



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2021 30 stp
Fakultet for biovitenskap

Tidlig plante- og nodulutvikling og biologisk nitrogenfiksering hos åkerbønne (*Vicia faba* L. cv. Vertigo) dyrket i Norge

Early plant- and nodule development and biological nitrogen fixation in faba bean (*Vicia faba* L. cv. Vertigo) grown in Norway

Guro Augusta Rogstad Sørheim
Plantevitenskap

Forord

Denne oppgaven markerer slutten på min mastergrad i plantevitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet. Oppgaven er gjennomført ved fakultet for biovitenskap, institutt for plantevitenskap.

Oppgaven er skrevet i tilknytning til forskningsprosjektet FoodProFuture (2017-2021), og feltarbeidet er utført i deres forsøksfelt på Vollebekk forsøksgård vekstsesongen 2020. En stor takk til FoodProFuture for at jeg fikk ta del i prosjektet.

Jeg må også takke min hovedveileder Anne Kjersti Uhlen og tilleggsveileder Anne Marthe Lundby for god veiledning og hjelp, både under feltarbeidet og i skriveprosessen. Også en stor takk til Karin Svinnset for hjelp med feltarbeidet.

Ås, mai 2021

Guro Rogstad Sørheim

Sammendrag

Belgveksten åkerbønne (*Vicia faba* L.) er en proteinvekst med stort dyrkingspotensial i Norge. Det er begrenset kunnskap om åkerbønnes tidlige planteutvikling, inkludert utviklingen av noder på røttene og biologiske nitrogenfiksering under norske forhold. Kunnskap på disse områdene kreves for å bedre tilpasse sortsmateriale og dyrkingsteknikken til norske forhold. Formålet med denne oppgaven var å beskrive tidlig plante- og nodulutvikling, gjøre målinger på biologisk nitrogenfiksering, og undersøke effekten av startgjødsel og smitting med *Rhizobium* på planteutvikling, nodulering, biologisk nitrogenfiksering og avling. Planter av åkerbønne cv. Vertigo ble dyrket i et feltforsøk på Vollebekk forsøksgård i Ås vekstsesongen 2020. Behandlingene i forsøket besto av: ubehandlet kontroll (A1), startgjødsling med NPK (A2), smitting av frø med *Rhizobium* bakterier før såing (B1), og både smitte og startgjødsling (B2). Det ble gjort ukentlige registreringer av plante- og nodulutvikling i perioden fra såing til tidlig belgdannelse, og analyse av biologisk nitrogenfiksering ble gjort ved blomstring og tidlig belgdannelse.

Resultatene viste at varmesumkravet til Vertigo var på 594 døgngader fra såing til begynnende blomstring. Første noder ble funnet når planta hadde utviklet 3 bladpar, drøyt 4 uker etter såing. Antallet noder var generelt høyere på øvre del av rota (0-5 cm) enn nedre (5 < cm), men på øvre del av rota sluttet nodulene å øke i antall to uker før begynnende blomstring, mens på nedre del økte antallet frem til begynnende blomstring. Flest noder ble funnet ved begynnende blomstring og blomstring, når både øvre og nedre del av rota ble vurdert samlet. Andelen nitrogen fiksert fra luft (%Ndfa) varierte fra 75,5- 84,5% ved blomstring og fra 79,5-89,9% ved tidlig belgdannelse, noe som tilsvarte en fiksert mengde nitrogen på henholdsvis 5,6-7,5 kg N/daa og 11,6-15,6 kg N/daa. Det ble ikke funnet effekt av behandling på hverken planteutvikling, dannelsen av noder, biologisk nitrogenfiksering, avling, proteininnhold eller tusenkornvekt ($p > 0,05$). Den manglende effekten tyder på at startgjødsling og smitting ikke er nødvendige dyrkingstiltak i Norge.

Abstract

The grain legume faba bean (*Vicia faba* L.) is a protein crop with great cultivation potential in Norway. There is limited information about early plant development, nodulation and biological nitrogen fixation of faba beans grown in Norwegian climate. Increased knowledge in these areas are necessary in order to improve agronomic practices and to achieve better adapted cultivars to the Norwegian growing conditions. The aim of this thesis was to study early plant development and nodulation, measure biological nitrogen fixation, and examine the effect of start fertilizer and inoculation with *Rhizobium* on plant- and nodule development, biological nitrogen fixation and yield. Plants of faba bean cv. Vertigo were grown in a field experiment at Vollebekk Research farm in Ås, in 2020. The treatments were: untreated control (A1), start fertilizer with NPK (A2), inoculation of seeds with *Rhizobium* bacteria before sowing (B1), and both start fertilizer and inoculation with *Rhizobium* bacteria (B2). Weekly observations of plant- and nodule development from sowing to early pod formation was performed, and biological nitrogen fixation was measured at flowering and early pod formation.

The results showed that Vertigo required 594- degree days from sowing to early flowering. The first nodules were found when the plants had developed 3 leaf pairs, just over 4 weeks after sowing. Number of nodules were in general higher on the upper part of the root (0-5 cm) than the lower part (5< cm). The nodules stopped increasing in number two weeks before early flowering on the upper part of the root, while on the lower root part the nodules increased in number up to early flowering. The highest number of nodules were found at early flowering and flowering, when the upper and lower part of the root were seen together. The amount of nitrogen derived from air (%Ndfa) varied from 74,5-84,5% at flowering and from 79,5- 89,9% at early pod formation, corresponding to a fixed amount of 5,6-7,5 kg N/daa and 11,6-15,6 kg N/daa respectively. No effect of start fertilizer or inoculation was found on neither plant development, nodulation, biological nitrogen fixation, yield, protein content or thousand kernel weight ($p>0,05$). No treatment effect indicate that start fertilizer and inoculation is not required when growing faba bean in Norway.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	III
1. Innledning.....	1
2. Formål	3
3. Litteraturgjennomgang	4
3.1 Planteutvikling hos åkerbønne.....	4
3.1.1 Spiring.....	4
3.1.2 Vegetativ vekst.....	4
3.1.3 Blomstring.....	5
3.1.4 Frøutvikling.....	6
3.2 Biologisk nitrogenfiksering	7
3.3 Startgjødsling og inokulering	8
4. Materialer og metoder	9
4.1 Plantemateriale	9
4.2 Forsøksbeskrivelse.....	9
4.3 Registrering av nodulutvikling	10
4.4 Registrering av planteutvikling	11
4.5 Måling av plantas nitrogen status	11
4.6 ¹⁵ N isotopanalyse og beregning av biologisk nitrogenfiksering.....	12
4.7 Avling, tusenkornvekt og proteinanalyse	13
4.8 Værdata og varmesum	13
4.9 Statistisk analyse.....	13
5. Resultater.....	14
5.1 Temperatur og nedbør	14
5.2 Planteutvikling.....	15

5.3 Nodulutvikling.....	17
5.4 NBI målinger	19
5.5 Biologisk nitrogenfiksering	19
5.6 Avling, tusenkornvekt og proteininnhold.....	21
6. Diskusjon.....	23
7. Konklusjon	29
8. Referanser.....	30
9. Vedlegg	35

1. Innledning

Kjernebelgvekster er en samlebetegnelse på en rekke ulike vekster i erteblomstfamilien som danner store frø med høyt proteininnhold (20-40%) og fiksere nitrogen fra luften (Jensen et al., 2010; Mahmood et al., 2018). Vanlige kjernebelgvekster i landbruket er varmekrevende vekster som soya (*Glycine max* L.) og hagebønne (*Phaseolus vulgaris* L.), og mindre varmekrevende vekster som lupin (*Lupinus* spp.), ert (*Pisum sativum* L.) og åkerbønne (*Vicia faba* L.) (Miller et al., 2002; Peltonen-Sainio et al., 2013). Av disse er åkerbønne og ert best egnet for dyrking i Nord-Europa (Peltonen-Sainio et al., 2013). I Norge er det kun ert og åkerbønne som dyrkes på landbruksarealene (Stabbetorp, 2020), mens i andre deler av Europa dyrkes det i tillegg til ert og åkerbønne blant annet soya og lupin (Roman et al., 2016).

Åkerbønne brukes i Norge, som i Europa, hovedsakelig til dyrefôr, men er også godt egnet til mat og er en viktig proteinkilde i mange andre kulturer (Abrahamsen & Waalen, 2020; Crépon et al., 2010; Duc et al., 2015; Jensen et al., 2010). Både i Norge og Europa er produksjonen av planteprotein lavere enn forbruket, og det importeres store mengder for å fylle proteinbehovet i fôrproduksjonen og etterspørselen av planteprotein til mat (Abrahamsen et al., 2019; Cernay et al., 2015). Det er et mål både i Norge og Europa om å øke selvforsyningen av planteprotein, både til fôr og konsum, og økt dyrking av kjernebelgvekster er nødvendig for å oppnå dette (Abrahamsen et al., 2019; Cernay et al., 2015; Peltonen-Sainio et al., 2013).

I tillegg til å være en viktig proteinkilde, har inkludering av kjernebelgvekster i vekstskifte med ensidig korndyrking vist å ha en positiv forgrødeeffekt. Forskning i Europa har funnet at belgvekster i vekstskifte kan øke kornavlingen med opptil 40% året etter (Preissel et al., 2015), mens opptil 14% avlingsøkning er funnet i norske forsøk (Abrahamsen et al., 2016; Abrahamsen, 2018). Den positive forgrødeeffekten skyldes at belgvekster i vekstskifte bidrar til å øke innholdet av organisk materiale i jorda, forbedrer jordfysiske forhold og reduserer press fra sykdom og skadedyr forbundet med ensidig korndyrking (Jensen et al., 2010; Kirkegaard et al., 2008). Kjernebelgvekster har også biologisk nitrogenfiksering og trenger derfor ikke å få tilført nitrogen gjennom mineralgjødsel, samtidig som de bidrar til nitrogenforsyningen av neste års avling (Peoples et al., 2009). I dagens landbruk brukes det store mengder nitrogenholdig mineralgjødsel, som blant annet har ført til miljøproblemer som forurensing av vann og utslipp av N₂O gass (Jensen & Hauggaard-Nielsen, 2003). Dyrking av

belgvekster kan derfor også bidra til å redusere bruken av N mineralgjødning, og dermed redusere de negative effektene forbundet med bruk av nitrogengjødsel (Köpke & Nemecek, 2010).

Selv om det er mange fordeler har dyrking av kjernebelgvekster vært lav både i Europa generelt og i Norge (Stabbetorp, 2020; Zander et al., 2016). Årsaker til dette er blant annet manglende avlingsstabilitet, utfordringer med skadedyr og sykdom, og mangel på agronomisk kunnskap om dyrking av slike vekster (Cernay et al., 2015; Mahmood et al., 2018; Stabbetorp, 2020).

I Norge er det økende interesse for dyrking av åkerbønne, og areal brukt til dyrking av denne veksten har økt de siste årene (Abrahamsen et al., 2019; Stabbetorp, 2020). En av hovedutfordringene med dyrking av åkerbønne i Norge er deres krav til lang vekstsesong, og dyrking begrenser seg derfor hovedsakelig til områdene rundt Oslofjorden (tidligere Østfold, Vestfold og Akershus fylke), med mulighet for å dyrke så langt nord som områdene rundt Mjøsa (Abrahamsen et al., 2019; Stabbetorp, 2020). På grunn av den begrensede vekstsesongen i Norge er vi avhengige av sorter som modnes tidlig. Det er for øyeblikket ingen sortsforedling på åkerbønne i Norge, og sorter importeres derfor fra land i Skandinavia og Europa. Utviklingen og vekstrytmen til disse plantene er derfor ikke optimalt tilpasset norske forhold. For å oppnå høye og stabile avlinger må vi ha sorter tilpasset dyrkingsforholdene i Norge, og i tillegg er det nødvendig med god etablering av plantebestanden tidlig i vekstsesongen. For å oppnå dette er kunnskap om plantenes utvikling, nodulering og biologiske nitrogenfiksering under norske forhold nødvendig. Det er gjort få undersøkelser av åkerbønnes tidlige planteutvikling og dannelse av noder under norske forhold, og det er også begrenset kunnskap om hvor mye nitrogen som fikseres gjennom biologisk nitrogenfiksering. Økt kunnskap på disse områdene er derfor nødvendig for at sortsmateriale og dyrkingsteknikken skal kunne optimaliseres.

2. Formål

Formålet med denne masteroppgaven er å beskrive tidlig plante- og nodulutvikling hos åkerbønne, måle biologisk nitrogenfiksering, og undersøke om dyrkingstiltak som startgjødsling og/eller smitting med *Rhizobium* bakterier vil påvirke dette.

Oppgaven skal:

- Beskrive tidlig planteutvikling hos åkerbønne og studere varmesumkrav for å nå ulike utviklingsstadier
- Studere utviklingen av noder tidlig i vekstsesongen og koble dette mot planteutvikling
- Utføre målinger av biologisk nitrogenfiksering
- Undersøke om NPK fullgjødsel som startgjødsel påvirker planteutvikling, dannelsen av noder, biologisk nitrogenfiksering og avling
- Undersøke om smitting av såfrøet med *Rhizobium* ved såing påvirker planteutvikling, dannelsen av noder, biologisk nitrogenfiksering og avling

3. Litteraturgjennomgang

3.1 Planteutvikling hos åkerbønne

3.1.1 Spiring

Spiring er fasen fra frøet tar opp vann til en spire er etablert, og kan deles inn i tre faser etter frøets vannopptak (Taiz et al., 2015). I den første fasen tar det tørre frøet opp vann og sveller, og vannopptaket drives av forskjellen i vannpotensial mellom frøet og jorda (Taiz et al., 2015). Vannet entrer frøet hovedsakelig gjennom frøfestet (*hilum*), men kan også entre gjennom frøskallet eller mikropylen (Kigel et al., 2015; Opsahl, 1981). I den andre fasen reduseres vannopptaket, metabolske prosesser som er involvert i spiringen av frøet settes i gang og primærrota vil bryte gjennom frøskallet (Taiz et al., 2015). I den tredje fasen gjenopptas vannopptaket, opplagsnæringen i frøbladene mobiliseres, og en spire vil komme til syne (Taiz et al., 2015). Spiringen hos åkerbønne er hypogeisk, noe som betyr at frøbladene blir igjen under jordoverflaten mens epikotylen strekker seg og bringer spiren til overflaten, og hypokotylen forblir kort (Evert & Eichorn, 2013). Dette skiller seg fra spiring hos for eksempel bygg og hvete, hvor hypokotylen strekker seg og bringer frøbladene over bakken, mens epikotylen forblir kort (Evert & Eichorn, 2013).

