

Einfluss von Rinderurin auf die Isotopensignatur einer *Lolium-perenne-Trifolium-repens*-Mischung

B.Tonn, I. Porath, J. Isselstein

Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften,
Abteilung Graslandwissenschaft, von-Siebold-Str. 8, 37075 Göttingen,
btonn@uni-goettingen.de

1 Einleitung und Problemstellung

Aus dem natürlichen Verhältnis der beiden stabilen Isotope ^{14}N und ^{15}N in Graslandaufwüchsen können Rückschlüsse auf die Stickstoffquellen der Pflanzen und auf Stickstoffflüsse in den Systemen gezogen werden. Da gasförmige Stickstoffverluste in der Regel mit einer relativen Anreicherung von ^{15}N in der Pflanze verbunden sind, [3] kann das $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ -Verhältnis in Graslandaufwüchsen als Indikator für Stickstoffverluste in Futterbausystemen dienen [5].

Auf Weideflächen stellen Urinstellen eine wichtige Stickstoffquelle für den Pflanzenbestand dar. Gleichzeitig tragen sie erheblich zu Nitratauswaschung und gasförmigen Stickstoffverlusten bei [2]. Zu letzteren gehört die Freisetzung gasförmigen Ammoniaks, die üblicherweise 15-20 % des im Urin enthaltenen Stickstoffs umfasst [2]. Dieser Prozess ist mit einer starken isotopischen Fraktionierung verbunden, die zur Abreicherung von ^{15}N im freigesetzten Ammoniak und einer entsprechenden Anreicherung von ^{15}N in den im Boden verbleibenden Stickstofffraktionen führt [3]. Pflanzen sind in der Lage, gasförmigen Ammoniak aus der Atmosphäre über die Stomata aufzunehmen ([6]. [1]) stellten eine kurzfristige Abreicherung von ^{15}N in oberirdischen Pflanzenteilen nach Urinapplikation in einer nordamerikanischen Prairie fest, die sie auf die Aufnahme isotopisch leichten Ammoniak-Stickstoffs durch die Pflanzen zurückführten. Darüber hinaus können Urinstellen den Anteil symbiotisch fixierten Stickstoffs an der Gesamt-Stickstoffaufnahme beeinflussen, indem sie zum einen zur Konkurrenzverschiebung von Leguminosen zu Nicht-Leguminosen, zum anderen zur Abnahme des Anteils fixierten Stickstoffs in Leguminosen führen [7]. Urinstellen können damit die Isotopensignatur von Graslandaufwüchsen und deren Aussagekraft in Bezug auf Stickstoffflüsse in Weiden in komplexer Weise beeinflussen. Hierzu liegen bislang noch kaum Informationen vor. In einem Topfversuch wurde daher geprüft, wie die Applikation von Rinderurin die Stickstoff-Isotopensignatur eines Mischbestandes einer Grasart (*Lolium perenne*) und einer Leguminosenart (*Trifolium repens*) im Zeitverlauf beeinflusst.

2 Material und Methoden

Der Versuch wurde als vollständig randomisierter Topfversuch mit zwei Versuchsfaktoren und vier Wiederholungen durchgeführt. Die Versuchsfaktoren waren Urinapplikation (ja/nein) und Schnittzeitpunkt (2 Erntetermine). Jeweils 15 Pflanzen von *Lolium perenne* cv. „Signum“ und 10 Pflanzen von *Trifolium repens* cv. „Rivendel“ wurden 7-13 Tage nach Aussaat in Töpfe mit den Maßen von 18x18x18 cm pikiert. Als Substrat diente eine Mischung von Komposterde und Sand im Gewichtsverhältnis von 11:1. Die Töpfe wurden in einer Vegetationshalle aufgestellt und jeweils 27 und 45 Tage nach Aussaat mit einer Schnitthöhe von 5 cm geschnitten. Drei Wochen nach dem zweiten Schnitt wurden in den Urinapplikationsvarianten jeweils 300 ml Rinderurin und in den Kontrollvarianten ohne Urinapplikation jeweils 300 ml Wasser je Topf mit einer Spritzflasche bodennah aus-

gebracht. Töpfe mit Urinapplikation wurden von Kontrolltöpfen vom Zeitpunkt der Urinapplikation bis zu vier Tagen danach räumlich getrennt. Die Ernte der gesamten oberirdischen Biomasse erfolgte 17 Tage (Termin 1) bzw. 32 Tage (Termin 2) nach Urinapplikation. Das Erntegut wurde in die beiden angesäten Arten sortiert und auf 0,25 mm Siebdurchgang vermahlen.

