17 g die geringste Biomasse, die sich signifikant von allen Varianten außer IM1 (hier Sorte Cordoba) unterschied; die größte Biomasse bildete Primus in den Varianten IM2, IM3 und IM4 mit rund 0,35 g TM pro Pflanze. Signifikante Sortenunterschiede in der Knöllchenbiomasse traten in den Varianten IM2 (Merlin < Primus) und IM6 (Primus < Merlin) auf (nicht dargestellt).

Ober- und unterirdische Biomasse

Die Grünfärbung des Sprosses der Sorte Merlin ähnelte in den Varianten IM1 und IM2 der Grünfärbung der unbeimpften Kontrollpflanzen (Tab. 3). Auch bei der Sorte Primus bzw. Cordoba lag die Färbung des Sprosses in diesen Varianten eher in einem schwachen bis mittleren Grünbereich. Alle weiteren Varianten wurden bei beiden Sorten dem dunklen Grünbereich zugeordnet.

Merlin bildete mit IM2 die geringste oberirdische Biomasse (7,4 g TM pro Pflanze; Abb. 3). Maximal betrug die oberirdische Biomasse von Merlin 18,9 g TM pro Pflanze (mit IM3), jedoch ohne signifikante Unterschiede zu IM4, 5, 6 und 7. Bei den Sorten Primus (IM2 bis 6) bzw. Cordoba (IM1 und IM7) zeigten sich keine signifikanten Effekte in der oberirdischen Biomasse durch die unterschiedlichen Impfmittel. Merlin und Primus unterschieden sich in den Varianten IM3, IM4, IM5 und IM6 signifikant in der Biomasseproduktion (Merlin > Primus; nicht dargestellt).

Die Wurzeltrockenmasse der Sorte Merlin schwankte zwischen 1,2 (IM2) und 1,8 g TM pro Pflanze (IM3; Abb. 4), die der Sorte Primus war in IM4 (2,5 g TM pro Pflanze) am signifikant höchsten. Primus bildete tendenziell in allen Behandlungen mehr Wurzelmasse als Merlin, und dabei signifikant mehr mit den Behandlungen IM2, IM4 und IM5 (nicht dargestellt).

Die gesamte Knöllchenmasse pro Pflanze korrelierte bei der sehr frühreifen (000) Sorte Merlin eng positiv

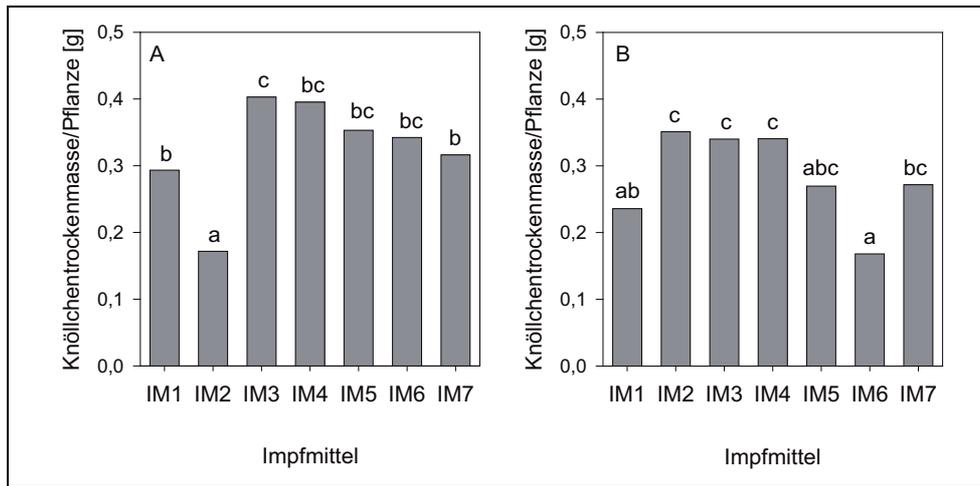


Abb. 2. Knöllchentrockenmasse pro Pflanze zweier Sojasorten in einem Gefäßversuch in Abhängigkeit vom Impfmittel. A: Sorte Merlin, Standardfehler des Mittelwerts = 0,02. B: Sorte Primus bzw. Cordoba, Standardfehler des Mittelwerts = 0,02. Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden; $p \leq 0,05$.
Nodule dry matter per plant of two soybean varieties in a pot experiment dependent on the rhizobial inoculant. A: Variety Merlin, standard error of mean = 0.02. B Variety Primus or Cordoba respectively; standard error of mean = 0.02. Means followed by different letters are statistically different; $p \leq 0.05$.