3.1.2 Vegetativ vekst

Åkerbønne vokser opprett uten hjelp av klatretråder, og stengelen er firkantet, hul og stiv (Singh et al., 2013). Planta kan bli opptil 2 m høy, men blir typisk rundt 0,5 - 1,3 m høy ute i felt (Bodner et al., 2018; Karkanis et al., 2018; Olle et al., 2019). Noen åkerbønnetyper kan danne sidegreiner, men antall og om den gjør det er avhenger av sort og sortsmateriale (Duc et al., 2015). Planter med finsk eller dansk oppgav danner vanligvis ingen sidegreiner (Alharbi & Adhikari, 2020). Bladene sitter spredtstilt oppover stengelen, og er sammensatt av 2-6 småblader som hver kan bli opptil 8 cm store (Singh et al., 2013). De nederste bladene er sammensatt av færrest småblader, og antall småblader som sitter sammen øker med bladenes posisjon oppover på stengelen (Duc, 1997). Lengden på perioden med vegetativ vekst før blomstring styres av værforholdene, og vil være lengst under lavere moderate temperaturer med god vanntilgang (Iannucci et al., 2008; Lizarazo et al., 2015; Lizarazo et al., 2017). Åkerbønne har udeterminert vekst, som vil si at planta fortsetter den vegetative veksten etter at den har begynt å danne blomster (Duc, 1997; Karkanis et al., 2018).

Åkerbønner har pålerot som hovedrot, og det dannes siderøtter ut fra denne (Duc, 1997). Hvor stor hovedrot og siderøtter blir, og formen på rotsystemet varierer mellom ulike sorter (Zhao et al., 2018). På både hovedrot og siderøtter kan det dannes noder som respons på signaler fra *Rhizobium* bakterier i jorda (Agrios, 2005). Det dannes flest noder på øvre del av rota, og antallet er avtagende ved økende lengde nedover i jorda (Remmler et al., 2014). Prosessen som fører til dannelse av noder involverer utskillelse av flavonoider fra plantas røtter, som i bakterien aktiverer en rekke gener (*nod* gener) som blant annet gir dannelsen faktorer (*nod* faktorer) involvert i infeksjonen av planta (Crespi & Gálvez, 2000; Dupont et al., 2012). *Nod* faktorene bidrar blant annet til krølling av rothår, celledeling i cortex-celler, dannelse av infeksjonstråd, og er så spesifikke for en bakterietype at de kun gir respons i riktig plantetype (Crespi & Gálvez, 2000). Når bakterien kommer i kontakt med rota vil rothårene krølle seg slik at bakterien fanges (Agrios, 2005). Det dannes så infeksjonstråder som brukes av bakterien til å sende bakterieceller inn i rotcellene, cortex-celler i rota vil dele seg raskt og bakteriene vil tilslutt være omsluttet av nodulvev (Agrios, 2005). Det finnes to hovedtyper noder, determinerte og ikke determinerte, hvor forskjellen er at ikke determinerte noder ikke vokser videre etter at de er ferdig dannet, mens determinerte noder kan å vokse i størrelse utover i sesongen (Crespi & Gálvez, 2000). Åkerbønne har noder av ikke determinert type (Raza et al., 2020).

3.1.3 Blomstring

Blomstene til åkerbønne er 2-3 cm lange, og har den karakteristiske formen med fane, kjøl og vinger som finnes i erteblomstfamilien (Duc, 1997). Blomstene kan være hvite eller lilla, med eller uten brune flekker, og sitter ofte sammen i grupper på opptil 5 stykker i et nodium (Duc et al., 2015; Singh et al., 2013). Planta mister eller aborterer mange av blomstene i løpet av blomstringsperioden, noe som det ifølge Patrick og Stoddard (2010) er flere årsaker til. Den ene årsaken kan være at blomstene ikke har blitt pollinert. En annen årsak kan være at planta produserer flere blomster enn det den kan utvikle til belger, og en tredje årsaken kan være dårlige vekstforholdene som eksempelvis høye temperaturer og tørke. Vanligvis utvikles kun 1-3 blomster fra hvert nodium til belger (Bodner et al., 2018; Olle et al., 2019). Et viktig krav til blomstring er døgngader. Dette kravet varierer mellom ulike sorter (Lizarazo et al., 2017) og er funnet å være ulikt mellom ulike dyrkingsområder. Et krav til rundt 650 døgngader er funnet ved dyrking i Nord-Europa (Bodner et al., 2018), mens kravet til sammenligning er funnet et å være over 800 døgngader i Italia (2°C basetemp) (Iannucci et al., 2008) og 800-

1000 døgngrader i Australia (McDonald et al., 1994). Et annet viktig krav til blomstring er daglengde. Noen åkerbønnesorter kan være dagnøytrale, mens andre sorter har et langdagskrav med kritisk daglengde på opptil 12 timer (Iannucci et al., 2008; Patrick & Stoddard, 2010). Det står ikke spesifikt beskrevet i tilgjengelig litteratur hvilket krav europeiske sorter har. Det er funnet sammenheng mellom respons på daglengde og krav til døgngrader for å nå blomstring. Catt og Paull (2017) observerte i et forsøk at døgngraderkravet til blomstring ble redusert hos noen sorter når daglengden økte, men at dette ikke var gjeldene for alle sorter. I tillegg til døgngrader og daglengde vil vann- og lystilgang påvirke blomstringen (Iannucci et al., 2008; Lizarazo et al., 2017). I et finsk forsøk ble det vist at høy temperatur og tørke i perioden før blomstring ga tidligere blomstring sammenlignet med kjøligere temperatur og god vanntilgang (Lizarazo et al., 2017). Siden lengden på perioden med vegetativ veksten før blomstring i sterk grad påvirkes av vekstforholdene, vil det variere i hvilket nodium de første blomstene dannes. Høy temperatur og vannmangel vil gi kortere periode med vegetativ vekst og første blomst dannes derfor ved et tidlig nodium, mens god vanntilgang og moderat temperatur vil gi lengre periode med vegetativvekst og blomsterdannelse på et høyere nodium (Lizarazo et al., 2015; Lizarazo et al., 2017). Optimal temperatur for blomstring er mellom 20 og 25°C (Patrick & Stoddard, 2010). Åkerbønne er hovedsakelig en selvpollinerende vekst, men noe krysspollinering ved hjelp av insekter forekommer (Chen, 2009; Suso et al., 1996).

3.1.4 Frøutvikling

Hos åkerbønne kalles frukten belg, og 2-4 frø utvikles i hver belg (Alharbi & Adhikari, 2020; Bodner et al., 2018; Lizarazo et al., 2017). Belgene er dannet av en fruktknute bestående av ett sammenvokst fruktblad, og frøene er festet via frøstrengen til frøstolen i belgen (Opsahl, 1981). Åkerbønne har som andre angiospermer dobbel befruktning, hvor befruktning av eggcelle og sentralkjernen i frøemnet blir til henholdsvis embryo og endospermen (Evert & Eichorn, 2013). Integumentet som omgir frøemnekjernen blir til frøskallet (Evert & Eichorn, 2013). Frøutvikling kan deles inn i pre-lagrings- og lagringsfase (Patrick & Stoddard, 2010). Tidlig i pre-lagringsfasen vil det i endospermen og frøskallet skje en rask celledeling som etter kort tid går over til cellevekst, mens embryo hovedsakelig vil vokse ved celledeling (Borisjuk et al., 1995). I overgangen til lagringsfasen vil frøbladene gjennomgå celledeling og cellevekst, samt at det er noe syntese av protein og stivelse (Borisjuk et al., 1995). I lagringsfasen akkumuleres det lagringsprodukter, hovedsakelig bestående av proteiner og

stivelse, i frøbladene (Gallardo et al., 2003). Hvor mye som kan akkumuleres bestemmes av hvor mye plass det er til frøbladene inne i frøet, og er bestemt av utviklingen i pre-lagringsfasen, mens hvor mye som faktisk akkumuleres avhenger av forholdene under frøfylling (Patrick & Stoddard, 2010). Frøvekten varierer fra 0,2 til 2 < g per frø, og sorter deles inn i følgende grupper etter frøstørrelse: store frø (*V. faba major*), middels store frø (*V. faba equina*) og små frø (*V. faba minor*) (Crépon et al., 2010; Duc, 1997).

3.2 Biologisk nitrogenfiksering

Biologisk nitrogenfiksering utføres hos åkerbønne gjennom symbiose med bakterier av typen *Rhizobium leguminosarium viceae* (Mutch & Young, 2004). Under biologisk nitrogenfiksering omdannes nitrogen (N_2) fra luften til ammoniakk (NH_3) og hydrogen (H_2) av enzymet nitrogenase som *Rhizobium* bakterien produserer (Dupont et al., 2012).

Nitrogenfiksering er en energikrevende prosess, og for at bakterien skal ha nok energi til å drive fikseringen mottar den karbon fra planta som den bruker til å danne energi i form av ATP (Dupont et al., 2012). Siden det er planta som bidrar med næring til bakterien, er det planta som bestemmer hvor mye N som skal fikseres. Data samlet i en artikkel av Jensen et al. (2010) viser at åkerbønne dyrket i Europa fikserer fra 60% til 92% av nitrogenet fra luften, med et gjennomsnitt på 74%. I samme artikkel ble det også funnet at åkerbønne fikserer fra 7 til 21 kg N/daa, med et gjennomsnitt på 15 kg N/daa. Hvor mye som fikseres avhenger av hvor mye planta trenger, og vil derfor påvirkes av faktorer som påvirker plantas vekst (Drevon et al., 2015). Slike faktorer kan være vannmangel, for høy eller lav pH og temperatur (Drevon et al., 2015). I tillegg avtar nitrogenfikseringen med økende tilgjengelighet av nitrogen i jorda, fordi det er mindre energikrevende for planta å ta opp nitrogen gjennom røttene enn å drive biologisk nitrogenfiksering (Drevon et al., 2015; Hardarson et al., 1991). Nitrogenfiksering er funnet å være høyest rundt blomstring, og avtagende mot belgfylling (Jensen et al., 2010).

Det finnes flere metoder for å måle biologisk nitrogenfiksering. De mest brukte metodene baserer seg på at det er forskjell i isotop sammensetningen til nitrogen i jorda og nitrogen (N_2) i luften, eller på forskjellen i N konsentrasjonen mellom nitrogenfikserende planter og ikke fikserende planter (Unkovich et al., 2008; van Kessel & Hartley, 2000).

3.3 Startgjødsling og inokulering

God etablering av plantene tidlig i vekstsesongen er viktig for å sikre høye avlinger. Et tiltak for å sikre god etablering tidlig i vekstsesongen kan være å tilføre en liten gjødselmengde, kalt startgjødsel, ved såing (Jensen et al., 2010). Planter som vokser i kald og våt jord kan oppleve næringsmangel selv om næringstilgangen i jorda er god, ettersom rotvekst og mobiliteten til ulike næringsstoffene reduseres under slike forhold (Beegle et al., 1997). Nitrogen er et næringsstoff åkerbønne får tak i gjennom nitrogenfikseringen, men i perioden før nitrogenfikseringen kommer i gang er planten avhengig av å ta opp nitrogen fra jorda. I denne perioden kan plantene oppleve mangel på nitrogen, som kan resultere i dårlig planteetablering og dermed lavere avlinger til høsten (Jensen et al., 2010; van Kessel & Hartley, 2000). Ved å tilføre en liten gjødselmengde med nitrogen ved såing kan denne næringsmangelen unngås, og dermed bidra til å sikre god etablering av plantene (van Kessel & Hartley, 2000). I tillegg til nitrogen, er fosfor, svovel og kalsium næringsstoffer som er helt nødvendige for plantenes vekst. Disse næringsstoffene må planta ta opp fra jorda, og tilførsel av små gjødselmengder med disse næringsstoffene er vist å påvirke plantas vekst og noduldannelse positivt (Divito & Sadras, 2014).

Å smitte såfrø med kompatible *Rhizobium* bakterier ved såing skal gi raskere og økt noduldannelse, og dermed høyere nitrogenfiksering, bedre plantevekst og økt avling (Jensen et al., 2010; Köpke & Nemecek, 2010). Det er gjort lite forsøk med smitte i Europa, men det er vist gjennom forsøk i andre verdensdeler at inokulering gir økt noduldannelse, nitrogenfiksering og avling (Allito et al., 2020; Denton et al., 2013; Denton et al., 2017). Responsen på inokulering er derimot størst hvor det er lite riktig type *Rhizobium* fra før, eller hvor de naturlige bakteriene er ineffektive, og effekten avtar med økende innhold av *Rhizobium* bakterier i jorda (Denton et al., 2013; Denton et al., 2017). Hos åkerbønne er det samme type *Rhizobium* bakterier som danner symbiose som med erter (*Pisum sativum* L.) og kløver (*Trifolium* spp.), og er en vanlig bakterie å finne i norsk jord (Serikstad et al., 2013). Smitting av frø før såing er derfor ikke vanlig i Norge (Serikstad et al., 2013). Det finnes ulike metoder å inokulere frøene på. Den vanligste metoden er å inokulere frøene før såing med torvbasert *Rhizobium* produkt, men det er også mulig å tilføre flytende eller faste produkter direkte i jorda før såing, en metode som er mindre arbeidskrevende enn inokulering før såing (Deaker et al., 2004).