Zum Zeitpunkt der zweiten Ernte wurde jeweils eine Bodenprobe als Mischprobe der mit Urin behandelten und der Kontrolltöpfe genommen. Eine zwischenzeitlich eingefrorene Probe des applizierten Urins wurde nach Ansäuerung mit Salpetersäure gefriergetrocknet. Pflanzen-, Boden- und Urinproben wurden auf ihren Gesamtstickstoffgehalt und ihre Stickstoff-Isotopensignatur untersucht. Die Analyse erfolgte mit einem über ein „Finnigan ConFlo-III-Interface“ (Finnigan MAT, Bremen) an ein „Finnigan Delta Plus“ Massenspektrometer (Finnigan MAT, Bremen) gekoppelten Elementaranalysator NA1110 (CE-Instruments, Rodano, Mailand, Italien). Die Stickstoff-Isotopensignatur wird als $\delta^{15}\text{N}$ (in ‰) angegeben, mit $\delta^{15}\text{N} = (\text{R}_{\text{Probe}}/\text{R}_{\text{Standard}})$. $\text{R}_{\text{Standard}}$ steht für das $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ -Verhältnis atmosphärischer Luft, R_{Probe} für das der Probe. Die Wiederholbarkeit der $\delta^{15}\text{N}$ -Analysen war besser als ± 0.2 ‰. Bei den Pflanzenproben erfolgte die Analyse getrennt nach Art. Stickstoffgehalt und Stickstoff-Isotopensignatur der Gesamtbiomasse wurden als gewichtetes Mittel, mit dem Gewichtungsfaktor Masseanteil der Art, berechnet.

Die statistische Analyse erfolgte als zwei- bzw. dreifaktorielle Varianzanalyse mit der Prozedur „Mixed“ der Software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NY, USA). Gesamttrockenmasseertrag, Trockenmasseanteil von *T. repens* sowie Stickstoffgehalt und Stickstoff-Isotopensignatur der Gesamtbiomasse wurden in einem Modell mit den festen Effekten Urinapplikation, Schnittzeitpunkt und deren paarweiser Interaktion untersucht. Das Modell zur Analyse von Stickstoffgehalt und Stickstoffisotopensignatur auf Artebene hatte die festen Effekte Art, Urinapplikation, Schnittzeitpunkt sowie deren paarweise und dreifache Interaktionen. Der Faktor Topf wurde als zufälliger Effekt in das Modell aufgenommen. Zum Erreichen von Varianzhomogenität wurden vor der Analyse auf Artebene die Stickstoffgehalte Logit-transformiert und bei der Analyse der Stickstoff-Isotopensignatur die Kovarianzparameter für jede Urinapplikationsvariante separat angepasst. Im Falle signifikanter ($P < 0.05$) Haupteffekte bzw. Interaktionen wurden Post-hoc-Tests auf Basis der Least Significant Difference durchgeführt.

3 Ergebnisse und Diskussion

Urinapplikation führte zum zweiten, jedoch nicht zum ersten Schnittzeitpunkt zu einem höheren Gesamttrockenmasseertrag (Tab. 1, Abb. 1a). Zu beiden Schnittzeitpunkten verringerte sie den Ertragsanteil von *T. repens* signifikant (Abb. 1b). Der Stickstoffgehalt der Gesamtbiomasse war in den Varianten mit Urinapplikation zu beiden Schnittzeitpunkten gegenüber den Kontrollvarianten deutlich erhöht (Abb. 1c). Zum ersten Schnittzeitpunkt war $\delta^{15}\text{N}$ in der Kontrolle mit 3,9 ‰ beträchtlich höher als nach Urinapplikation mit 1,1 ‰. Zum zweiten Schnittzeitpunkt lag $\delta^{15}\text{N}$ dagegen in der Variante mit Urinapplikation mit 5,1 ‰ höher als in der Kontrolle mit 2,4 ‰ (Abb. 1 d).

Tab. 1: Varianzanalysetabelle zum Einfluss von Urinapplikation und Schnittzeitpunkt auf Trockenmasseertrag, Stickstoffgehalt und Stickstoffisotopensignatur der Gesamtbiomasse sowie Ertragsanteil von *T. repens*.