Tab. 3. Bewertung der Grünintensität des Spross zweier Sojasorten in Abhängigkeit vom Rhizobien-Impfmittel. 1 (schwache/helle Grünfärbung), 3 (mittlere Grünfärbung), 5 (starke/dunkle Grünfärbung). Daten wurden deskriptiv ausgewertet
Assessment of the intensity of green leaf color of two soybean varieties as effect of the rhizobial inoculant. 1 (light/poor green color), 3 (medium green color), 5 (strong/dark green color). Data were analyzed descriptively

Sojasorte	Impfmittel							Kontrolle
	IM1	IM2	IM3	IM4	IM5	IM6	IM7	
Merlin	1	1	5	5	5	5	3	1
Primus/Cordoba	3	3	5	5	5	5	5	1

und signifikant mit dem oberirdischen Aufwuchs sowie der zu diesem Zeitpunkt gebildeten Anzahl Hülsen (Tab. 4). Die Anzahl der Knöllchen war dabei untergeordnet. Bei der 00-Sorte Primus konnten diese Korrela-

tionen nicht festgestellt werden; möglicherweise wäre bei der später reifenden Sorte Primus eine ähnliche Korrelation wie bei Merlin zu messen gewesen, jedoch zu einem späteren Zeitpunkt.

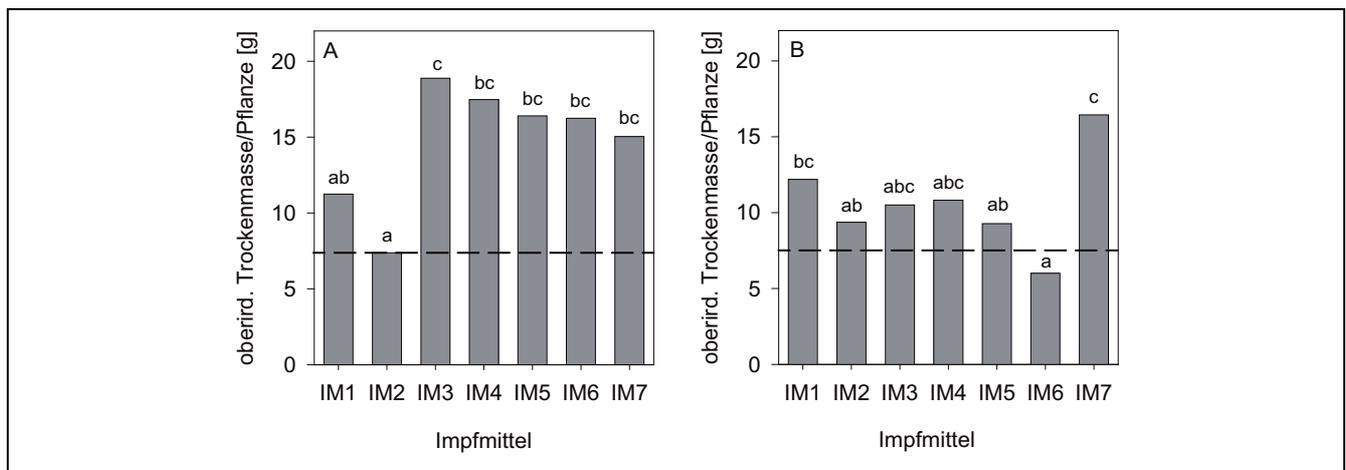


Abb. 3. Oberirdische Biomasse pro Pflanze zweier Sojasorten in einem Gefäßversuch in Abhängigkeit vom Impfmittel. Die gestrichelte Linie zeigt die Trockenmasse der jeweiligen Kontrollpflanzen an. A: Sorte Merlin, Standardfehler des Mittelwerts = 1,07. B: Sorte Primus bzw. Cordoba, Standardfehler des Mittelwerts = 0,88. Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden. $p \leq 0,05$.
Aboveground biomass per plant of two soybean varieties in a pot experiment dependent on the rhizobial inoculant. Broken line shows respective dry matter of control plants without inoculant. A: Variety Merlin, standard error of mean = 1.07. B Variety Primus or Cordoba, respectively; standard error of mean = 0.88. Means followed by different letters are statistically different; $p \leq 0.05$.