4. Materialer og metoder

4.1 Plantemateriale

Til denne oppgaven ble plantemateriale av sorten Vertigo brukt. Vertigo er en tysk sort med relativt store frø, og regnes i Norge som en sein sort (Abrahamsen et al., 2018). Plantene ble dyrket i et feltforsøk på Vollebekk forsøksgård i Ås vekstsesongen 2020, som en del av en større forsøksserie i NFR prosjektet FoodProFuture, for å undersøke effekten av smitte med *Rhizobium* i kombinasjon med ulike behandlinger med startgjødsling. Såfrøet til halvparten av rutene ble derfor smittet med det torvbaserte *Rhizobium* produktet Legumefix (Legume Technology, UK) før såing. Forsøksfeltet ble sådd 23. april, ved 5-7 cm sådybde i 1,65x8 m (13,2m²) ruter. Total feltstørrelse inkludert kantruter var 24,75x48m (1188 m²). Feltet var dekket med duk frem til 20.mai, og ble vannet 3.juni og 18.juni. Omtrent 25 mm vann ble tilført ved hver vanning. Alle observasjoner og målinger i felt ble utført en gang i uka i perioden 20. mai til 1.juli, ved datoene 20.mai, 27.mai, 3.juni, 10. juni, 17. juni, 22. juni og 1.juli. Innhøsting av forsøksfeltet ble gjort 11.september.

4.2 Forsøksbeskrivelse

Forsøket var lagt opp som randomisert split-plot design med 2 faktorer og 6 gjentak. Av de 6 gjentakene ble gjentak 2 og 4 ble brukt til prøvetaking, mens resterende gjentak forble urørt fram til høsting med skurtresker. Faktorene i forsøket var smitting eller ikke smitting med *Rhizobium* før såing, anlagt på storruter, kombinert med 6 ulike strategier for startgjødsling, anlagt på småruter. Til denne masteroppgaven ble det valgt fire behandlinger, hvor det jevnlig ble registrert overjordisk planteutvikling og utvikling av noder på planterøttene fra spiring til begynnende belgdannelse. Behandlingene valgt til disse registreringene var A1: usmittet og ugjødslet, A2: usmittet og med startgjødsling 23,1 kg/daa Fullgjødsel 22-3-10, B1: smittet og uten startgjødsling og B2: smittet og med startgjødsling 23,1 kg/daa Fullgjødsel 22-3-10 (Tabell 1).

Tabell 1. Ruter og behandlinger brukt i denne oppgaven.

Gjentak nr.	2				4			
	Rute nr.	205	206	211	213	405	406	411
Behandling kode	A2	A1	B1	B2	B2	B1	A1	A2
Smitte med <i>Rhizobium</i>	Nei	Nei	Ja	Ja	Ja	Ja	Nei	Nei
Startgjødsel 23,1 kg/daa Fullgjødsel 22-3-10	Ja	Nei	Nei	Ja	Ja	Nei	Nei	Ja

4.3 Registrering av nodulutvikling

Til å registrere dato hvor første noduler ble dannet, ble det gravd jevnlig i kantrutene etter oppspiring. Etter at første noduler ble oppdaget, ble det gjort registreringen omtrent en gang i uka. Registrering ble gjort på fem tilfeldig utvalgte representative planter fra hver av de utvalgte rutene (Tabell 1) de første fire registreringsdatoene, og på ti planter de siste to datoene. Til sammen 10 observasjoner for hver behandling 20.mai, 27.mai, 3.juni og 17. juni, og 20 observasjoner for hver behandling 22.juni og 1.juli. Planter ble hentet fra samme ruter og gjentak ved hver dato, men ble hver gang tatt fra ulike og urørte områder i forsøksruta. Enkeltpanter ble forsiktig gravd opp med så intakt rotsystem som mulig, og det meste av jorda ble forsiktig vasket av i en bøtte med vann ute på feltet. Plantene ble så tatt med inn for registrering, og om nødvendig ble rotsystemet vasket ytterligere med rennende vann før registrering begynte. Scoring av antall noduler på røttene ble gjort visuelt etter følgende skala: 0= ingen noduler, 1= < 5 stk, 2= 5-10, 3= 11-20, 4= 20<, 5= 50< stk. Scoring ble gjort i to omganger, første på den øverste delen av rota (0-5 cm) og så den nedre delen av rota (5< cm). Scoring ble i enkelte tilfeller utført av to personer. Dersom begge personer scoret samme planter ble det beregnet gjennomsnitt av observasjonene. Dersom plantene ble fordelt mellom to personer, gjorde de scoringer på ett gjentak hver.

4.4 Registrering av planteutvikling

Planteutvikling ble registrert på samme planter brukt til registrering av noder. Det ble i tillegg gjort registreringer 10.juni, men denne gangen ble 20 tilfeldig planter valgt i kantrutene. Utviklingen ble visuelt gjort ved å notere antall utviklede blader, og senere om det var dannet blomster eller belger. Planteutviklingen ble i tillegg til å bli beskrevet, bedømt etter skala for planteutvikling beskrevet av Grains Research & Development Corporation i Australia (GRDC, 2017) (Tabell 2).

Tabell 2. Kort beskrivelse av utviklingsstadier fra frøplante til tidlig belgdanning aktuelle for registreringer gjort i denne oppgaven. Beskrivelse fra GRDC (2017).

	Utviklingsstrinn	Beskrivelse
Vegetativ utviklingsfase	102	2 fullstendig utviklede bladpar
	103	3 fullstendig utviklede bladpar
	104	4 fullstendig utviklede bladpar
	105	5 fullstendig utviklede bladpar
Reproduktiv utviklingsfase	201	Første blomsterknopp(er) synlige og grønne
	203	Blomst(er) er åpnet
	204	Første belg synlig på første nodium
	205	Grønne belger med små umodne frø

4.5 Måling av plantas nitrogen status

For å registrere plantenes nitrogenstatus ute i felt, ble SPAD (Soil plant analysis development) målinger utført ved bruk av et SPAD instrumentet (DUALEX Scientific™, FORCE-A). Instrumentet målte innholdet av klorofyll og flavonoider i planta, og beregnet ut fra forholdet mellom disse to parameterne NBI (nitrogen balanse indeks). NBI gir en indikasjon på plantas nitrogen status. Målinger ble utført ved 17.juni, 22.juni og 1.juli. Ved hver av disse datoene ble det gjort målinger i 3 ulike gjentak. I hvert gjentak ble det for hver behandling gjort målinger i en rute, og i hver rute ble det gjort 1 måling på hver av 10 ulike planter. Til sammen 10 målinger i hver rute, og totalt 30 målinger for hver behandling ved hver måledato. Målingene ble gjort på det tredje fullt utviklede bladet sett ovenfra, på planter med samme størrelse.

4.6 ¹⁵N isotopanalyse og beregning av biologisk nitrogenfiksering

For å beregne biologisk nitrogenfiksering (BNF) ble ¹⁵N natural abundance metoden brukt. Metoden baserer seg på at det naturlige innholdet av ¹⁵N isotop i atmosfærisk nitrogen (N₂) er lavere enn i nitrogenet i jorda, og at planter som fikserer N fra lufta derfor vil ha et lavere innhold av ¹⁵N enn planter som tar opp nitrogen fra jorda (Unkovich et al., 2008). BNF kan dermed beregnes etter forskjellen i ¹⁵N innhold mellom belgvekst (her åkerbønne) og en referanseplante som ikke fikserer nitrogen (her meldestokk). For å bestemme innholdet av ¹⁵N ble ¹⁵N isotopanalyse gjennomført på biomasseprøver av åkerbønne og meldestokk. Til hver biomasseprøve av åkerbønne ble det høstet inn overjordisk biomasse av 10 åkerbønneplanter. Meldestokkplantene vokste i samme ruter som åkerbønnene, og biomasseprøvene besto av en passende mengde plantemateriale. Den verste jorda ble vasket av biomasseprøvene før de ble tørket ved 50°C i 6 dager. Prøvene ble malt på en Cyclotec mølle med finhetsgrad <0,1 cm, og lagret på glass med skruløkk. Hver prøve ble godt blandet både underveis i og etter oppmaling, og igjen før analyseprøven ble tatt ut. Størrelsen på analyseprøvene ble bestemt etter retningslinjer fra UC Davis Stable Isotope Facility og etter antatt nitrogeninnhold i prøvene, og ble bestemt til å være 3-3,75 mg av åkerbønneprøvene og ca. 4 mg av referanseprøvene. ¹⁵N isotopanalysen ble gjennomført av Stable Isotope Facility ved UC-Davis, USA, og pakking og organisering av prøvene fulgte deres retningslinjer (<https://stableisotopefacility.ucdavis.edu/samplesubmission.html>).

Resultatene fra ¹⁵N analysen viste innholdet av ¹⁵N (‰) og total mengde N (µg) i hver prøve. Til å beregne andelen nitrogen fiksert fra luft (%Ndfa) ble likning 1 brukt, hvor δ¹⁵N er innholdet av ¹⁵N (‰) i prøven og B er en verdi som beskriver mengden ¹⁵N i åkerbønne dyrket i et medium hvor eneste nitrogenkilde er det planta fikserer fra lufta. B verdi brukt her er -0.5 etter anbefaling av Unkovich et al. (2008).

$$1. \quad \%Ndfa = \frac{\delta^{15}N \text{ referanseplante} - \delta^{15}N \text{ åkerbønneprøve}}{\delta^{15}N \text{ referanseplante} - B} \times 100$$

Til å beregne kg N/daa ble likning 2 (Eurolegume, u.å.) brukt, hvor TB er tørrvekt plantebiomasse i kg/daa, NL er %N i den tørre plantebiomassen og %Ndfa er beregnet i likning 1.

$$2. \quad BNF = \frac{TB \times NL \times \%Ndfa}{10000}$$

4.7 Avling, tusenkornvekt og proteinanalyse

Gjentakene som ikke ble brukt til ukentlig prøvetaking ble høstet med forsøksskurtresker 11. september. Etter høsting ble alle prøvene tørket ned, og avling ble omregnet til kg/daa ved 15% vanninnhold. Avling for hver behandling er beregnet som gjennomsnitt av fire ruter fra fire ulike gjentak. Det ble også beregnet tusenkornvekt, og proteininnholdet ble analysert ved NIT (Near infrared transmission) på et InfratecTM NOVA instrument (FOSS, Danmark).

4.8 Værdata og varmesum

Værdata i form av lufttemperatur og nedbør ble hentet fra Landbruksmeteorologisk tjeneste fra NIBIO (<https://lmt.nibio.no/>), målestasjonen i Ås. Data for jordtemperatur ble registrert av en temperaturlogger nedgravd ved sådybde (5-7cm) i feltforsøket på Vollebekk. Varmesum ble beregnet ved å summere daglige gjennomsnittstemperaturer fra såtidspunkt til hver dato for prøvetaking. 0°C er brukt som basetemperatur.

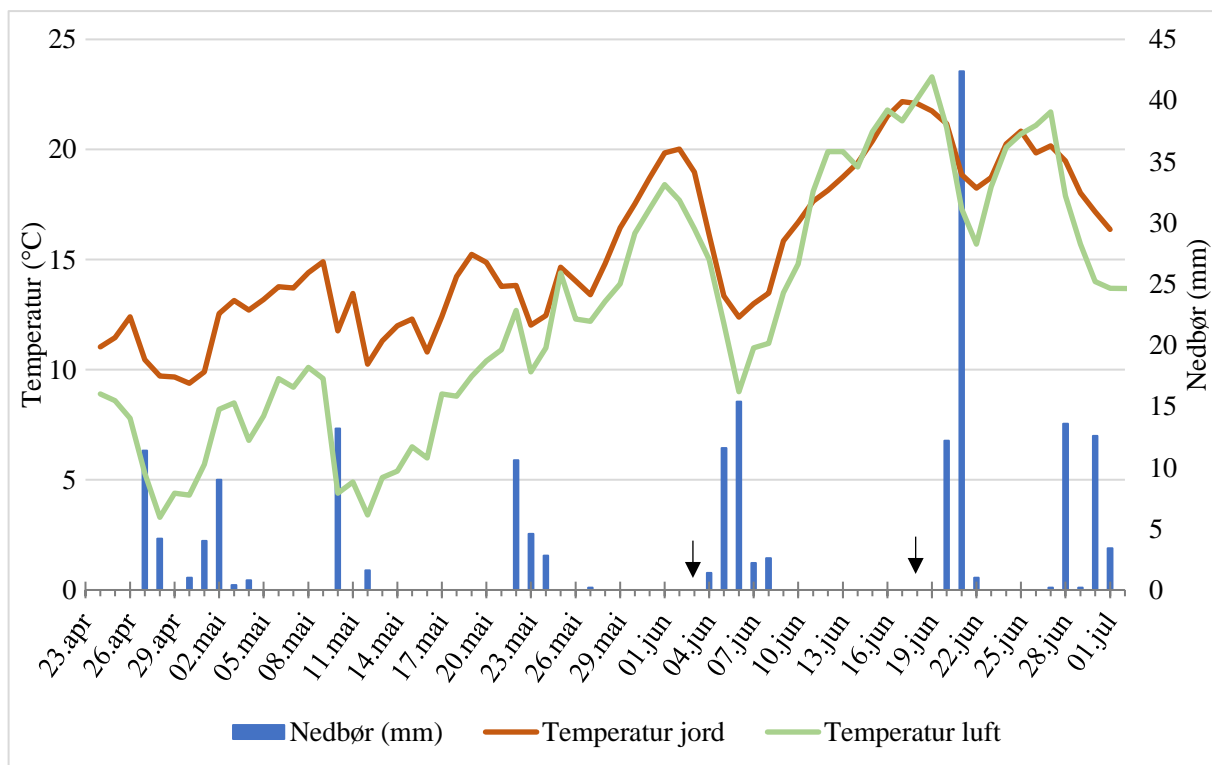
4.9 Statistisk analyse

Det ble gjort variasjonsanalyse (ANOVA) ved bruk av Rstudio (versjon Desktop 1.3 1056). Gjennomsnitt ble beregnet for alle observasjoner av enkeltplante for hver behandling, og disse gjennomsnittstallene ble brukt i de statistiske analysene. Det ble testet om behandling hadde effekt ved hver dato, og om behandling, dato eller interaksjonen dato-behandling hadde effekt. Når det ble funnet signifikante effekter ble Tukey- test utført. Tilfeldig variabel var gjentak, og faste variabler behandling og dato. Signifikansnivå ble satt til 5% nivå ($p < 0,05$).