	Trockenmasseertrag		Ertragsanteil <i>T. repens</i>		Stickstoffgehalt		Stickstoff-Isotopensignatur	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Urinapplikation (U)	4,1	0,065	38,7	<0,001	101,8	<0,001	<0,1	0,877
Schnittzeitpunkt (T)	59,9	<0,001	5,0	0,0468	0,1	0,757	8,8	0,023
U x T	6,0	0,031	1,3	0,2717	1,9	0,189	42,9	<0,001

Bei getrennter Analyse der beiden Arten beeinflussten sowohl Urinapplikation ($F=99,4$; $p<0,001$) als auch Art ($F=194,3$; $p<0,001$) sowie deren Interaktion ($F=179,6$; $p<0,001$) den Stickstoffgehalt; der Effekt des Schnittzeitpunktes war nicht signifikant ($F=3,36$; $p=0,092$). Zu beiden Schnittzeitpunkten war der Stickstoffgehalt von *L. perenne* in der Kontrollvariante nur halb so hoch wie der von *T. repens*. Während der Stickstoffgehalt von *T. repens* durch Urinapplikation nicht beeinflusst wurde, wurde der von *L. perenne* mehr als verdoppelt (Abb. 2a).

Die Stickstoff-Isotopensignatur wurde durch Art ($F=262,6$; $p<0,001$), Schnittzeitpunkt ($F=15,9$; $p=0,018$) sowie durch die Interaktion von Urinapplikation mit Art ($F=176,9$; $p<0,001$) bzw. Urinapplikation mit Schnittzeitpunkt ($F=33,2$; $p<0,001$) beeinflusst (Abb. 2b). In der Kontrollvariante betrug $\delta^{15}\text{N}$ im Mittel über beide Schnittzeitpunkte bei *L. perenne* 5,7 ‰, bei *T. repens* 0,1 ‰. Nach Urinapplikation ging $\delta^{15}\text{N}$ in *L. perenne* auf 3,2 ‰ zurück und stieg in *T. repens* auf 2,7 ‰. Im zeitlichen Verlauf, gemittelt über beide Arten, war $\delta^{15}\text{N}$ der Variante mit Urinapplikation zum ersten Schnittzeitpunkt mit 1,0 ‰ signifikant niedriger in der Kontrollvariante (3,2 ‰), zum zweiten Schnittzeitpunkt mit 4,9 ‰ dagegen signifikant höher als in der Kontrollvariante (2,5 ‰).

Der Stickstoffgehalt im Boden betrug 82 bzw. 96 g kg⁻¹ (Kontroll- / Urinapplikationsvariante), $\delta^{15}\text{N}$ lag bei 4,8 bzw. 5,0 ‰. Der Urin hatte einen Stickstoffgehalt von 5,8 g l⁻¹ und ein $\delta^{15}\text{N}$ von 2,0 ‰.

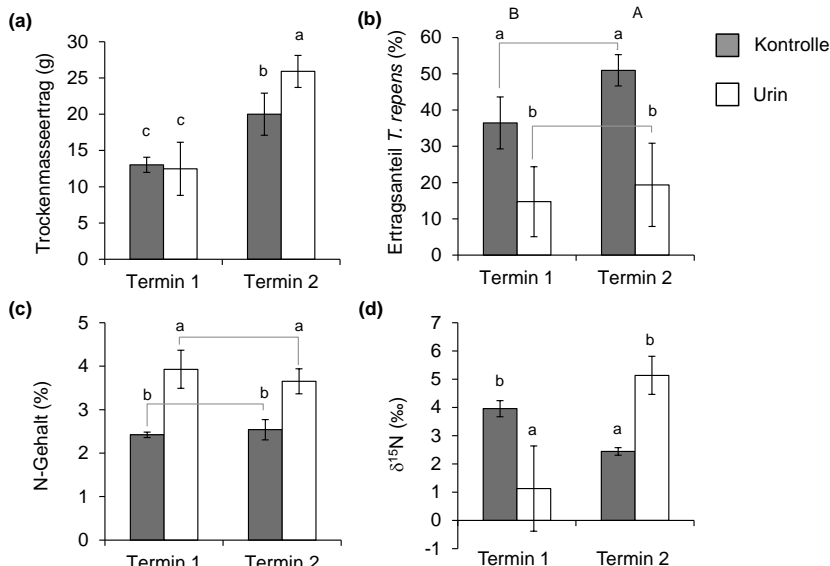


Abb. 1: Einfluss der Applikation von Rinderurin auf (a) den Gesamttrockenmasseertrag je Topf, (b) den Ertragsanteil von *T. repens*, (c) den Stickstoffgehalt und (d) die Stickstoff-Isotopensignatur einer Mischung von *L. perenne* und *T. repens* in Abhängigkeit vom Schnittzeitpunkt. Mittelwerte \pm Standardabweichung. (a, d): verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante verschiedene Mittelwerte; (b, c): verschiedene Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Mittelwerte der Urinbehandlungen; (b) verschiedene Großbuchstaben kennzeichnen signifikant verschiedene Mittelwerte der Schnittzeitpunkte; ($P<0,05$).