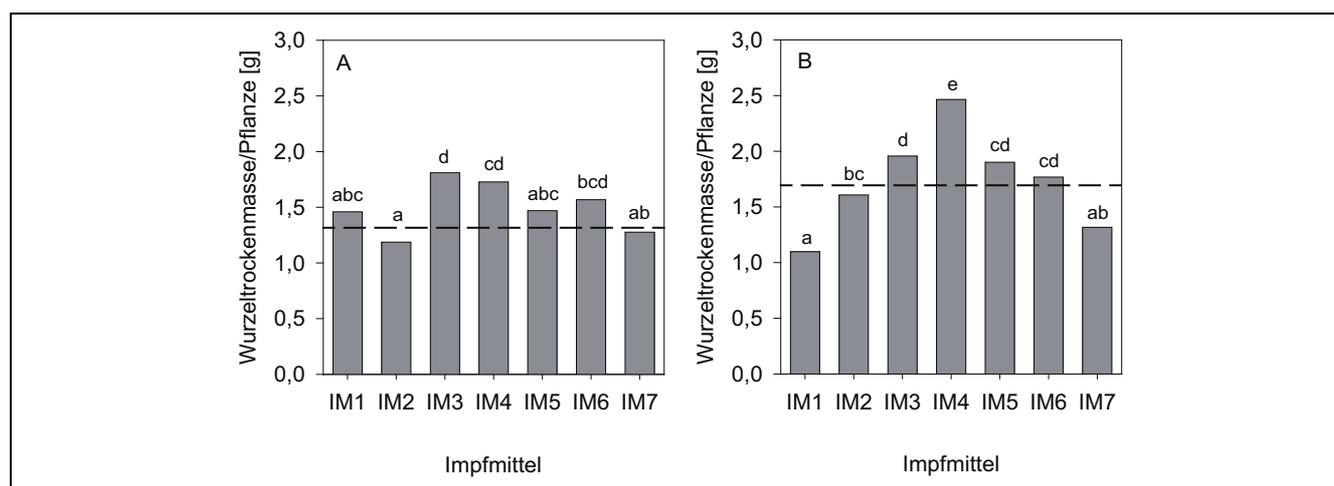


Abb. 4. Wurzeltrockenmasse pro Pflanze zweier Sojasorten in einem Gefäßversuch in Abhängigkeit vom Impfmittel. Die gestrichelte Linie zeigt die Trockenmasse der jeweiligen Kontrollpflanzen an. A: Sorte Merlin, Standardfehler des Mittelwerts = 0,02. B: Sorte Primus bzw. Cordoba, Standardfehler des Mittelwerts = 0,07. Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden. $p \leq 0,05$.

Root dry matter per plant of two soybean varieties in a pot experiment dependent on the rhizobial inoculant. Broken line shows respective dry matter of control plants without inoculant. A: Variety Merlin, standard error of mean = 0.02. B Variety Primus or Cordoba, respectively; standard error of mean = 0.02. Means followed by different letters are statistically different; $p \leq 0.05$.

Tab. 4. R^2 -Korrelations-Matrix (Pearsonsche Korrelation) für die Messgrößen der Sojasorten Merlin und Primus in Abhängigkeit von der Trockenmasse (TM) der Knöllchen bzw. der Anzahl an Knöllchen. * Signifikant bei $p \leq 0,05$

R^2 -correlation-matrix (Pearson's correlation) for measured variables of soybean varieties Merlin and Primus dependent on dry matter (TM) of nodules or number of nodules. * Significance level: $p \leq 0.05$

	Messgrößen			
	Knöllchen TM	Oberirdische TM	Hülsen Anzahl	Wurzel TM
Sorte Merlin (n = 28)				
Knöllchen-TM	-	0,758*	0,712*	0,357*
Anzahl Knöllchen	0,313*	0,398*	0,389*	0,078
Sorte Primus (n = 20)				
Knöllchen-TM	-	0,183	0,145	0,045
Anzahl Knöllchen	0,112	0,024	0,006	0,121

Größenklassifizierung der Knöllchen

Der Großteil der Knöllchen wies einen Durchmesser von 1,1 mm bis 3,5 mm auf (Abb. 5). Nach der Inokulation mit IM3, IM5, IM6, und IM7 waren in diesen Größenklassen bei allen geprüften Sorten deutlich mehr Knöllchen vertreten als nach der Inokulation mit IM1 und IM2. Bei letzteren war der Großteil der Knöllchen in den Kategorien 1,6 mm bis 4,5 mm zu finden. Die Beimischung mit IM4 führte bei der Sorte Merlin zu insgesamt weniger Knöllchen als bei Primus, die sich den Größenklassen 1,6 mm bis 4,5 mm zuordnen ließen, während die Knöllchen in derselben Behandlungsvariante bei Primus tendenziell in den kleineren Größenklassen von 1,1 mm bis 3,5 mm vertreten waren.