5. Resultater

5.1 Temperatur og nedbør

Daglig middeltemperatur fra såing (23.april) og ut mai varierte mellom 3 og 15°C i lufta, og mellom 10 og 15°C i jorda. Minimum temperatur i lufta var i samme periode under 0°C flere netter, og feltet var derfor dekket med akrylduk til 20.mai. Fra 1.juni til 1. juli varierte døgnmiddeltemperatur i lufta mellom 9 og 24°C, og mellom 12 og 22°C i jorda. Det kom fra 23.april til 1. juni 63,8 mm nedbør og 188,8 mm nedbør fra 1.juni til 1.juli, totalt 182,6 mm nedbør fra 23.april til 1.juli. Nedbøren fordelte seg ulikt i dette tidsrommet, noe som førte til tørke i periodene 26.mai- 5 juni og 9- 20. juni. Feltet ble derfor vannet 3.juni og 18. juni. Total vannmengde i hele registreringsperioden når vanning er inkludert var 232,6 mm (Figur 1).



Figur 1. Nedbør, middel døgntemperatur i luft og jord i perioden 23. april (såing) til 1.juli (siste dato for registrering). Piler indikerer dato hvor feltet ble vannet.

5.2 Planteutvikling

Planteutvikling ble registrert på 10 eller 20 planter i hver forsøksrute. Det ble registrert at planter ved samme behandling utviklet seg ujevnt, og var kommet til ulike utviklingsstadium ved noen registreringsdatoer. I starten av vekstsesongen var forskjellene i utviklingsstadium mellom plantene minst (20.mai ingen forskjell, 27.mai liten forskjell), og størst variasjon ble funnet 22 juni hvor tre ulike utviklingsstadier for hver behandling ble observert (Tabell 3). Plantene hadde i gjennomsnitt utviklet 2 bladpar 20.mai, 3 bladpar 27.mai, og 4-5 bladpar 3.juni. Døgngrader pr utviklede bladpar var 81,6 og 54,5 ved henholdsvis 27.mai og 3.juni. 10.juni var blomsterknopper dannet hos de fleste planter og 17. juni hadde plantene blomsterknopper eller åpne blomster (Tabell 3 og Figur 2). Dato for begynnende blomstring ble registrert på rutebasis, og var 17.juni for alle behandlinger. I hvilket nodium første knopp eller blomst ble funnet varierte fra nodium 5-10 hos plantene. Ved registrering 22. juni hadde plantene blomsterknopper, åpne blomster eller dannet første belg. Ved registrering 1.juli hadde plantene begynt med belgdannelse eller hadde belger med små umodne frø (Tabell 3). Det ble observert ingen eller små forskjeller mellom plantene under de ulike behandlingene, og disse forskjellene var ikke signifikante ved noen av datoene (Tabell A1).

Tabell 3. Planteutvikling angitt etter GRDC- skala, registrert for de ulike behandlingene i perioden 20.mai til 1.juli. Gjennomsnittlig utviklingsstadium uavhengig av behandling er også vist.

	20.mai	27.mai	3.juni	17.juni	22.juni	1.juli
A1	102	103	104/105	201/203	201/203/204	204/205
A2	102	102/103	104/105	201/203	201/203/204	204/205
B1	102	103	105	201/203	201/203/204	205
B2	102	103	105	201/203	201/203/204	204/205
Gjennomsnitt	102	102/103	104/105	201/203	201/203/204	204/205



Figur 2. Planteutvikling i perioden 20.mai til 17.juni. A: 20.mai, B: 27.mai, C: 3.juni, D: 10.juni og E: 17.juni. Plantene hadde 20.mai 2 bladpar, 27.mai 3 bladpar, 3.juni 4-5 bladpar, 10.juni blomsterknopper og 17.juni knopper eller åpnede blomster.

Tabell 4 viser beregninger av varmesum fra såing til de ulike registreringsdatoene for planteutvikling i perioden 20.mai til 1.juli. Resultatene viser store forskjeller i varmesum beregnet etter jordtemperatur og etter lufttemperatur. Ses planteutvikling utfra varmesum i jord, hadde plantene dannet 2 bladpar etter 314, 5 døgngnader, blomsterknopper var dannet 634 døgngnader etter såing, begynnende blomstring var 766 døgngnader etter såing, og belgdannelse var 106 døgngnader etter begynnende blomstring. Ut fra varmesum i lufta var 2 bladpar dannet etter 192,5 døgngnader, blomsterknopper var dannet 460 døgngnader etter såing, begynnende blomstring var 594,4 døgngnader etter såing, og belgdannelse var 105,2 døgngnader etter begynnende blomstring (Tabell 4).

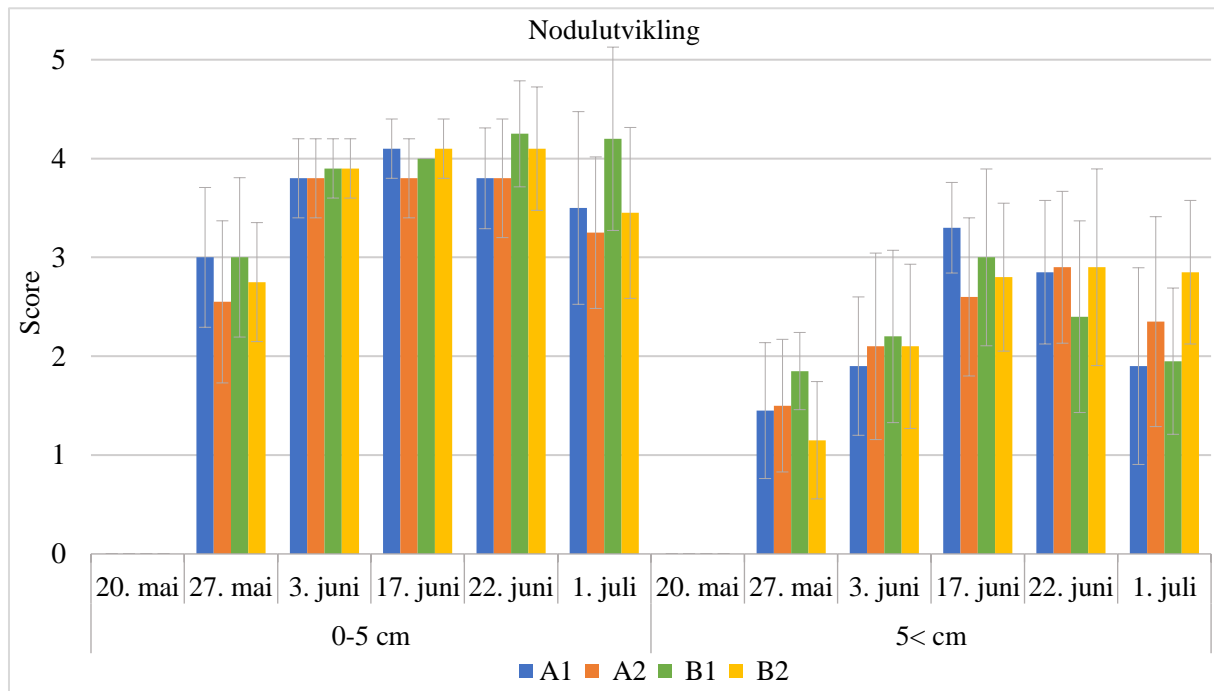
Tabell 4. Varmesum fra såing til hver dato for registrering basert på både jord- og lufttemperatur. Økning i varmesum mellom de ulike registreringsdatoene er også beregnet.

	20.mai	27.mai	3.juni	10.juni	17.juni	22.juni	1.juli
Varmesum fra såing, jord	314,4	410,1	530,9	634,1	766,6	872,6	1045,4
Økning mellom datoer		95,6	120,7	104,8	130,8	106,0	172,7
Varmesum fra såing, luft	181,3	262,9	371,7	459,9	594,4	699,6	864,8
Økning mellom datoer		81,6	108,8	88,2	134,5	105,2	165,2

5.3 Nodulutvikling

Utviklingen av noder ble fulgt fra såing til tidlig belgdannelse. Første noder ble funnet 27.mai, drøyt 1 måned etter såing (Figur 3), tilsvarende 410 døgngader etter såing (Tabell 4). Det ble ved alle observasjonsdatoer og alle behandlinger funnet flere noder på øvre del av rota enn nedre. På øvre del av rota (0-5 cm) økte antallet noder fra 27.mai (5-10 stk) til 3.juni (11-20 stk), for så å holde seg relativt stabilt frem til 1.juli, hvor antallet var noe lavere igjen for alle behandlinger utenom B1. Økningen i antall noder fra 27.mai til 3.juni var signifikant ($p=0,00056$), mens det ikke var signifikant forskjell mellom de andre datoene ($p>0,05$, Tabell A2). Det ble observert små forskjeller mellom de ulike behandlingene ved hver enkelt dato, og forskjellene mellom de ulike behandlingene var ikke signifikant ved noen av datoene ($p > 0,05$, Tabell A1). På nederste del av rota (5<cm) var det økning i antall noder fra 27.mai (1-5 stk) til 3.juni (5-10 stk), og fra 3.juni til 17.juni (11-20 stk). For scoring 17 og 22. juni var antallet nokså likt, og det ble funnet færre noder 1.juli (1-5 stk) enn 22.juni. Økningen i antall noder var signifikant fra 27.mai til 3.juni ($p=0,01$) og fra 3.juni til 17.juni ($p<0,0001$), og det samme var nedgangen fra 22.juni til 1. juli ($p=0,040$). Det ble registrert små forskjeller i antall noder mellom de ulike behandlingene ved de ulike datoene, og det var kun signifikant forskjell mellom behandlinger 1.juli, hvor B2 var signifikant høyere enn A1 og B1 (Tabell A1).

Selv om det ikke ble funnet økning i antall noder etter 3.juni og 17.juni på henholdsvis øvre og nedre del av rota, ble det observert at nodulene økte i størrelse. Figur 4 viser et utvalg av bilder fra de ulike scoringsdatoene, uavhengig av behandling. Nodulene var minst i størrelse 27.mai og størst ved 22.juni og 1.juli, hvor det ikke var tydelig forskjell i størrelsen. Det ble også observert at det 27. mai kun var noen få planter som hadde utviklet noder på siderøttene, og fra 3.juni hadde alle planter noder på siderøttene.



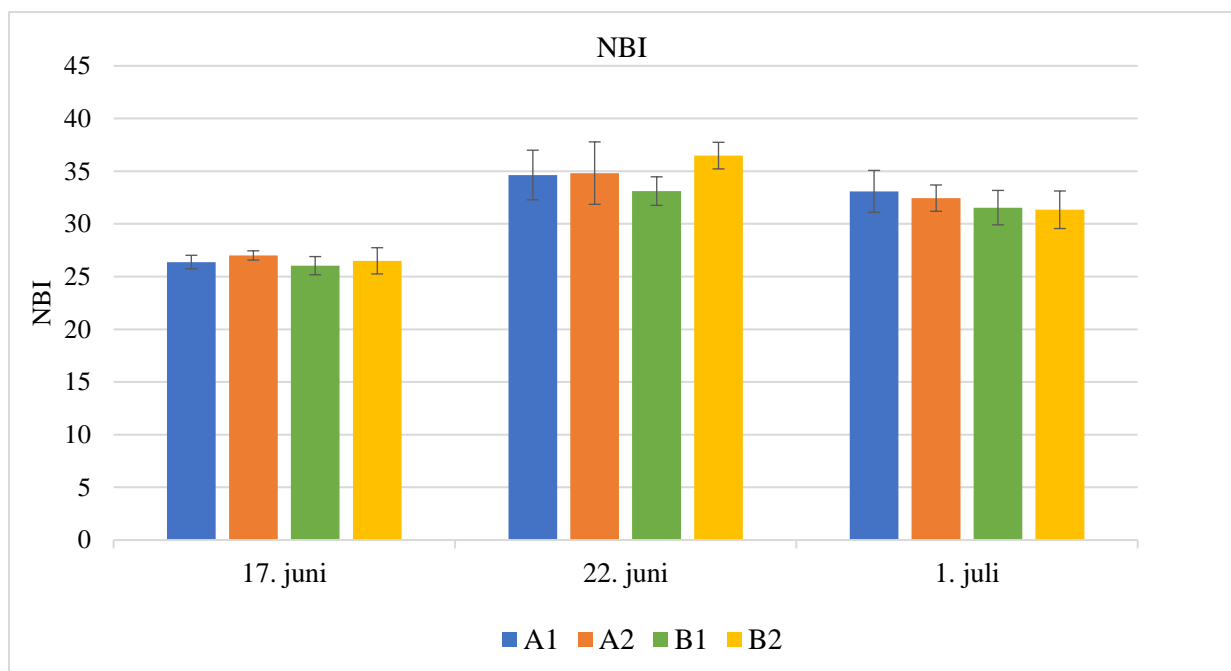
Figur 3. Scoring av noduler ved de ulike registreringsdatoene, på øvre (0-5cm) og nedre (5 < cm) del av rota, for behandlingene A1: usmitta og ugjødsla, A2: usmitta og gjødsla, B1: smitta og ugjødsla og B2: smitta og gjødsla, med standardavvik. Det var kun signifikant forskjell mellom behandlinger ved 5 < cm 1.juli, mellom B2 og A1, og B2 og B1 (Tabell A1). Skala for scoring: 0=ingen noduler, 1= <5 noduler, 2=5-10 noduler, 3=11-20 noduler, 4=20 < noduler, 5=50 < noduler.



Figur 4. Utviklingen av røtter og noduler fra 20.mai til 1.juli. A: 20.mai, B: 27.mai, C: 3.juni, D: 17.juni, E:22.juni og F: 1.juli. 20. mai var det ingen noduler, og nodulene økte i størrelse fra 27.mai og utover. Største noduler ble funnet ved 22.juni og 1.juli.