In den Kontrollvarianten lag $\delta^{15}\text{N}$ von *L. perenne* leicht über dem des Gesamtstickstoffs im Boden. Die Aufnahme von Bodennährstoffen durch Pflanzen ist ein Prozess, der mit nur sehr geringer isotopischer Fraktionierung verbunden ist [3]; die Abweichung ist vermutlich durch unterschiedliche Isotopensignaturen der verschiedenen Boden-Stickstofffraktionen zu erklären. *T. repens* wies in der Kontrollvariante mit $\delta^{15}\text{N}$ von 0,4 und -0,3 ‰ Werte auf, die nahe an denen fixierten Luftstickstoffs liegen ($-0,65 \pm 0,2$ ‰ [4]). Dies lässt auf einen hohen Anteil biologisch fixierten Stickstoffs am Gesamtstickstoff in *T. repens* schließen. Zum zweiten Schnittzeitpunkt deutet das hohe $\delta^{15}\text{N}$ von *T. repens* in der Variante mit Urinapplikation auf einen starken Rückgang der Stickstofffixierung hin, die auf die gute Stickstoffverfügbarkeit im Boden zurückzuführen ist [7].

L. perenne wies nach Urinapplikation zum ersten Schnittzeitpunkt ein sehr niedriges $\delta^{15}\text{N}$ von nur 1,1 ‰ auf. Dieser Unterschied zur Kontrollvariante lässt sich nicht ausschließlich durch die Aufnahme von Urinstickstoff ($\delta^{15}\text{N}=2,0$ ‰) aus dem Boden zu erklären, zumal dieser bereits in den ersten Tagen nach Urinapplikation durch Ammoniakfreisetzung isotopisch angereichert wurde [3]. Der Effekt ist statt dessen überwiegend auf die Aufnahme isotopisch abgereicherten gasförmigen Ammoniaks über die Blätter zurückzuführen. [1] beobachteten in den ersten drei Tagen nach Urinapplikation $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des freigesetzten Ammoniaks von unter -20‰. Von Werten in dieser Größenordnung ausgehend lässt sich ein quantitativ nicht unbedeutender Anteil an in Form von Ammoniak aufgenommenen Stickstoffs am Gesamtstickstoffs in *L. perenne* abschätzen. Dabei werden hohe Temperaturen in den ersten vier Tagen nach Urinapplikation (Tagesmittelwerte von 18-27 °C) in diesem Experiment zu einer besonders hohen Ammoniakfreisetzung beigetragen haben. Zum zweiten Schnittzeitpunkt wies *L. perenne* in der Urinapplikationsvariante ein vergleichbares $\delta^{15}\text{N}$ auf wie die Kontrollvariante. Dies ist vermutlich auf eine Kompensation durch Aufnahme isotopisch angereicherten Urinstickstoffs aus dem Boden zurückzuführen. $\delta^{15}\text{N}$ der Gesamtbiomasse ist Resultat der Änderungen im Ertragsanteil von *L. perenne* und *T. repens* sowie der Unterschiede zwischen beiden Arten hinsichtlich der Auswirkung von Urinapplikation auf Stickstoffgehalt und Stickstoff-Isotopensignatur.

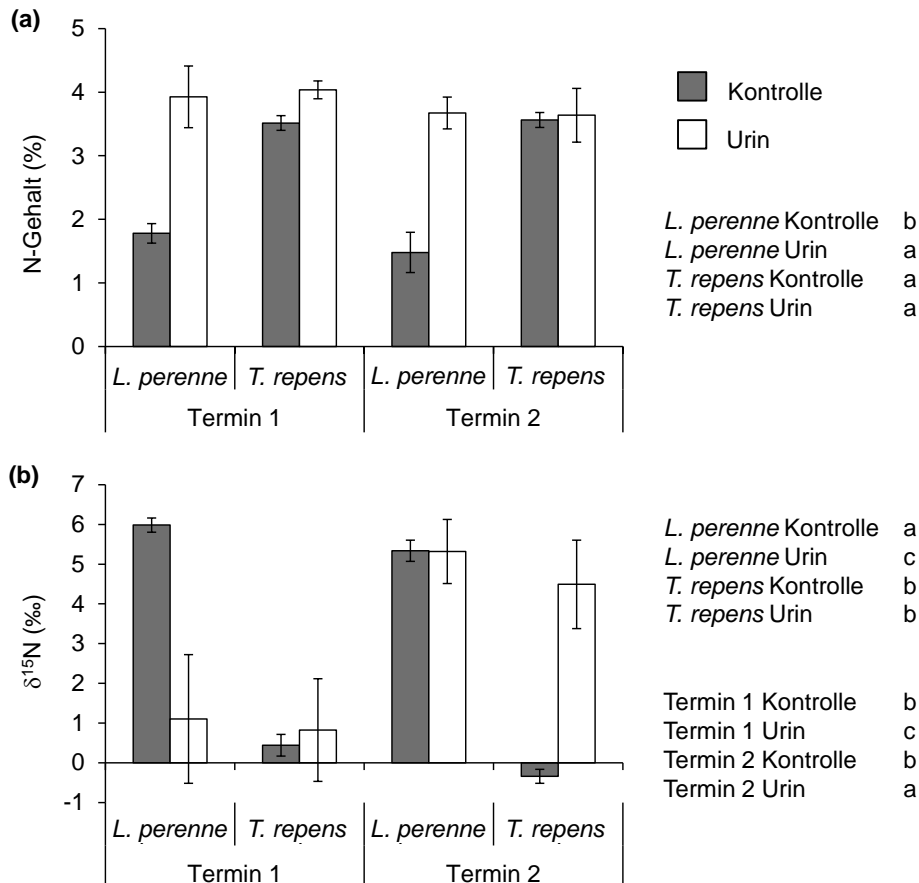


Abb. 2: Einfluss der Applikation von Rinderurin auf (a) den Stickstoffgehalt (b) die Stickstoff-Isotopensignatur von *L. perenne* und *T. repens* in Abhängigkeit vom Schnittzeitpunkt (siehe Abb. 1). Verschiedene Buchstaben hinter den rechts angegebenen Varianten kennzeichnen signifikant verschiedene Mittelwerte ($P < 0,05$).

4 Schlussfolgerungen

Urinstellen können die Stickstoff-Isotopensignatur von Graslandaufwüchsen durch Änderung des Ertragsanteils bzw. der Stickstoff-Fixierungsleistung von Leguminosen sowie durch isotopische Fraktionierung als Folge gasförmiger N-Emissionen beeinflussen. Je nach zeitlichem Abstand zur Urindepotion kann $\delta^{15}\text{N}$ niedriger oder höher als an nicht von Exkrementen beeinflussten Stellen sein. Der Einfluss von Urinstellen unterschiedlichen Alters sollte daher berücksichtigt werden, wenn natürliche Stickstoffisotope zur Untersuchung von Stickstoffflüssen in Weidesystemen eingesetzt werden.

5 Literatur

- [1] FRANK, D.A., EVANS, R.D. and TRACY, B.F. (2004): The role of ammonia volatilization in controlling the natural ^{15}N abundance of a grazed grassland. *Biogeochemistry* 68, 169-178.
- [2] HAYNES, R.J. and WILLIAMS, P.H. (1993): Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. *Advances in Agronomy* 49, 119-199.
- [3] HÖGBERG, P. (1997): Tansley Review No. 95: ^{15}N N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist* 137, 179-203.

- [4] PEOPLES, M.B., FAIZAH, A.W., RERKASEM, B. and HERRIDGE, D.F. (1989, Hrsg.): Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- [5] SCHWERTL, M., AUERSWALD, K., SCHÄUFELE, R. and SCHNYDER, H. (2005) Carbon and nitrogen stable isotope composition of cattle hair: ecological fingerprints of production systems? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 153-165.
- [6] SPARKS, J.P. (2009): Ecological ramifications of the direct foliar uptake of nitrogen. *Oecologia* 159, 1-13.
- [7] VINTHER, F.P. (1998): Biological nitrogen fixation in grass-clover affected by animal excreta. *Plant and Soil* 203, 207-215.