Diskussion

Knöllchenansatz

Ein nahe liegender Grund für die verschiedenen hohen Knöllchenansätze der Impfmittel ist die Menge an vermehrungsfähigen und koloniebildenden Rhizobienzellen pro g bzw. ml im Impfmittel. Um bei Soja an der Pfahlwurzel eine ausreichend hohe Nodulation für einen akzeptablen Ertrag zu erreichen, sind mindestens 10^5 Zellen von *B. japonicum* pro Samen nötig (WEAVER und FREDERICK, 1972; BROCKWELL et al., 1985). Mit steigender Anzahl an lebenden Rhizobien steigen die Anzahl Knöllchen, die Knöllchentrockenmasse, der Ertrag und der Stickstoffgehalt im Samen weiter an (SMITH et al., 1981;

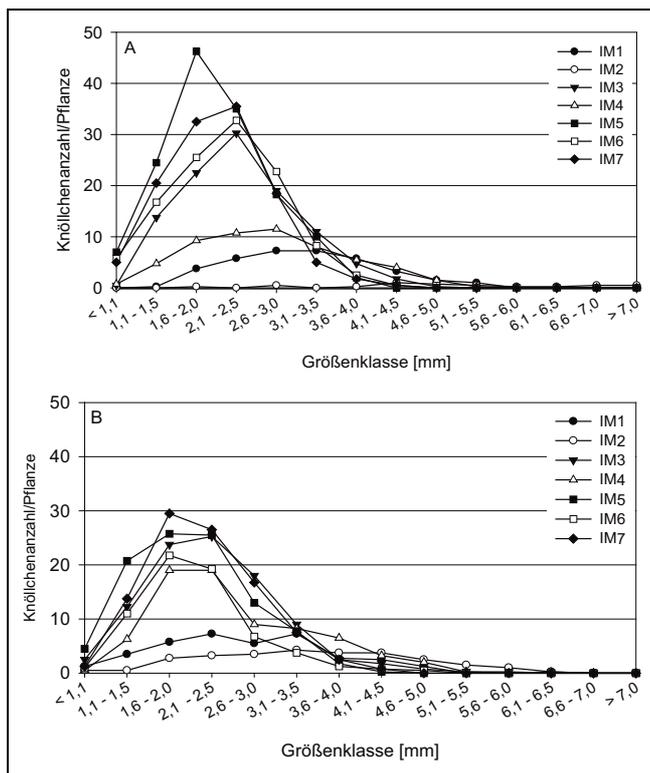


Abb. 5. Anzahl von Knöllchen pro Pflanze zweier Sojasorten in einem Gefäßversuch in Abhängigkeit von der Größenklasse der Knöllchen. A: Sorte Merlin. B: Sorte Primus bzw. Cordoba. Daten wurden deskriptiv ausgewertet.

Number of nodules per plant of two soybean varieties in a pot experiment dependent on the size classification of nodules. A: Variety Merlin. B: Variety Primus or Cordoba, respectively. Data were analyzed descriptively.

ALBAREDA et al., 2009). Die Menge von 10^7 Rhizobienzellen pro ml Impfmittel der Variante IM2 könnte daher die geringere Knöllchenmenge nach der Beimpfung erklären, da die anderen Präparate laut Hersteller 10^9 lebenden Rhizobienzellen ml^{-1} bzw. g^{-1} aufwiesen. Eine ausreichend hohe Anzahl an Rhizobien ist jedoch eine wichtige Voraussetzung für ihre schnelle Vermehrung in der Rhizosphäre (BURTON, 1976). Möglicherweise könnte hier in der Praxis zunächst eine Erhöhung der Aufwandmenge eine bessere Inokulation bewirken bzw. es ließe sich mittelfristig durch den Hersteller die Konzentration der Rhizobienzellen im Produkt erhöhen.

Die hohe Anzahl an Knöllchen bei den Pflanzen in der Variante IM7, die aus der Kombination des vorinokulierten Saatgutes und IM6 bestand, kann durch die Addition der Rhizobienzellen beider Impfmittel entstanden sein. Dadurch hätte sich die Rhizobienanzahl pro Samen erhöht, mit einem potenziell höheren Infektionserfolg. Speziell auf Flächen mit erstmaligem Anbau von Soja könnte in Deutschland eine doppelte Inokulation überlegenswert sein, zumal unter den im Vergleich zu den Versuchsbedingungen deutlich kühleren Temperaturen im Freiland grundsätzlich ein tendenziell geringerer Knöllchenansatz zu erwarten ist.