5.4 NBI målinger

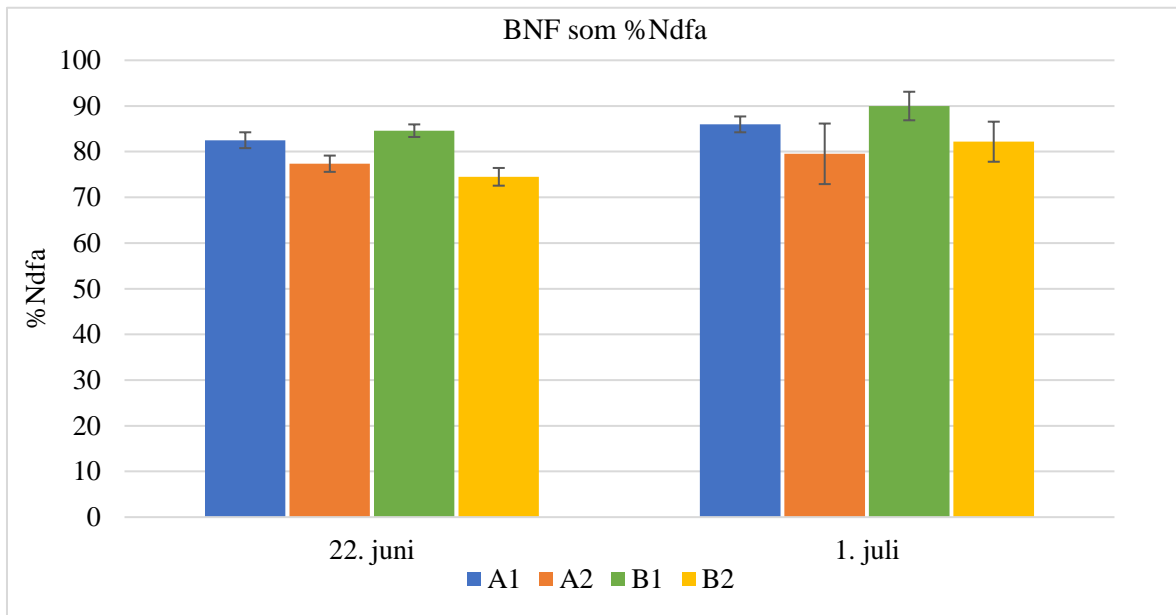
NBI ble målt ved bruk av SPAD måler ved tre av utviklingsstadiene. Figur 5 viser at NBI var lavest 17.juni og økte til 22.juni hvor den var høyest, før den var noe lavere igjen 1.juli. Økningen fra 17 til 22.juni var signifikant ($p < 0,0001$). Det samme var nedgangen fra 22.juni til 1.juli ($p = 0,053$) og forskjellen mellom 17.juni og 1.juli ($p < 0,00001$). Det ble funnet små forskjeller mellom de ulike behandlingene ved hver måledato, og forskjellene var ikke signifikante ved noen av datoene ($p > 0,05$, Tabell A1).



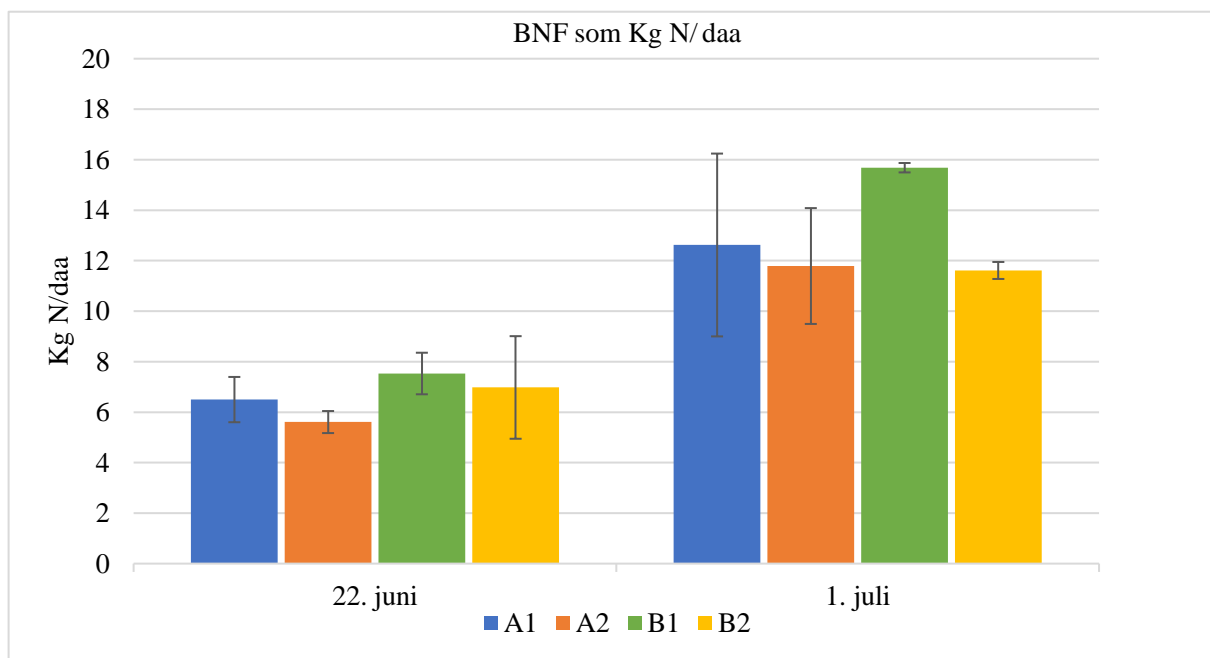
Figur 5. NBI for de ulike behandlingene ved datoene 17.juni, 22.juni og 1.juli, med standardavvik.

5.5 Biologisk nitrogenfiksering

Biologisk nitrogenfiksering ble beregnet både som andelen N fiksert fra luft (%Ndfa) og som kg N/daa. %Ndfa økte fra i gjennomsnitt 79% (74,5-84,5%) ved 22.juni til i gjennomsnitt 84% (79,5-89,9%) 1.juli (Figur 6), og denne økningen var ikke signifikant ($p > 0,05$, Tabell A1). Det var ingen signifikante forskjeller mellom behandlingene ved noen av datoene ($p > 0,05$, Tabell A2), men %Ndfa var høyest for A1 og B1 ved begge datoer (Figur 6). BNF som kg N/daa var også høyere 1.juli (11,6-15,7 kg N/daa) enn 22.juni (5,6-7,6 kg N/daa) (Figur 7), og forskjellen var signifikant ($p = 0,00043$). Det ble ikke funnet signifikant forskjell mellom behandlinger ($p > 0,05$, Tabell A1), men kg N/daa var høyest for B1 ved begge datoer.



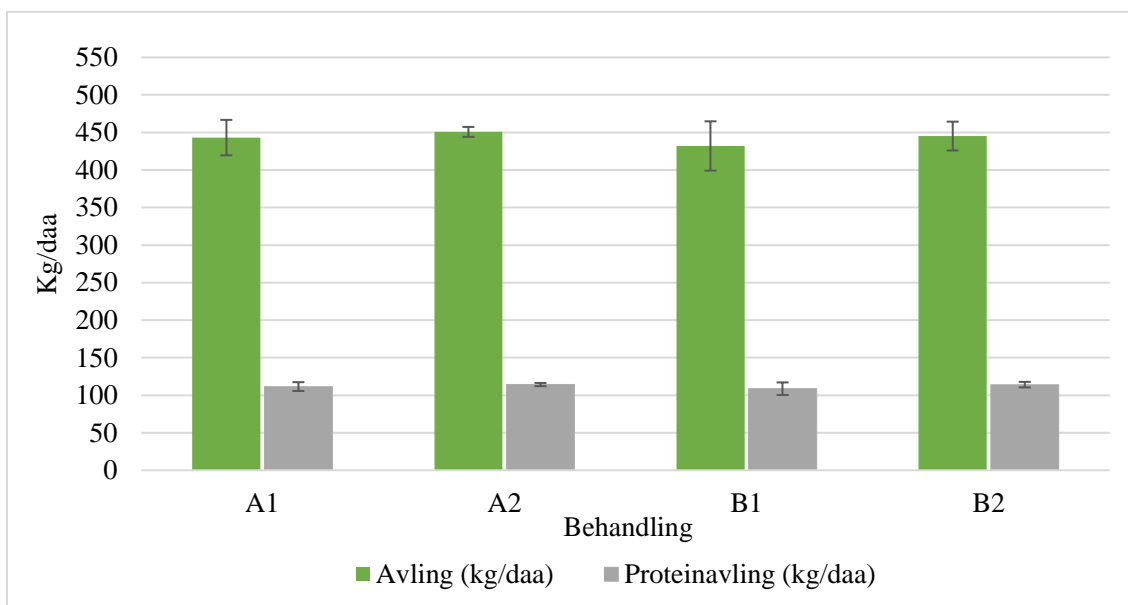
Figur 6. Andelen av nitrogenet i plantene fiksert fra luft (%Ndfa) ved 22.juni og 1.juli for de ulike behandlingene, med standardavvik.



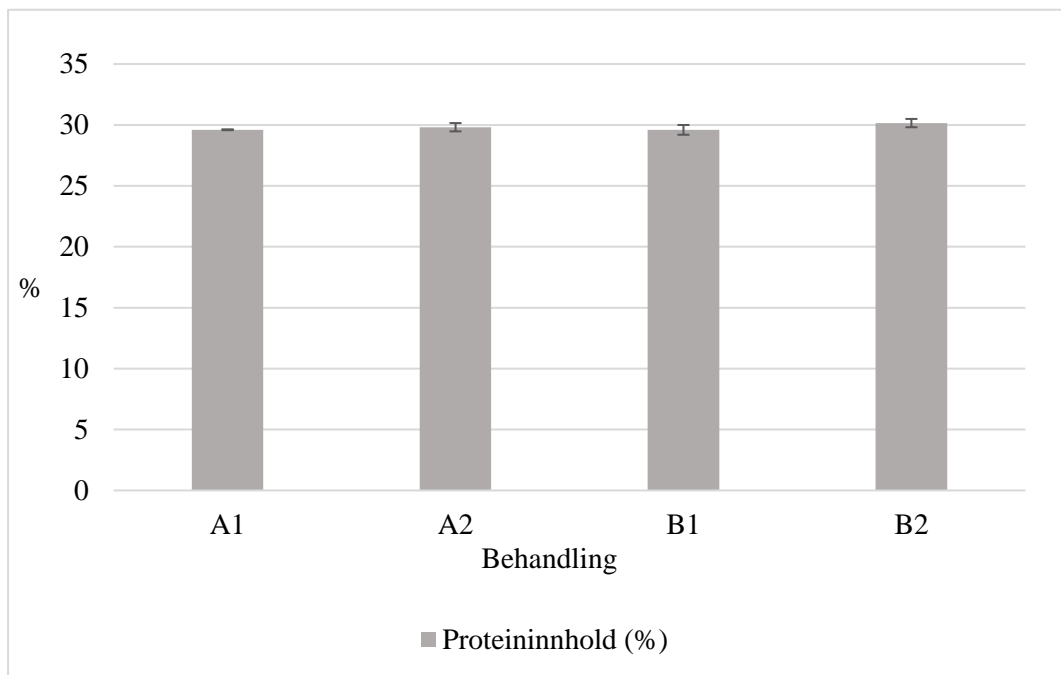
Figur 7. Andelen fiksert nitrogen som kg N/daa for de ulike behandlingene ved 22.juni og 1.juli, med standardavvik.

5.6 Avling, tusenkornvekt og proteininnhold

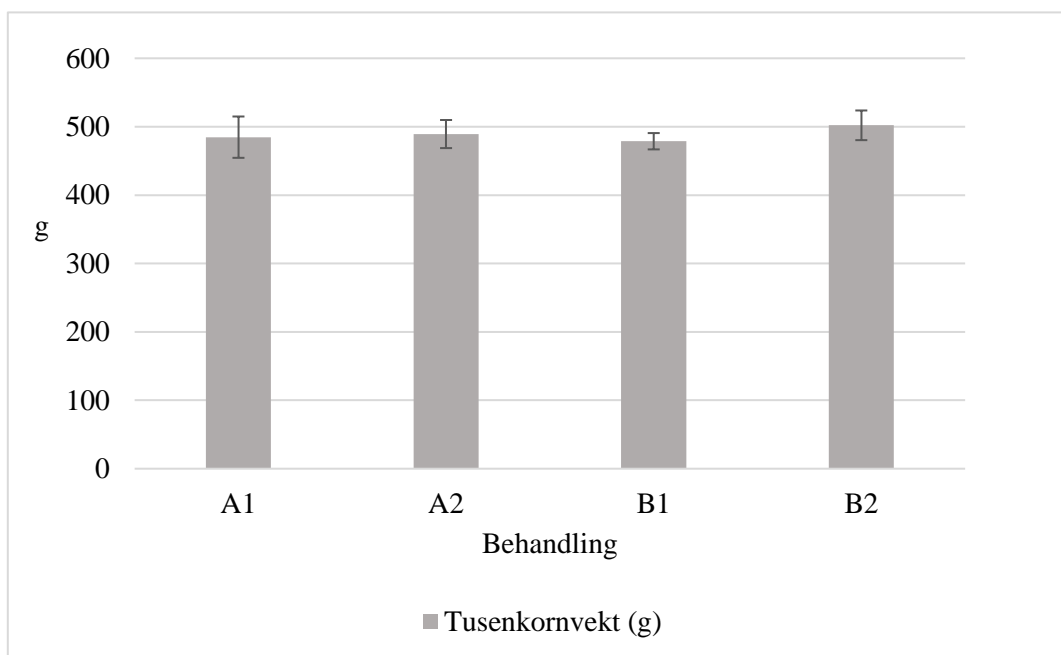
Det ble funnet små forskjeller i avlingen (438-450 kg/daa) og proteinavling (108-115 kg/daa) mellom de ulike behandlingene, men begge var lavest ved behandling B1 og høyest ved A2 (Figur 8). Forskjellene mellom behandlingene var ikke signifikante, hverken for avling eller proteinavling ($p > 0,5$, Tabell A3). Det var også små forskjeller i proteininnhold (29,6-30,15 %) og tusenkornvekt (478,7-502,04 g) mellom behandlingene, men begge var lavest for B1 og høyest for B2 (Figur 9 og 10). Forskjellene mellom behandlingene var ikke signifikante for hverken proteininnhold eller tusenkornvekt ($p > 0,5$, Tabell A3).



Figur 8. Avling og proteinavling i kg/daa for de ulike behandlingene, og deres standardavvik.



Figur 9. Proteininnhold (%) for de ulike behandlingene, med standardavvik.



Figur 10. Tusenkorntvekt (g) for de ulike behandlingene, med standardavvik.

6. Diskusjon

For å fremme dyrkingen av en proteinvekst som åkerbønne i Norge må spesielt sortsmateriale, men også dyrkingsteknikk bedre tilpasses norske forhold. Det er også viktig for dyrkingen at produksjonen gir stabile og høye avlinger, og for å oppnå dette er det nødvendig med jevn og god etablering av plantene om våren, noe som krever god kunnskap om plantenes vekst og utvikling tidlig i vekstsesongen. Skal sorter tilpasses den norske vekstsesongen kreves også god kunnskap om plantenes vekstrytme og modningstid. Det vil i tillegg for vekster med biologisk nitrogenfiksering, slik som åkerbønne, være viktig med kunnskap om faktorer som påvirker nitrogenfikseringen, og hvordan utviklingen av noder og biologisk nitrogenfiksering sammenfaller med plantenes utvikling og behov for nitrogen. Åkerbønne er en relativt ny vekst for Norge, og det er behov for mer kunnskap om plantas vekst og utvikling, nodulering og nitrogenfiksering under norske forhold. Formålet med denne oppgaven var derfor å beskrive tidlig plante- og nodulutvikling, gjøre målinger på BNF og undersøke om dyrkingstiltak som startgjødsel eller smitting med *Rhizobium* ville påvirke plantevekst, nodulering og BNF.

Varmesum til begynnende blomstring ble beregnet, og viser at plantene nådde dette utviklingsstadiet litt under 600 døgngader etter såing. Denne varmesummen er mye lavere enn det rapportert fra dyrking sørover i Europa, i Australia og USA, hvor 800-1000 døgngader er vanlig (Ellis et al., 1990; Etemadi et al., 2018; Iannucci et al., 2008; McDonald et al., 1994), og det er noe lavere enn det som er registrert ved dyrking i Finland (Lizarazo et al., 2015). Det lave kravet til varmesum i Norge kan tyde på at plantene responderer på lange dager, og at dette gir tidligere blomstring og dermed lavere varmesum i forhold til dyrking under kortere dager. Blomstringstidspunkt kan påvirkes av daglengde, og siden dette er genetisk styrt vil ulike sorter respondere ulikt på daglengde. Sorter vil dermed også ha ulikt krav til varmesum, og varmesummen vil i tillegg påvirkes av værforholdene. Derfor vil ikke varmesum funnet i denne oppgaven være likt for andre sorter eller for samme sort under andre vekstforhold. Tidspunkt for blomstring er viktig for modningstidspunkt og høstetid. Spesielt viktig vil derfor sorters daglengde- og varmesumkrav til blomstring være i Norge, siden lengden på vekstsesongen er begrenset og tidlig modning og innhøsting er helt nødvendig. Det er behov for å beregne varmesumkrav i felt både i andre områder av landet og gjennom flere sesonger, for å få bedre innsikt i hvordan varmesumkrav varierer under norske forhold.

I denne oppgaven ble varmesum beregnet både etter jordtemperatur og lufttemperatur. Varmesum etter jordtemperatur ble funnet å være mye høyere enn etter lufttemperatur, og størst forskjell ble funnet for perioden fra såing til 20.mai. Innhentet værdata viser at døgnmiddeltemperatur i jord var mye høyere enn i luft frem til 20.mai. Dette skyldes at forsøksfeltet var dekket med akrylduk fra såing til denne registreringsdatoen, og at jordtemperaturen ble målt i jorda under duken, mens lufttemperaturen er målt 2 m over bakken et annet sted i Ås. Planteutvikling beskrives vanligvis etter varmesum i lufta, men i dette forsøket vil det være mer riktig å se planteutviklingen til 20.mai etter varmesum i jord, ettersom planten har på grunn av akrylduken vært utsatt for en høyere varmesum enn det beregningen for luft viser. I forrige avsnitt skrev jeg at varmesum fra såing til begynnende blomstring ble funnet å være litt under 600 døgngrader, og at dette var noe lavere enn ved dyrking i Finland. Denne varmesummen er beregnet etter lufttemperatur, og det kan derfor hende at det faktiske varmesumkravet til begynnende blomstring er noe høyere enn dette, ettersom denne summen ikke tar høyde for at plantene var utsatt for en høyere temperatur enn det lufttemperaturen viser de første 4 ukene etter såing. I så fall blir varmesumkravet til begynnende blomstring funnet i dette forsøket relativt likt med varmesumkravet funnet ved dyrking i Finland.

Registreringen av nodulutvikling viser at første noder var dannet når plantene hadde 3 bladpar, og at antall noder, både på øvre og nedre del av rota, var størst mellom begynnende blomstring og tidlig belgdannelse. Funn av flest noder rundt blomstring korresponderer med observasjoner av Hossain et al. (2017) og Rose et al. (2018). Det var generelt stor variasjon i antallet noder mellom enkeltplanter, både mellom planter innenfor en forsøksrute og mellom planter på tvers av de to gjentakene. Noe av variasjonen kan knyttes til metoden brukt. Siden plantene ble manuelt gravd opp av jorda og visuelt scoret, kan noder ha blitt mistet under oppgravingen, eller feil kan ha blitt gjort under scoringen. Største delen av variasjonen skyldes derimot en naturlig variasjon i antall noder på røttene. Som standardavvikene viser var det store variasjoner i scoringen av noder gjennom hele perioden, også i begynnelsen da rotsystemene var små og relativt enkle å grave opp å score, og hvor standardavvikene derfor burde være lavest, noe de ikke var.

Det ble, men noen få unntak, funnet færre noder ved tidlig belgdannelse (1.juli) enn ved blomstring (22.juni). En slik nedgang var ikke forventet, da noder ikke vil forsvinne selv om de kan slutte å være effektive. Feilkilder knyttet til oppgraving av rotsystem og scoring av

nodulene kan forklare noe av nedgangen i antallet noder. Oppgraving av rotsystemene ble påvirket av jordfuktigheten og størrelsen på rotsystemet. Rotsystemet økte i størrelse og forgreining gjennom sesongen, og var 1.juli blitt større og mer forgreina siden 22.juni. Graving var også enklest når jorda var godt fuktig, og ble vanskeligere desto tørrere jorda ble. Det var 1.juli tørrere i bakken enn 22.juni, noe som kombinert med større rotsystem gjorde det vanskeligere å grave opp fullstendige og intakte rotsystemer, og noder kan derfor ha blitt igjen i bakken. En annen faktor som kan ha påvirket resultatet er størrelsen på nodulene og bedømmelsen under scoringen. Størrelsen på nodulene økte utover i sesongen, og de vokste da sammen til klynger slik at det var vanskelig å skille de enkelte nodulene fra hverandre. Siden scoring er gjort visuelt, er det en usikkerhet knyttet til hvordan slike store klynger ble oppfattet (hvor mange noder en klynge tilsvarte) og inkludert i scoringen.

Det ble ikke funnet nedgang i antall noder for behandling B2 på nedre del av rota fra blomstring til tidlig belgdannelse, og antallet noder hos B2 var signifikante høyere enn både A1 og B2 ved tidlig belgdannelse. Den signifikante forskjellen var en interessant observasjon, siden det ikke ble funnet signifikante forskjeller mellom behandling tidligere. En reell effekt av behandling kan ikke utelukkes, men hvis det skulle vært positiv effekt av smitting ved denne datoen er det naturlig å tenke at det ikke skulle vært forskjell mellom B1 og B2 siden begge behandlinger inneholder smitte. Som beskrevet i forrige avsnitt var det en generell nedgang i noder fra blomstring til tidlig belgdannelse, og at noe av denne nedgangen kan skyldes feilkilder i forbindelse med oppgraving av rotsystem og scoring av noder. Derfor er det mest tenkelig at naturlige forskjeller i nodultall mellom B2 og A1 og B2 har blitt forsterket av feilkilder knyttet til gravingen, slik at forskjellene som resultatet viser er større enn det de reelle forskjellene egentlig var.

Andelen nitrogen fiksert fra lufta (%Ndfa) ble beregnet til å være mellom 74 og 90%, med et gjennomsnitt på 79% ved blomstring og 84% ved tidlig belgdannelse. Dette tilsvarte en fiksert mengde nitrogen på 5-7 kg N/daa ved blomstring og 11-15 kg N/daa ved tidlig belgdannelse. Verdiene for %Ndfa er relativt høye i dette forsøket, og tilsvarende verdier er funnet under forsøk med åkerbønne i Sveits (Büchi et al., 2015; Hardarson et al., 1991) og Danmark (Pandey et al., 2017; Vinther & Dahlmann-Hansen, 2005). Verdiene i dette forsøket var i midlertidig høyere enn verdier fra canadiske forsøk (Hossain et al., 2016; Liu et al., 2019). For BNF som kg N/daa viser resultatene fra dette forsøket noe lavere tall enn det rapportert i de danske og sveitsiske forsøkene nevnt ovenfor, men er i samme område som verdier funnet

i et NIBIO forsøk i Norge (Vågen et al., 2017). De høye %Ndfa tallene tyder på at bakteriene har utført nitrogenfikseringen effektivt, og at forholdene for nitrogenfiksering har vært gode.

Selv om det ikke ble funnet signifikante forskjeller i %Ndfa og kg N/daa mellom behandlingene, var begge høyest for de ugjødslede behandlingene (A1 og B1). I dette forsøket ble det brukt en gjødseltype som inneholdt nitrogen, og tidligere forsøk har vist at å tilføre nitrogen gjødsel reduserer den biologiske nitrogenfikseringen hos åkerbønne (Hardarson et al., 1991; Pampana et al., 2018). Derfor er det ikke uventet at nitrogenfikseringen er lavere for behandlingene med gjødsel enn de uten gjødsel.

Som for BNF ble det ikke funnet signifikante forskjeller i målt NBI mellom behandlingene, men NBI ble funnet å være høyest ved blomstring og lavere igjen ved tidlig belgdannelse. NBI gir ikke en direkte måling på innholdet av nitrogen i planta, men gir en indikasjon på om planta har tilgang på nok nitrogen eller ikke. NBI beregnes ut fra forholdet mellom klorofyll og flavonoider i plantas blader, og ved god nitrogentilgang vil forholdet mellom klorofyll og flavonoider være høyt, og motsatt ved mangel på N (Force-A, u.å). Siden Åkerbønne fikserer store deler av nitrogenet den trenger fra luft, vil NBI kunne gi en indikasjon på effektiviteten til plantas nitrogenfiksering. Åkerbønne fikserer nitrogen og styrer hvor mye som fikseres etter hva den trenger, og planta vil derfor når fikseringen er i gang ikke oppleve nitrogen mangel så lenge fikseringen er effektiv. Å finne NBI høyest ved blomstring er ikke uventet, da BNF var høy her. Det som var uventet var nedgangen i NBI fra 22.juni til 1.juli, ettersom BNF økte i samme periode. Siden BNF er høyere 1.juli enn ved 22.juni er det lite trolig at planta hadde tilgang på mindre N ved 1.juli enn 22.juni. Nedgangen i NBI kan skyldes at N er allokert fra bladene til et annet sted i planta, eller at det på grunn av utviklingsstadiet er en naturlig nedgang i forholdet mellom klorofyll og flavonoider i bladene.

Det ble i dette forsøket ikke funnet signifikant effekt av NPK startgjødsel på planteutvikling og dannelsen av noder. Det ble heller ikke funnet effekt på avling og avlingskomponenter. Dette korresponderer med observasjoner av Pampana et al. (2018) og Dona et al. (2020), som heller ikke fant effekt av startgjødsel på plantevekst og avling. Ingen effekt av startgjødsel i dette forsøket kan tyde på at det det har vært tilstrekkelig med plantetilgjengelige næringsstoffer i jorda til å støtte plantenes tidlige vekst, og ettersom det også ble funnet liten forskjell i avling og avlingskomponentene tyder det på god etablering hos plantene. Startgjødsel skal bidra med næring til plantene før rotveksten og den biologiske

nitrogenfikseringen kommer skikkelig i gang. I kald jord tar det lengre tid for plantas rotsystem å utvikle seg og for nitrogenfikseringen å komme i gang, og startgjødsel kan derfor være mer effektivt under slike forhold (Beegle et al., 1997; Dona et al., 2020). I dette forsøket var jordtemperaturen nokså høy tidlig i vekstsesongen. Det kan derfor hende at å tilføre NPK startgjødsel vil ha bedre effekt i kaldere jord, eller i jord med en annen næringsstatus, og dette er noe som trenger videre undersøkelser. Tilførsel av gjødsel med svovel og fosfor har vist å påvirke planteutvikling og nodulering positivt (Divito & Sadras, 2014), og det kan derfor hende at å tilføre en annen type gjødsel enn NPK fullgjødsel kan ha en effekt, og er noe som kunne vært undersøkt.

Forsøket fant ingen effekt av smitting på antallet noder, noe som tilsvarer det Lopetinsky et al. (2014) observerte i et feltforsøk i Canada. Det ble heller ikke funnet effekt av smitting på plantevekst, avling og avlingskomponenter, noe som korresponderer med funn av Lopetinsky et al. (2014), men er motsatt av det Siaudinis et al. (2017) observerte ved dyrking i Litauen. Ingen klar effekt av smitting på antall noder og BNF, kombinert med høye BNF verdier tyder på at det i jorda hvor plantene ble dyrket var nok tilgjengelige og aktive *Rhizobium* bakterier fra før til å sikre god nodulering og høy biologisk nitrogenfiksering. Andre forsøk har vist størst effekt av inokulering der det er lite effektive bakterier fra før, og for at inokulering skal lønne seg må mengden naturlige rhizobiumbakterier være lav (Denton et al., 2013; Denton et al., 2017). I Norge sies det å være store nok mengder naturlige *Rhizobium* bakterier i jorda til at smitting ikke er nødvendig (Serikstad et al., 2013), men det er ikke undersøkt gjennom forskning hvor mye naturlige *Rhizobium* bakterier som finnes i norsk jord. For å se om det er noen områder hvor smitting kan være mer effektivt, kunne kartlegging av *Rhizobium* populasjoner i ulike områder vært interessant.