Mit IM4 beimpfte Pflanzen zeigten trotz der laut Herstellerangaben höchsten Menge an Rhizobienzellen (4×10^9 Kbe g^{-1}) in diesem Versuch einen vergleichsweise mäßigen Knöllchenansatz. Möglicherweise waren Angaben zur Rhizobiendichte in den Impfmitteln nicht sehr exakt, oder auch die Formulierung des Impfmittels beeinflusste die Nodulation. Die Behandlung des Saatgutes mit auf Torf basierenden Impfmitteln ohne zusätzliche Befeuchtung (wie es in diesem Versuch bei IM4 gehandhabt wurde) könnte zu dem geringeren Knöllchenansatz geführt haben. Nach der trockenen Inokulation besteht die Möglichkeit, dass nicht das komplette Impfmittel am Saatgut haftet, sondern ein Teil schon während der Inokulation verloren geht oder bei der Aussaat in der Sämaschine verbleibt. Auch bei einer zusätzlichen Befeuchtung sollte das Saatgut zügig nach der Beimpfung ausgesät werden, da sich sonst das angetrocknete Inokulum wieder vom Saatgut lösen kann (GAULT, 1978 zitiert nach DEAKER et al., 2004). Zusätze wie Haftmittel können die Nodulation beeinflussen, indem sie zum besseren Anhaften der Rhizobienzellen an das Saatgut beitragen (BROCKWELL, 1977). Dadurch ließe sich der hohe Knöllchenansatz in der Variante IM3 erklären.

Nicht sterilisierte Trägermedien können die Nodulation grundsätzlich begrenzen, da Kontaminationen durch andere Mikroorganismen die Lebensdauer der Rhizobienzellen herabsetzen (ROUGHLEY, 1970). Eine solche Kontamination ist als Ursache für die geringe Nodulation bei einigen im Versuch verwendeten Präparaten nicht auszuschließen.

Oftmals wird in der Praxis vom Hersteller vorinokuliertes Saatgut bevorzugt, da das beimpfte Saatgut lediglich ausgesät werden muss. Eine gewisse Unsicherheit bei diesem Verfahren stellt die Lagerumgebung, z.B. beim Händler oder Landwirt, in Verbindung mit dem Zeitraum zwischen Inokulation und Aussaat dar.

GEMELL et al. (2005) zeigten für verschiedene Leguminosen, dass vorinokuliertes Saatgut im Alter zwischen durchschnittlich 70–96 Tagen, aufgrund einer deutlich geringeren Anzahl lebender Rhizobienzellen, einen signifikant geringeren Knöllchenansatz als frisch inokuliertes Saatgut zur Folge hatte. Daher sollte eine genügend hohe Anzahl an Rhizobienzellen im Impfmittel sowie die Verwendung von Rhizobienstämmen, die gegen ein Austrocknen der Saatgutbeschichtung tolerant sind, Voraussetzung bei der Produktion von vorinokuliertem Saatgut sein (DEAKER et al., 2004). Unpassende Lagerbedingungen, wie z.B. hohe Lagertemperaturen oder direkte Sonneneinstrahlung, lassen die Anzahl an lebenden Rhizobien schneller sinken. Die Gewähr einer entsprechenden Lagerung beim Zwischenhändler und eine Etikettierung der Verpackung mit Details wie Zeitpunkt der Inokulation, Verfallsdatum und Anzahl an Rhizobienzellen könnte die Qualität des vorinokulierten Saatgutes sicherstellen (LUPWAYI et al., 2000; GEMELL et al., 2005). Im aktuellen Versuch könnte somit einer der Gründe für den geringen Knöllchenansatz bei der Variante IM1 das Alter der Rhizobien auf dem Saatgut gewesen sein. Die Zeitspanne zwischen Inokulation beim Hersteller und Aussaat betrug

hier ca. 4–5 Wochen, sodass sich trotz optimaler Lagerbedingungen die Anzahl lebender Rhizobien stark verringert haben könnte.

Knöllchentrockenmasse, ober- und unterirdische Trockenmasse

Die Knöllchenmasse, das heißt die Menge an N-fixierendem Gewebe, gilt als Indikator für die Höhe der Biomasseentwicklung und des Ertrags (GREDER et al., 1986; KING und PURCELL, 2001). Dieser Zusammenhang wurde sogar schon an den unreifen Pflanzen im vorliegenden Versuch deutlich. Der geringe Knöllchenansatz bei der Inokulation mit IM1 und IM2 dürfte daher direkt ertragswirksam sein. Sichtbar in der Produktion oberirdischer Biomasse wurde dieser Zusammenhang jedoch nur bei der Sorte Merlin. Ebenfalls konnte tendenziell für die unterirdische Biomasseproduktion gezeigt werden, dass besonders bei Primus eine geringe Knöllchenbiomasse einen Einfluss auf das Wurzelwachstum hatte.