Selv om det ikke funnet signifikante forskjeller mellom behandlingene på de ulike registreringene og målingene, ble det observert noen tydelige forskjeller mellom behandlingene. For eksempel ble det på øvre del av rota funnet nedgang i antall noder fra blomstring til tidlig belgdannelse for alle behandlinger utenom B1. Det mest naturlige er selvsagt at det ikke er forskjeller når signifikans ikke blir påvist, men i denne oppgaven er det brukt få gjentak for hver behandling noe som ga få frihetsgradene i ANOVA analysen, og dermed måtte det være store forskjeller og liten variasjon i målingene for å påvise signifikans. Det ble i dette forsøket brukt flere metoder som har store forsøksfeil knytta til seg, eksempelvis graving og scoring av noder, og i tillegg var det stor naturlig variasjon mellom

enkeltplanter, noe som gjorde at variasjonen i flere av målingene ble stor. For å redusere variasjonen og fått sikrere resultater kunne flere planter vært brukt til å beregne gjennomsnitt. Det kunne også vært brukt flere gjentak til undersøkelsene, eller det kunne vært gjort undersøkelser i flere felt. Metoden for oppgraving og vasking av røtter var svært arbeidskrevende, og denne metode er ikke det beste valget om antallet planter, gjentak og felt som undersøkes skal økes kraftig.

Resultatene i denne oppgaven bidrar med viktig kunnskap om hvordan nodulering foregår i forhold til planteutvikling, og viser at nodulering kan komme raskt i gang og være høy fra relativt tidlig i vekstsesongen under norske forhold. Oppgaven bidrar også med generell kunnskap om åkerbønnes tidlige utvikling og data om Vertigos varmesumkrav til ulike utviklingsstadier, samt en kvantifisering av BNF under norske forhold. Denne informasjonen kan være nyttig i videre arbeid med å optimalisere sortsutvalget og dyrkingsteknikk til norske forhold. I tillegg er også smitting og startgjødsling som dyrkingstiltak undersøkt. Dette er noe som må undersøkes grundigere, men resultatene fra dette forsøket indikerer at disse tiltakene ikke er nødvendig ved dyrking i Norge, og at dagens dyrkingspraksis derfor er god.

7. Konklusjon

I denne oppgaven har tidlig plante- og nodulutvikling hos åkerbønne blitt beskrevet, og biologisk nitrogenfiksering har blitt kvantifisert. Varmesumkravet til blomstring ble funnet å være lavt, kun 594 døgngrader, og viser at dette er et punkt hvor åkerbønnes utvikling i Norge skiller seg sterkt fra utviklingen i mange andre land. Noduleringen startet nokså tidlig i vekstsesongen, og første noder ble funnet når planta var på 3 bladpar-stadiet. I tillegg økte antallet noder raskt, og på øvre del av rota var nodultallet på sitt høyeste allerede en uke etter at de første nodulene var dannet. På nedre del økte antallet i to uker til, slik at det totale antall noder på hele rota var høyest ved blomstring. Kvantifiseringen av BNF viste at nitrogenfikseringen var høy, med en %Ndfa på 74-90% og en fiksert mengde nitrogen på 5,5-7,5 kg N/daa ved blomstring og 11,6-15,6 kg N/daa ved tidlig belgdannelse. Den høye N fiksering viser at åkerbønne potensielt kan bidra med mye N til neste års avling, som er bra med tanke på at dette bidraget er en av fordelene med å inkludere åkerbønne i vekstskifte med korn. Det ble ikke funnet effekt av startgjødsel eller smitting på parameterne målt i denne oppgaven, og ut fra resultatene fra dette forsøket er det ikke nødvendig å endre dyrkingspraksisen i Norge. Vekstforholdene under dette forsøket var gode. Derfor vil forsøk for å teste effekten av startgjødsel, både NPK og annen type gjødsel, og smitting under andre vekstforhold, på andre lokasjoner og jordtyper behøves for å kunne si om det er noen type forhold eller områder i landet hvor disse innsatsfaktorene kan være mer fordelaktige å bruke. Flere undersøkelser av varmesumkrav og planteutvikling hos både Vertigo og andre sorter gjennom flere vekstsesonger er også nødvendig, for å se hvordan planteutviklingen påvirkes av ulike vekstforhold.

8. Referanser

- Abrahamsen, U., Bodal, G. & Waalen, W. (2016). Virkning av ulike forgrøder på neste års avling av hvete. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 2 (1) *Jord- og plantekultur 2016. Forsøk i korn, olje- og proteinvekster, engfrøavl og potet 2015*, s. 106-111. Ås: NIBIO.
- Abrahamsen, U. (2018). Forgrødevirkning av havre, oljevekster, erter og åkerbønner. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 4 (1) *Jord- og plantekultur 2018. Forsøk i korn, olje- og proteinvekster, engfrøavl og potet 2017*, s. 118-122. Ås: NIBIO.
- Abrahamsen, U., Waalen, W. & Uhlen, A. K. (2018). Sortsforsøk i erter og åkerbønne. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 4 (1) *Jord- og plantekultur 2018. Forsøk i korn, olje- og proteinvekster, engfrøavl og potet 2017*, s. 159-166. Ås: NIBIO.
- Abrahamsen, U., Uhlen, A. K., Waalen, W. & Stabbetorp, H. (2019). Muligheter for økt proteinproduksjon på kornarealene. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 5 (1) *Jord- og plantekultur 2019. Forsøk i korn, olje- og proteinvekster, engfrøavl og potet 2018* s. 160-168. Ås: NIBIO.
- Abrahamsen, U. & Waalen, W. (2020). Sortsforsøk i åkerbønne. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 6 (1) *Jord- og plantekultur 2020. Forsøk i korn, olje- og belgvekster, engfrøavl og potet 2019* s. 144-147. Ås: NIBIO.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. 5 utg. New York: Elsevier academic press.
- Alharbi, N. H. & Adhikari, K. N. (2020). Factors of yield determination in faba bean (*Vicia faba*). *Crop and pasture science*, 71 (4): 305. doi: 10.1071/CP19103.
- Allito, B. B., Ewusi-Mensah, N. & Logah, V. (2020). Legume-Rhizobium Strain Specificity Enhances Nutrition and Nitrogen Fixation in Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Agronomy (Basel)*, 10 (6): 826. doi: 10.3390/agronomy10060826.
- Beegle, D. B., Roth, G. W. & Lingenfelter, D. D. (1997). *Agronomy facts 51, starter fertilizer*. Tilgjengelig fra: <https://extension.psu.edu/starter-fertilizer> (lest 16.02.2021).
- Bodner, G., Kronberga, A., Lapse, L., Olle, M., Vågen, I. M., Rabante, L., Fernández, J. A., Ntatsi, G., Balliu, A. & Rewald, B. (2018). Trait identification of faba bean ideotypes for Northern European environments. *European journal of agronomy*, 96: 1-12. doi: 10.1016/j.eja.2018.02.008.
- Borisjuk, L., Weber, H., Panitz, R., Manteuffel, R. & Wobus, U. (1995). Embryogenesis of *Vicia faba* L.: Histodifferentiation in Relation to Starch and Storage Protein Synthesis. *Journal of plant physiology*, 147 (2): 203-218. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81507-5.
- Büchi, L., Gebhard, C.-A., Liebisch, F., S, S., Ramseier, H. & R, C. (2015). Accumulation of biologically fixed nitrogen by legumes cultivated as cover crops in Switzerland. *Plant and soil*, 393: 163-175. doi: 10.1007/s11104-015-2476-7.
- Catt, S. C. & Paull, J. G. (2017). Effects of ambient temperature and photoperiod on flowering time in faba bean (*Vicia faba* L.). *Crop and pasture science*, 68 (11): 893-901. doi: 10.1071/CP17187.
- Cernay, C., Ben-Ari, T., Pelzer, E., Meynard, J.-M. & Makowski, D. (2015). Estimating variability in grain legume yields across Europe and the Americas. *Sci Rep*, 5 (1): 11171-11171. doi: 10.1038/srep11171.
- Chen, W. (2009). Pollination, Fertilization and Floral Traits Co-Segregating with Autofertility in Faba Bean. *Journal of new seeds*, 10 (1): 14-30. doi: 10.1080/15228860802594615.
- Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P. & Duc, G. (2010). Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field crops research*, 115 (3): 329-339. doi: 10.1016/j.fcr.2009.09.016.
- Crespi, M. & Gálvez, S. (2000). Molecular Mechanisms in Root Nodule Development. *J Plant Growth Regul*, 19 (2): 155-166. doi: 10.1007/s003440000023.
- Deaker, R., Roughley, R. J. & Kennedy, I. R. (2004). Legume seed inoculation technology—a review. *Soil biology & biochemistry*, 36 (8): 1275-1288. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.04.009.

- Denton, M. D., Pearce, D. J. & Peoples, M. B. (2013). Nitrogen contributions from faba bean (*Vicia faba* L.) reliant on soil rhizobia or inoculation. *Plant and soil*, 365: 363-374. doi: 10.1007/s11104-012-1393-2.
- Denton, M. D., Phillips, L. A., Peoples, M. B., Pearce, D. J., Swan, A. D., Mele, P. M. & Brockwell, J. (2017). Legume inoculant application methods: effects on nodulation patterns, nitrogen fixation, crop growth and yield in narrow-leaf lupin and faba bean. *Plant and Soil*, 419 (1): 25-39. doi: 10.1007/s11104-017-3317-7.
- Divito, G. A. & Sadras, V. O. (2014). How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis. *Field crops research*, 156: 161-171. doi: 10.1016/j.fcr.2013.11.004.
- Dona, W. H. G., Schoenau, J. J. & King, T. (2020). Effect of starter fertilizer in seed-row on emergence, biomass and nutrient uptake by six pulse crops grown under controlled environment conditions. *Journal of plant nutrition*, 43 (6): 879-895. doi: 10.1080/01904167.2020.1711945.
- Drevon, J.-J., Alkama, N., Bargaz, A., Rodiño, A. P., Sungthongwises, K. & Zaman-Allah, M. (2015). The Legume–Rhizobia Symbiosis. I: De Ron, A. M. (red.) *Grain Legumes*, s. 267-290. New York, NY: Springer New York.
- Duc, G. (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field crops research*, 53 (1): 99-109. doi: 10.1016/S0378-4290(97)00025-7.
- Duc, G., Aleksić, J. M., Marget, P., Mikic, A., Paull, J., Redden, R. J., Sass, O., Stoddard, F. L., Vandenberg, A., Vishnyakova, M., et al. (2015). Faba Bean. I: De Ron, A. M. (red.) *Grain Legumes*, s. 141-178. New York, NY: Springer New York.
- Dupont, L., Alloing, G., Pierre, O., El Msehli, S., Hopkins, J., Hérouart, D. & Frendo, P. (2012). The Legume Root Nodule: From Symbiotic Nitrogen Fixation to Senescence. I: Dr Nagata, T. (red.) *Senescence* IntechOpen. doi: 10.5772/34438.
- Ellis, R. H., Summerfield, R. J. & Roberts, E. H. (1990). Flowering in faba bean: genotypic differences in photoperiod sensitivity, similarities in temperature sensitivity, and implications for screening germplasm. *Annals of Botany*, 65 (2): 129-138. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a087917.
- Etemadi, F., Hashemi, M., Zandvakili, O. & Mangan, F. X. (2018). Phenology, Yield and Growth Pattern of Faba Bean Varieties. *International journal of plant production*, 12 (4): 243-250. doi: 10.1007/s42106-018-0023-1.
- Eurolegume. (u.å.). *Protocol for biological nitrogen fixation (BNF) measurements*.
- Evert, R. F. & Eichorn, S. (2013). *Raven biology of plants*. 8 utg. New York: W.H Freeman and company.
- Force-A. (u.å.). *Dualex: Nitrogen status indicator*. Tilgjengelig fra: <https://www.force-a.com/products/dualex> (lest 15.02.2021).
- Gallardo, K., Signor, C. L., Vandekerckhove, J., D. Thompson, R. & Burstin, J. (2003). Proteomics of *Medicago truncatula* Seed Development Establishes the Time Frame of Diverse Metabolic Processes Related to Reserve Accumulation. *Plant Physiol*, 133 (2): 664-682. doi: 10.1104/pp.103.025254.
- GRDC. (2017). Section 4. Plant growth and physiology I: *GrowNotes Faba beans Western*, s.1-19. Australia: Grains Research & Development Corporation. Tilgjengelig fra: <https://grdc.com.au/GrowNotesFababeansWest>.
- Hardarson, G., Danso, S. K. A., Zapata, F. & Reichardt, K. (1991). Measurements of nitrogen fixation in fababeans at different N fertilizer rates using the ¹⁵N isotope dilution and 'A-value' methods. *Plant and Soil*, 131: 161-168. doi: 10.1007/BF00009445.
- Hossain, Z., Wang, X., Hamel, C., Knight, J. D., Morrison, M. J. & Gan, Y. (2016). Biological nitrogen fixation by pulse crops on the semiarid Canadian Prairie. *Canadian journal of plant science*, 97 (1). doi: 10.1139/CJPS-2016-0185.