Die einfache Bonitur der Grünfärbung des Blattes im vorgestellten Versuch zeigte einen deutlichen Zusammenhang mit dem Inokulationserfolg; eine noch exaktere und weiterführende Methode, um eine erfolgreiche Inokulation zerstörungsfrei und schnell zu überprüfen, wäre die Messung des relativen Chlorophyllgehalts mit dem SPAD Chlorophyll Meter. Hierbei misst das Gerät die Absorption von rotem und infrarotem Licht (bei 650 bzw. 940 nm Wellenlänge) im Blatt und bestimmt daraus den Chlorophyllgehalt (THOMPSON et al., 1996). Die Messung sollte zwischen Beginn der Blüte (BBCH 61) und Beginn der Hülsenfüllung (BBCH 72) stattfinden, da zuvor der Photosynthesapparat noch nicht komplett entwickelt ist und anschließend Stickstoff für die Kornfüllungsphase wieder aus den Blättern umverlagert wird (THOMPSON et al., 1996). Weiterhin muss beachtet werden, dass sich Sojasorten in der Höhe des Chlorophyllgehaltes generell unterscheiden können und somit die SPAD Werte von Sorte zu Sorte variieren (FRITSCHI und RAY, 2007).

Deutlich wird der Zusammenhang zwischen Knöllchenmasse und ober- bzw. unterirdischer Biomasse besonders bei der Sorte Merlin (beimpft mit IM4) unter zusätzlicher Berücksichtigung der Größenklassifizierung: Hier bildeten sich zwar verglichen mit anderen Varianten weniger Knöllchen, jedoch hatten diese ein hohes Trockengewicht, sodass sich die ober- und unterirdische Biomasse auf dem gleichen Niveau wie bei Pflanzen in Varianten mit einem hohen Knöllchenansatz befand.

Größenklassifizierung

Ein geringer Knöllchenansatz bei Soja, der durch Stressfaktoren oder eine zu kleine Rhizobienpopulation im Boden entstehen kann, kann von den Pflanzen bis zu einem gewissen Grad durch die Bildung größerer Knöllchen kompensiert werden (SINGLETON und STOCKINGER, 1983). Dies zeigte auch die Studie von SMITH et al. (1981): Das Gewicht pro Knöllchen korrelierte negativ mit steigender Anzahl an lebenden Rhizobien im Boden. Dieses Phänomen könnte die tendenziell größeren Knöllchen bei Merlin und Primus in den Behandlungen IM1 und

IM2 erklären, bei denen vergleichsweise wenig Knöllchen gefunden wurden. Hier könnte der geringere Knöllchenansatz durch größere Knöllchen kompensiert worden sein. Noch deutlicher zeigt sich dieser Zusammenhang beim Vergleich der Knöllchengrößen der Sorten Merlin und Primus in der Variante IM4: Der im Vergleich zu Primus geringe Knöllchenansatz bei Merlin führte zu größeren Knöllchen als bei Primus. Werden große Knöllchen im Freiland bei Soja gefunden, könnte das somit auf eine unzureichende Infektion mit *B. japonicum* hinweisen.

Auf der anderen Seite bieten größere Knöllchen Vorteile für die Stickstofffixierung in Stresssituationen wie z.B. unter Wassermangel. Wasser und Glukose aus der Photosynthese werden ausschließlich über das Phloem zu den Knöllchen transportiert (WALSH et al., 1989). In einer Studie von KING und PURCELL (2001) war der relative Wassergehalt in großen Knöllchen höher als in kleinen Knöllchen. Der Grund hierfür ist vermutlich die größere Nachlieferung aus dem Phloem, da große Knöllchen relativ gesehen mehr Stickstoff fixierendes Gewebe besitzen. Der daraus folgende höhere Energiebedarf resultiert also in einer größeren Sink-Kapazität, was wiederum zu einer größeren Nachlieferung an Wasser und Glukose führt.

Sortenunterschiede

Generell fiel auf, dass die Sorte Merlin mit den meisten Impfmitteln mehr Knöllchen pro Pflanze und gleichzeitig eine höhere Knöllchenmasse aufwies als Primus bzw. Cordoba. Es ist für Soja bekannt, dass die Fähigkeit zur Symbiose und die Symbioseleistung auf einer spezifischen Interaktion zwischen bestimmten Genotypen der Pflanze und Stämmen von *B. japonicum* beruht (CALDWELL und VEST, 1968). Für das Zulassen der Infektion durch Rhizobien sind Gene der Wirtspflanze verantwortlich, die die Infektion der Wurzeln durch einen bestimmten Rhizobienstamm generell kontrollieren und die auch die Höhe der Nodulation regulieren (KEYSER und LI, 1992). Eventuell waren in vorliegenden Versuch die verwendeten Rhizobienstämme vor allem „passend“ für die Sorte Merlin, oder die Nodulation begann bei der 000-Sorte Merlin früher als bei der 00-Sorte Primus.

Schlussfolgerung

Die in der Praxis beobachteten Ertragsschwankungen könnten durchaus auch auf ein unterschiedlich effektives Inokulationspotenzial der Impfmittel zurückzuführen sein. Zur Optimierung der Symbiose zwischen Soja und *B. japonicum* sollte in jedem Impfmittel eine einheitlich hohe Menge an Rhizobienzellen von mindestens 10^9 KBE ml⁻¹ bzw. g⁻¹ vorhanden sein. Speziell für vorinokuliertes Saatgut sollten Rhizobienstämme verwendet werden, die auch Lagerzeiten von mehreren Wochen überdauern. Ebenfalls sollte in Zukunft berücksichtigt werden, dass die Interaktion zwischen Sojasorte und verschiedenen Stämmen von *B. japonicum* unterschiedlich stark sein kann. Hier sind spezifische Wirt-Symbiont-Kombinationen zu prüfen. Als Indikator für die Wirksamkeit

des Impfmittels kann die Rhizobienmasse statt der Rhizobienmenge herangezogen werden. Eine Erhöhung der Menge an Impfmittel oder doppelte Inokulierung könnte besonders auf Flächen mit erstmaligem Sojaanbau eine Option sein.

Danksagung

Wir danken den Firmen Becker Underwood, Jost und Saatbau Linz sehr herzlich für die Unterstützung und die Bereitstellung der Impfmittel.

Literatur

- ABBASI, M.K., M. MANZOOR, M.M. TAHIR, 2010: Efficiency of rhizobium inoculation and P fertilization in enhancing nodulation, seed yield, and phosphorus use efficiency by field grown soybean under hilly region of Rawalakot Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. *Journal of Plant Nutrition* **33**, 1080-1102.
- ALBAREDA, M., D. RODRÍGUEZ-NAVARRO, F. TEMPRANO, 2009: Soybean inoculation: Dose, N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil. *Field Crops Research* **113** (3), 352-356.
- BIOAUSTRIA, 2012: Kurzanleitung zur Knöllchenbonitur bei Sojabohne. Verfügbar: http://www.bioforschung.at/uploads/media/Knoellchenbonitur_fuer_Sojabohne_02.pdf (22.11.2012).
- BROCKWELL, J., 1977: Application of legume seed inoculants. In: HARDY, R.W.F., A.H. GIBSON (Hrsg.): *A Treatise on Dinitrogen Fixation*. Section IV: Agronomy and Ecology. New York, John Wiley & Sons Inc, 277-309.
- BROCKWELL, J., R.R. GAULT, D.L. CHASE, G.L. TURNER, F.J. BERGERSEN, 1985: Establishment and expression of soybean symbiosis in a soil previously free of *Rhizobium japonicum*. *Australian Journal of Agricultural Research* **36** (3), 397-409.
- BURTON, J.C., 1976: Methods of inoculating seeds and their effect on survival of rhizobia. In: NUTMAN, P.S. (Hrsg.): *Symbiotic nitrogen fixation in plants*, International Biological Programme 7. Cambridge, Great Britain, Cambridge University Press, 175-189.
- CALDWELL, B., G. VEST, 1968: Nodulation interactions between soybean genotypes and serogroups of *Rhizobium japonicum*. *Crop Science* **8** (6), 680-682.
- CATROUX, G., A. HARTMANN, C. REVELLIN, 2001: Trends in rhizobial inoculant production and use. *Plant and Soil* **230** (1), 21-30.
- DEAKER, R., R. ROUGHLEY, I. KENNEDY, 2004: Legume seed inoculation technology – a review. *Soil Biology and Biochemistry* **36** (8), 1275-1288.
- FAOSTAT, 2012: United Nations Food and Agriculture Organization. Statistical Database. Verfügbar: <http://faostat.fao.org/> (22.11.2012).
- FRITSCHI, F.B., J.D. RAY, 2007: Soybean leaf nitrogen, chlorophyll content, and chlorophyll a/b ratio. *Photosynthetica* **45** (1), 92-98.
- GAULT, R.R., 1978: A study of developments and trends in New Zealand, the USA and Canada in the technology associated with the exploitation of the nitrogen-fixing legume root nodule bacteria, *Rhizobium* spp. for use in legume crops new to Australian agriculture. Final Report to the Winston Churchill Memorial Trust, CSIRO Canberra, 143.
- GEMELL, L.G., E.J. HARTLEY, D.F. HERRIDGE, 2005: Point-of-sale evaluation of preinoculated and custom-inoculated pasture legume seed. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **45** (3), 161-169.
- GREDER, R.R., J.H. ORF, J.W. LAMBERT, 1986: Heritabilities and Associations of Nodule Mass and Recovery of *Bradyrhizobium japonicum* Serogroup USDA 110 in Soybean. *Crop Science* **26** (1), 33-37.
- KEYSER, H., F. LI, 1992: Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. *Plant and Soil* **141** (1-2), 119-135.
- KING, C.A., L.C. PURCELL, 2001: Soybean Nodule Size and Relationship to Nitrogen Fixation Response to Water Deficit. *Crop Science* **41** (4), 1099-1107.
- LEL, 2012: Landesanstalt für Entwicklung der Landwirtschaft und der ländlichen Räume. Verfügbar: <https://www.landwirtschaft-bw.info/servlet/PB/menu/1041234/index.html> (30.11.2012).
- LUPWAYI, N., P. OLSEN, E. SANDE, H. KEYSER, 2000: Inoculant quality and its evaluation. *Field Crops Research* **65** (2-3), 259-270.
- ROUGHLEY, R.J., 1970: The preparation and use of legume seed inoculants. *Plant and Soil* **32** (1-3), 675-701.
- SCHÄFER, B.C., 2011: Körnerleguminosen. In: LÜTKE ENTRUP, N., B.C. SCHÄFER (Hrsg.): *Lehrbuch des Pflanzenbaues*, Band 2: Kulturpflanzen. 3. Aufl., Bonn, AgroConcept, 626-654.
- SCHILL, R., S. GRUBER, S. ZIKELI, W. CLAUPEIN, 2010: Auswirkung tiefer Nachttemperaturen auf den Hülsenansatz verschiedener Soja-Genotypen. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **23**, 196.
- SINGLETON, P.W., K.R. STOCKINGER, 1983: Compensation against ineffective nodulation in soybean. *Crop Science* **23** (1), 69-72.
- SMITH, R.S., M.A. ELLIS, R.E. SMITH, 1981: Effect of *Rhizobium japonicum* inoculant rates on soybean nodulation in a tropical soil. *Agronomy Journal* **73** (3), 505-508.
- SOJAFÖRDERRING, 2013: Deutscher Sojaförderung: Anbauanleitung für Sojabohnen. Imgraben, H. (Regierungspräsidium Freiburg). Verfügbar: www.sojafoerderring.de (06/2013).
- STEPHENS, J., H. RASK, 2000: Inoculant production and formulation. *Field Crops Research* **65** (2), 249-258.
- THOMPSON, J.A., L.E. SCHWEITZER, R.L. NELSON, 1996: Association of specific leaf weight, an estimate of chlorophyll, and chlorophyll content with apparent photosynthesis in soybean. *Photosynthesis Research* **49** (1), 1-10.
- USDA, 2012: United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. Verfügbar: <http://www.fas.usda.gov/oilseeds/Current/default.asp> (22.11.2012).
- WALSH, K.B., M.J. CANNY, D.B. LAYZELL, 1989: Vascular transport and soybean nodule function: II. A role for phloem supply in product export. *Plant, Cell and Environment* **12** (7), 713-723.
- WEAVER, R.W., L.R. FREDERICK, 1972: Effect of inoculum size on nodulation of *Glycine max* (L.) Merrill, variety Ford. *Agronomy Journal* **64** (5), 597-599.
- WERNER, D., 1999: Biologische Stickstoff-Fixierung. In: KELLER, E.R., H. HANUS, K.L. HEYLAND (Hrsg.): *Handbuch des Pflanzenbaues*, Band 3: Knollen- und Wurzelfrüchte, Körner- und Futterleguminosen. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer, 554-561.