- Hossain, Z., Wang, X., Hamel, C. & Gan, Y. (2017). Nodulation and nitrogen accumulation in pulses vary with species, cultivars, growth stages and environments. *Canadian journal of plant science*, 98 (3): 527-542. doi: 10.1139/CJPS-2017-0114.
- Iannucci, A., Terribile, M. R. & Martiniello, P. (2008). Effects of temperature and photoperiod on flowering time of forage legumes in a Mediterranean environment. *Field crops research*, 106 (2): 156-162. doi: 10.1016/j.fcr.2007.11.005.
- Jensen, E. S. & Hauggaard-Nielsen, H. (2003). How can increased use of biological N₂ fixation in agriculture benefit the environment? *Plant and soil*, 252 (1): 177-186. doi: 10.1023/A:1024189029226.
- Jensen, E. S., Peoples, M. B. & Hauggaard-Nielsen, H. (2010). Faba bean in cropping systems. *Field crops research*, 115 (3): 203-216. doi: 10.1016/j.fcr.2009.10.008.
- Karkanis, A., Ntatsi, G., Lepse, L., Fernández, J. A., Vågen, I. M., Rewald, B., Alsiņa, I., Kronberga, A., Balliu, A., Olle, M., et al. (2018). Faba Bean Cultivation - Revealing Novel Managing Practices for More Sustainable and Competitive European Cropping Systems. *Front Plant Sci*, 9: 1115-1115. doi: 10.3389/fpls.2018.01115.
- Kigel, J., Rosental, L. & Fait, A. (2015). Seed Physiology and Germination of Grain Legumes. I: De Ron, A. M. (red.) *Grain Legumes*, s. 327-363. New York, NY: Springer New York.
- Kirkegaard, J., Christen, O., Krupinsky, J. & Layzell, D. (2008). Break crop benefits in temperate wheat production. *Field crops research*, 107 (3): 185-195. doi: 10.1016/j.fcr.2008.02.010.
- Köpke, U. & Nemecek, T. (2010). Ecological services of faba bean. *Field crops research*, 115 (3): 217-233. doi: 10.1016/j.fcr.2009.10.012.
- Liu, L., Knight, J. D., Lemke, R. L. & Farrell, R. E. (2019). A side-by-side comparison of biological nitrogen fixation and yield of four legume crops. *Plant and soil*, 442 (1): 169-182. doi: 10.1007/s11104-019-04167-x.
- Lizarazo, C. I., Lampi, A. M., Liu, J., Sontag-Strohm, T., Piironen, V. & Stoddard, F. L. (2015). Nutritive quality and protein production from grain legumes in a boreal climate. *J Sci Food Agric*, 97 (6): 1962-1962. doi: 10.1002/jsfa.8213.
- Lizarazo, C. I., Isotalo, J., Lindfors, A. V. & Stoddard, F. L. (2017). Progress towards flowering of faba bean (*Vicia faba* L.) is more than photothermal. *Journal of agronomy and crop science*, 203 (5): 385-396. doi: 10.1111/jac.12200.
- Lopetinsky, K. J., Lupwayi, N. Z., Olson, M. A., Akter, Z. & Clayton, G. W. (2014). Contrasting Rhizobium inoculation requirements of zero-tannin faba bean and narrow-leaved lupin in western Canada. *Canadian journal of plant science*, 94 (7): 1117-1123. doi: 10.4141/cjps2013-314.
- Mahmood, F., Shahzad, T., Hussain, S., Shahid, M., Azeem, M. & Wery, J. (2018). Grain Legumes for the Sustainability of European Farming Systems. I: Lichtfouse, E. (red.) *Sustainable Agriculture Reviews 32- Waste Recycling and Fertilisation*, Sustainable Agriculture Reviews, s. 105-133. Springer International Publishing, Cham doi: 10.1007/978-3-319-98914-3_5.
- McDonald, G. K., Adisarwanto, T. & Knight, R. (1994). Effect of time of sowing on flowering in faba bean (*Vicia faba*). *Australian journal of experimental agriculture*, 34 (3): 395. doi: 10.1071/EA9940395.
- Miller, P. R., McConkey, B. G., Clayton, G. W., Brandt, S. A., Staricka, J. A., Johnston, A. M., Lafond, G. P., Schatz, B. G., Baltensperger, D. D. & Neill, K. E. (2002). Pulse Crop Adaptation in the Northern Great Plains. *Agronomy journal*, 94 (2): 261. doi: 10.2134/agronj2002.0261.
- Mutch, L. A. & Young, J. P. W. (2004). Diversity and specificity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* on wild and cultivated legumes. *Molecular Ecology*, 13 (8): 2435-2444. doi: doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02259.x.
- Olle, M., Williams, I. H. & Rosa, E. (2019). Selecting appropriate faba bean var. minor varieties for production under Northern European environmental conditions. *Acta agriculturae*

- Scandinavica. Section B, Soil and plant science*, 69 (5): 432-438. doi: 10.1080/09064710.2019.1595126.
- Opsahl, B. (1981). *Frø, spiring, vekst og oppbygning hos noen kulturplanter- til bruk i øvingskurs*. Ås-NLH: Landbruksbokhandelen.
- Pampana, S., Masoni, A., Mariotti, M., Ercoli, L & Arduini, I. (2018). Nitrogen fixation of grain legumes differs in response to nitrogen fertilisation. *Experimental Agriculture*, 54 (1): 66-82. doi: 10.1017/S0014479716000685.
- Pandey, A., Li, F., Askegaard, M. & Olesen, J. E. (2017). Biological nitrogen fixation in three long-term organic and conventional arable crop rotation experiments in Denmark. *European journal of agronomy*, 90: 87-95. doi: 10.1016/j.eja.2017.07.009.
- Patrick, J. W. & Stoddard, F. L. (2010). Physiology of flowering and grain filling in faba bean. *Field crops research*, 115 (3): 234-242. doi: 10.1016/j.fcr.2009.06.005.
- Peltonen-Sainio, P., Hannukkala, A., Huusela-Veistola, E., Voutilainen, L., Niemi, J., Valaja, J., Jauhiainen, L. & Hakala, K. (2013). Potential and realities of enhancing rapeseed-and grain legume-based protein production in a northern climate. *The journal of Agricultural Science*, 151 (3): 303-321. doi: doi.org/10.1017/S002185961200038X.
- Peoples, M. B., Brockwell, J., Herridge, D. F., Rochester, I. J., Alves, B. J. R., Urquiaga, S., Boddey, R. M., Dakora, F. D., Bhattarai, S., Maskey, S. L., et al. (2009). The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis*, 48 (1): 1-17. doi: 10.1007/BF03179980.
- Preissel, S., Reckling, M., Schläfke, N. & Zander, P. (2015). Magnitude and farm-economic value of grain legume pre-crop benefits in Europe: A review. *Field crops research*, 175: 64-79. doi: 10.1016/j.fcr.2015.01.012.
- Raza, A., Zahra, N., Hafeez, M. B., Ahmad, M., Iqbal, S., Shaukat, K. & Ahmad, G. (2020). Nitrogen fixation of Legumes: Biology and physiology. I: Hasanuzzaman, M., Araújo, S. & Gill, S. S. (red.) *The plant family fabaceae- Biology and physiological responses to environmental stresses*, s. 43-66. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Remmler, L., Clairmont, L., Rolland-Lagan, A.-G. & Guinel, F. C. (2014). Standardized mapping of nodulation patterns in legume roots. *New Phytol*, 202 (3): 1083-1094. doi: 10.1111/nph.12712.
- Roman, G. V., Epure, L. I., Toader, M. & Lombardi, A. R. (2016). Grain legumes- Main source of vegetal proteins for European consumption *Agrolife scientific journal* 5(1): 178-183.
- Rose, T. J., Kearney, L. J., Erler, D. V., Rose, M. T., Van Zwieten, L. & Raymond, C. A. (2018). Influence of growth stage and seed nitrogen on B values and potential contributions to error in estimating biological N₂ fixation using the 15N natural abundance method. *Plant and soil*, 425: 389-399. doi: 10.1007/s11104-018-3600-2.
- Serikstad, G. L., Hansen, S. & de Boer, A. (2013). Biologisk nitrogenfiksering- belgvekster som kilde til nitrogen. *Bioforsk FOKUS*, 8(3). Ås: Bioforsk.
- Siaudinis, G., Arlauskienė, A., Repsiene, R., Saurunaite, L. & Skuodiene, R. (2017). The effect of bacterial application on the productivity of faba bean (*Vicia faba* L.) and its mixture with spring wheat (*Triticum aestivum* L.) under two agroclimatic conditions in Lithuania. *Applied ecology and environmental research*, 15 (4): 2011-2021. doi: 10.15666/aer/1504_20112021.
- Singh, A. K., Bharati, R. C., Manibhushan, N. C. & Pedpati, A. (2013). An assessment of faba bean (*Vicia faba* L.) current status and future prospect. *African journal of agriculture*, 8(50): 6634-6641. doi: 10.5897/AJAR2013.7335.
- Stabbetorp, H. (2020). Dyrkingsomfang og avling i kornproduksjonen. I: Strand, E. (red.) NIBIO bok 6(1) *Jord- og plantekultur 2020. Forsøk i korn, olje- og belgvekster, engfrøavl og potet 2019.*, s. 16-26. Ås:NIBIO.
- Suso, M. J., Moreno, M. T., Mondragao-Rodrigues, F. & Cubero, J. I. (1996). Reproductive biology of *Vicia faba*: role of pollination conditions. *Field crops research*, 46 (1): 81-91. doi: 10.1016/0378-4290(95)00089-5.

- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M. & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development*. 6 utg. Sunderland, Massachusetts USA: Sinauer Associates Inc.
- Unkovich, M., Herridge, M., Peoples, M., Boddey, R., Giller, K., Alves, B. & Chalk, P. (2008). *Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems*. Canberra, Australia: ACIAR Monograph.
- van Kessel, C. & Hartley, C. (2000). Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field crops research*, 65 (2): 165-181. doi: 10.1016/S0378-4290(99)00085-4.
- Vinther, E. P. & Dahlmann-Hansen, L. (2005). Effects of ridging on crop performance and symbiotic N₂ fixation of fababean (*Vicia faba* L.). *Soil use and management*, 21 (2): 205-211. doi: 10.1079/SUM2005310.
- Vågen, I. M., Rivier, R.-A., Seljåsen, R. & Jøner, E. (2017). *Effects of Rhizobium inoculation on growth, N-fixation efficiency and protein levels in six field-grown faba bean (Vicia faba) genotypes*. [Poster]. International Conference- "Advances in grain legume cultivation and use", 27.09-28.09.2017. Novia Sad, Serbia.
- Zander, P., Amjath-Babu, T. S., Preissel, S., Reckling, M., Bues, A., Schläfke, N., Kuhlman, T., Bachinger, J., Uthes, S., Stoddard, F., et al. (2016). Grain legume decline and potential recovery in European agriculture : a review. *Agronomy for sustainable development*, 36 (2): 1-20. doi: 10.1007/s13593-016-0365-y.
- Zhao, J., Sykacek, P., Bodner, G. & Rewald, B. (2018). Root traits of European *Vicia faba* cultivars—Using machine learning to explore adaptations to agroclimatic conditions. *Plant Cell Environ*, 41 (9): 1984-1996. doi: 10.1111/pce.13062.

9. Vedlegg

Tabell A1. P-verdier fra ANOVA for test signifikans av behandlinger og gjentak ved de ulike registreringsdatoene. Df er frihetsgrader, bindestrek (-) indikerer at ANOVA ikke er utført ved denne datoen. * signifikant på 5% nivå ($p < 0,05$).

ANOVA							
		Df	27.mai	3.juni	17.juni	22.juni	1.juli
Nodulutvikling							
0-5 cm	Behandling	3	0,8852	0,8904	0,4422	0,6975	0,1751
	Gjentak	1	1,0000	0,4950	0,4950	0,9412	0,0776
5 < cm	Behandling	3	0,3953	0,6102	0,3185	0,2228	0,0115* ¹⁾
	Gjentak	1	0,9245	0,7608	0,0609	0,1627	0,0485*
¹⁾ Tukey test viser signifikant forskjell mellom B2 og A1 ($p=0,01293$) og B2 og B1 ($p=0,01509$)							
Planteutvikling							
		3	0,5000	0,1571	0,5000	0,7082	0,2918
		1	0,3910	0,3910	0,3910	1,0000	0,1817
NBI							
		3	-	-	0,4142	0,5082	0,5456
		2	-	-	0,1903	0,4043	0,0543
Kg N/daa							
		3	-	-	-	0,7211	0,4141
		1	-	-	-	0,3608	0,1460
%Ndfa							
		3	-	-	-	0,1514	0,3241
		1	-	-	-	0,6259	0,2698

Tabell A2. p-verdier fra ANOVA for å teste forskjell mellom datoer. Df er frihetsgrader. Tukey test utført hvor dato er signifikant. * p-verdi signifikant på 5% nivå ($p < 0,05$).

ANOVA				Tukey test	
		Df	p- verdi	Dato	p-verdi
Nodulutvikling					
0-5 cm	Behandling	3	0,1643	27.05 - 03.06	0,000565*
	Dato	4	$5,536 \cdot 10^{-5}$ *	03.06 - 17.06	0,943304
	Gjentak	1	0,3787	17.06 - 22.06	0,999996
	Behandling x dato	12	0,9333	22.06 - 01.07	0,340416
5 < cm	Behandling	3	0,9318	27.05 - 03.06	0,012738*
	Dato	4	$2,044 \cdot 10^{-7}$ *	03.06 - 17.06	0,000355*
	Gjentak	1	0,2333	17.06 - 22.06	0,846611
	Behandling x dato	12	0,0719	22.06 - 01.07	0,040207*
NBI					
		3	0,451	17.06 - 22.06	0,0000 ... *
		2	$8,617 \cdot 10^{-10}$ *	22.06 - 01.07	0,0053727*
		2	0,05951	17.06 - 01.07	0,0000006*
		6	0,63251		

ANOVA			Tukey test	
	Df	p- verdi	Dato	p-verdi
Kg N/daa				
Behandling	3	0,2800372	22.06 - 01.07	0,000437
Dato	1	0,0004371*		
Gjentak	1	0,613666		
Behandling x dato	3	0,6867490		
%Ndfa				
Behandling	3	0,04055		
Dato	1	0,05439		
Gjentak	1	0,18890		
Behandling x dato	3	0,78877		

Tabell A3. p-verdi fra ANOVA for å teste signifikans av behandling på avling, proteininnhold, tusenkornvekt og proteinavling.

		Df	p- verdi
Avling	Behandling	3	0,7572
Proteininnhold	Behandling	3	0,1151
Tusenkorvekt	Behandling	3	0,6480
Proteinavling	Behandling	3	0,6510



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway