

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät  
Abteilung Bodenkunde, Abteilung Acker- und Pflanzenbau

**Rhizo4Bio (Phase 1): RootWayS – Wir machen den Weg frei: Tiefwurzelnde  
Zwischenfruchtmischungen erleichtern den Zugang zu Unterbodenressourcen, TP A**

Katja Holzhauser, Yijie Shi, Iris Zimmermann, Henning Kage, Sandra Spielvogel

Förderkennzeichen: 031B0911A

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit  
Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung  
unter dem Förderkennzeichen 031B0911A gefördert.  
Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung  
liegt bei den Autoren.

## **Teil I**

### **1.1 Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Das übergeordnete Ziel des Projekts war die Entwicklung, Optimierung und Umsetzung von bodenarten- und standortspezifischen tiefwurzelnden Winterzwischenfruchtmischungen als Strategie für einen verbesserten Zugang zu Unterbodenressourcen in konventionellen Ackerbausystemen angesichts zunehmender Trockenheitsrisiken als Folge des Klimawandels. In den Zwischenfruchtmischungen wird das Prinzip der Nischenkomplementarität genutzt, indem eine flach- und eine tiefwurzelnde Art einer funktionalen Zwischenfruchtgruppe (Kreuzblütler, Gräser, Leguminosen) kombiniert wird um tiefreichende Wurzelkanäle auch während der kurzen Wintersaison zu generieren, die den Wurzeln der Folgefrucht Mais den Zugang zum Unterboden erleichtern. Die chemische und mikrobiologische Charakterisierung der Wurzelkanäle der Zwischenfrüchte und ihrer Wechselwirkungen mit der Rhizosphäre von Mais gibt hierbei Aufschluss über die Nutzbarkeit von Zwischenfruchtwurzelkanälen durch die Folgefrucht Mais. Mittels Tracermethoden ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ , Cs, Rb, Sr) wurde der schnelle und effiziente Zugang von Mais zu unterirdischen Nährstoffen und Wasser über die Wurzelkanäle der Zwischenfrüchte dokumentiert. Mittels drohnengestützter Thermografie wurde eine Hochskalierung der Wasser- und Nährstoffnutzung durch Mais auf die Feldebene entwickelt. Die Einbindung dieser Daten in Anbaumodelle ermöglicht eine Vorhersage des Maisertrags in Abhängigkeit von der Bewirtschaftung der Zwischenfrüchte.

### **1.2 Ablauf des Vorhabens**

Im Juli 2020 wurden auf dem Versuchsgut Hohenschulen (N54.311730, E9.995623) insgesamt 40 Parzellen (sechs Monokulturen, drei Zwischenfruchtmischungen, eine Kontrolle (Schwarzbrache), jeweils in vierfacher Wiederholung) mit Zwischenfrüchten angelegt. Im April 2021 wurden die Zwischenfrüchte mittels Herbizids abgetötet, der Boden flach bearbeitet, und im Mai in allen Parzellen Mais gesät.

Im August 2021 und 2022 wurden auf den Standorten Hohenschulen, Karkendamm (N53.926645, E9.931002) und Reinshof (N51.485614, E9.893146) jeweils 16 Parzellen (3 Zwischenfruchtmischungen, 1 Kontrolle, jeweils in vierfacher Wiederholung) mit Zwischenfrüchten angelegt. Im April 2022 und 2023 wurden die Zwischenfrüchte mittels Herbizids abgetötet, der Boden flach bearbeitet, und im Mai in allen Parzellen Mais gesät. Anfang Juni 2022 wurde auf dem Standort Hohenschulen jeweils die südliche Hälfte jeder Parzelle mit Regendächern zur Durchführung des geplanten Trockenstressexperiments versehen. Im Juni 2023 erfolgte diese Maßnahme auf allen drei Standorten. Die Regendächer verblieben bis kurz vor der Maisernte im Bestand.

Die Feldexperimente, Befliegungen und Probenahmen konnten in allen drei Jahren wie geplant durchgeführt werden.

### **1.3 Wesentliche Ergebnisse sowie ggf. die Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen**

Die wesentlichen wissenschaftlichen Ergebnisse des Projektes und die weiteren wissenschaftlichen Fortschritte während der Projektlaufzeit führen zu der Schlussfolgerung, dass insbesondere Zwischenfruchtmischungen mit Gräsern das Potenzial haben, für Mais als

Folgefrucht die Nährstoff- (N, K, Ca) und Wasseraufnahme aus dem Unterboden zu verbessern, und außerdem zur längerfristigen C-Speicherung im Unterboden beizutragen. Das Projekt RootWayS konzentrierte sich überwiegend auf winterharte Zwischenfrüchte (Ausnahme: Ölrettich), welche N-Verluste im zeitigen Frühjahr und einen reduzierten N-Transfer an die nachfolgende Hauptfrucht aufgrund der fortgeschrittenen Mineralisierung und Auswaschung von Pflanzenresten verhindern. Der intensive Austausch mit dem BONARES-Projekt CATCHY (Fk. 031A559A) während der Projektlaufzeit machte allerdings deutlich, dass die Einbeziehung von nicht winterharten Zwischenfrüchten in die Mischungen die Wiederbesiedelung der Zwischenfruchtwurzelkanäle durch die Hauptfrucht deutlich erleichtert, da die Mineralisierung der Zwischenfrucht-Wurzelrückstände in diesen Wurzelkanälen zu Beginn der Vegetationsperiode bereits weiter fortgeschritten ist. Daher sollten die nun erprobten Zwischenfruchtmischungen mit nicht winterharten Mischungskomponenten ergänzt werden, um sie noch besser an die Bedürfnisse der Folgefrucht Mais anzupassen.

Die Ergebnisse des Projektes wurden durch die enge Zusammenarbeit zwischen einem Pflanzenzuchtunternehmen (Feldsaaten Freudenberger), zwei Universitäten (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Georg-August-Universität Göttingen) und zwei Forschungsinstituten (Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung Leipzig, Forschungsinstitut für biologischen Landbau - FiBL) gewonnen.

## Teil II

**Ausführliche Darstellung der im Rahmen des Vorhabens durchgeführten Arbeiten, insbesondere im Vergleich zur ursprünglichen Vorhabenbeschreibung.**

### 1.1 Ablauf des Projektes

#### 1.1.1 Entwicklung der Zwischenfruchtmischungen im Zentralprojekt

Die Zwischenfruchtmischungen wurden, wie vorgesehen, aus tief- und flachwurzelnden Vertretern der Funktionalen Gruppen: Leguminosen, Kreuzblütler und Gräser zusammengestellt. Die Zusammensetzung der Mischungen ist Tabelle 1 zu entnehmen.

**Tabelle 1: Übersicht der im Projekt verwendeten Zwischenfruchtarten, Sorten und Mischungen (mit Angabe der prozentualen Anteile der Mischungskomponenten (Gew.-%))**

Variante	Beschreibung
1	Kontrolle (Brache)
2	Leguminose, tiefwurzelnd ( <i>Trifolium pratense</i> , Rotklee, Sorte: Merlyn)
3	Leguminose, flachwurzelnd ( <i>Trifolium repens</i> , Weißklee, Sorte: Blizzard, t)
4	Kreuzblütler, tiefwurzelnd ( <i>Raphanus sativus</i> , Ölrettich, Sorte: Farmer)
5	Kreuzblütler, flachwurzelnd ( <i>Brassica napus</i> , Winterfutterraps, Sorte: Akela)
6	Gras, tiefwurzelnd ( <i>Festuca arundinaceae</i> , Rohrschwengel, Sorte: Hykor)
7	Gras, flachwurzelnd ( <i>Lolium perenne</i> , Deutsches Weidelgras, Sorte: Salmo)
8	Mix 1: Var. 2 (22,7 %), Var. 3 (5,3 %), Var. 4 (56,7 %), Var. 5 (15,3 %)
9	Mix 2: Var. 2 (37,0 %), Var. 3 (12,5 %), Var. 6 (36,0 %), Var. 7 (14,5 %)
10	Mix 3: Var. 4 (34,0 %), Var. 5 (13,0 %), Var. 6 (26,5 %), Var. 7 (26,5 %)

Für die zweite Feldsaison wurden die Mischungen (Varianten 8, 9 und 10) dahingehend angepasst, dass der Kleeanteil in Variante 9 erhöht (Rotklee auf 50 %, Weißklee auf 10 %), und der Kreuzblütleranteil entsprechend reduziert wurde (Ölrettich auf 25 %, Raps auf 15 %), um den Kleeanteil im Aufwuchs trotz der Beschattung durch die Kreuzblütler zu stabilisieren. Des Weiteren wurde in der Variante 10 der Kreuzblütler-Anteil reduziert (auf 20 % Ölrettich und 10 % Raps), und der Gräser-Anteil entsprechend erhöht (auf 40 % Rohrschwengel und 30 % Weidelgras). Die Weidelgras-Sorte Salmo wurde außerdem durch die in der Jugendentwicklung deutlich spätere Sorte Meplreta ersetzt, um die Entwicklung des Rohrschwengels im Bestand zu unterstützen. Mit diesen Anpassungen konnte die gleichmäßige Entwicklung der Bestände erfolgreich verbessert werden.

#### 1.1.2 Anlage der Feldversuche und Organisation der Beprobungen im Zentralprojekt

Für das erste Versuchsjahr wurden im Spätsommer 2020 auf dem Versuchsgut Hohenschulen (N54.311730, E9.995623) 40 Parzellen (Kontrolle mit Schwarzbrache, alle sechs Zwischenfrüchte als Monokultur, drei Zwischenfruchtmischungen, jeweils in vierfacher Wiederholung) angelegt. Die Zwischenfrüchte wurden im November 2020 und April 2021 mit den stabilen Isotopen  $^{13}\text{C}$  (Begasung mit aus  $^{13}\text{C}\text{-CO}_3$  freigesetztem  $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ ) und  $^{15}\text{N}$  (Blattfütterung mit  $^{15}\text{N}\text{-NH}_4\text{NO}_3$  Lösung) markiert. Die mehrfache Beprobung der

Zwischenfruchtbiomasse, sowie die Entnahme von Bodenproben für die Bestimmung des mineralisch gebundenen Stickstoffs (N<sub>min</sub>) konnten wie geplant durchgeführt werden. Zum Ende des Jahres 2020 lagen alle Teilprojekte mit den vorgesehenen Arbeiten und Leistungen sehr gut im Zeitplan. Hinsichtlich der Meilensteinplanung wurden alle Vorbereitungen und Tests erfolgreich durchgeführt. Eine zentrale Service-Plattform zum Datenaustausch innerhalb des Projektes wurde eingerichtet. Die Projektdaten werden von dieser Service-Plattform in regelmäßigen Abständen zum Endverbleib in das BonaRes Datenrepositorium eingespeist.

Im April 2021 wurden auf dem Standort Hohenschulen die Zwischenfrüchte mittels Herbizids abgetötet, der Boden flach bearbeitet, und im Mai in allen Parzellen Mais gesät. Direkt im Anschluss wurden die Leitprofile für die Beprobung der Zwischenfruchtwurzelkanäle angelegt, sowie die FDR-Röhren für die Messung der Bodenfeuchte installiert. Des Weiteren wurden mit Hilfe der angeschafften Rammkernrohre Bodenkerne zur quantitativen Analyse der Wurzelsysteme entnommen. Neben den destruktiven Messungen wurden wiederholt der Biomasseaufwuchs sowie die Bestandestemperatur mittels Drohnentechnik erfasst. Alle Probenahmen und Drohnen-Befliegungen während der Maissaison konnten wie geplant durchgeführt werden.

Im Spätsommer 2021 und 2022 wurden auf den drei Standorten Hohenschulen, Karkendamm (N53.926645, E9.931002) und Reinshof (N51.485614, E9.893146) die Versuchspartellen für die zweite und dritte Feldsaison wie geplant angelegt. Die erneute Markierung und Beprobung der Zwischenfrüchte auf allen drei Standorten wurden planmäßig durchgeführt. Im April 2022 und 2023 wurden auf allen drei Standorten die Zwischenfrüchte mittels Herbizids abgetötet, der Boden flach bearbeitet, und im Mai in allen Parzellen Mais gesät. Direkt im Anschluss wurden die Leitprofile für die Beprobung der Zwischenfruchtwurzelkanäle angelegt, sowie, auf dem Standort Hohenschulen, die FDR-Röhren für die Messung der Bodenfeuchte mit Hilfe der angeschafften Rammkernrohre installiert. 2022 wurde Anfang Juni auf dem Standort Hohenschulen jeweils die südliche Hälfte jeder Parzelle mit Regendächern zur Durchführung des geplanten Trockenstressexperiments versehen, 2023 wurde dies auf allen drei Standorten durchgeführt. Die Regendächer verblieben jeweils bis kurz vor der Maisernte im Bestand. Die Probenahmen, Drohnen-Befliegungen, sowie Aufnahmen von Bestands- und Wurzelparametern während der Maissaison konnten 2022 und 2023 wie geplant durchgeführt werden.

## **1.2 Ergebnisse**

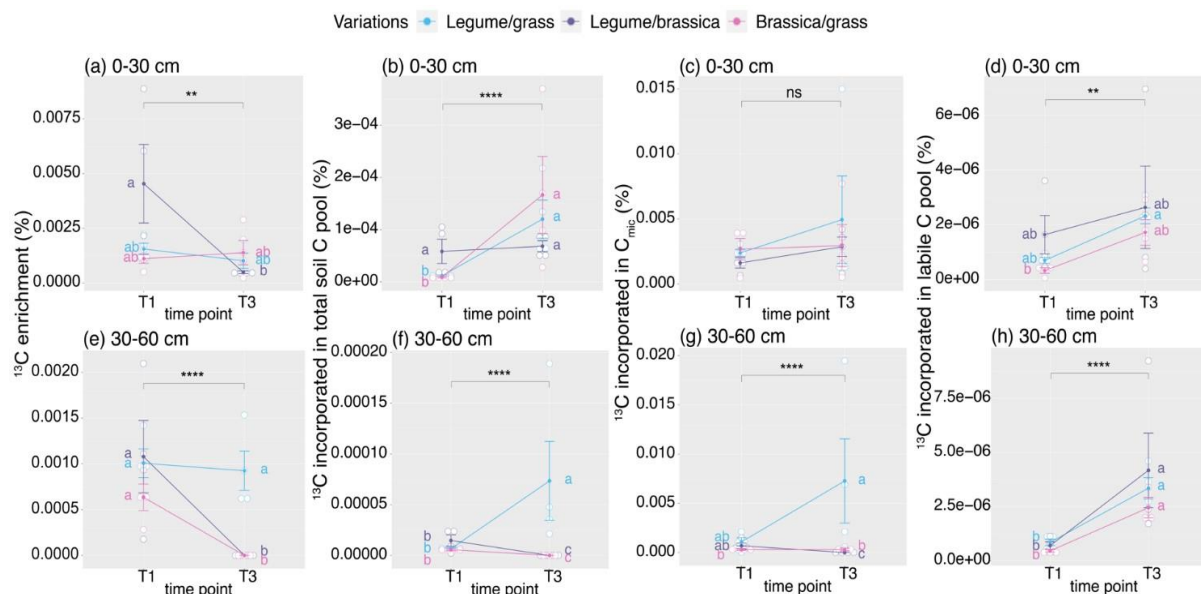
### **1.2.1 Teilprojekt 1: Kohlenstoffallokationsprozesse und Verteilung des Zwischenfrucht-kohlenstoffs in den Wurzelkanälen**

#### ***1.2.1.1 Bestimmung des Kohlenstoffeintrags und der Kohlenstoffumsatzraten in Wurzelporen unterschiedlicher Zwischenfrüchte und Zwischenfruchtmischungen***

Die Verlagerung von aus den Zwischenfrüchten stammendem Kohlenstoff (C) im Boden wurde mit Hilfe der <sup>13</sup>C-Pulsmarkierung der Zwischenfrüchte nachverfolgt. Die <sup>13</sup>C-Anreicherung in der Pflanzenbiomasse und den Bodenproben (unterteilt in gesamt-<sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C in mikrobieller Biomasse (C<sub>mic</sub>), und <sup>13</sup>C in mobiler Form (labiler Pool)) wurde mit einem Costech ECS 4010 (Costech Analytical Technologies Inc. Valencia, USA) Analysator, gekoppelt mit einem DeltaC-Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (Thermo Electron, Bremen, Deutschland) bestimmt.

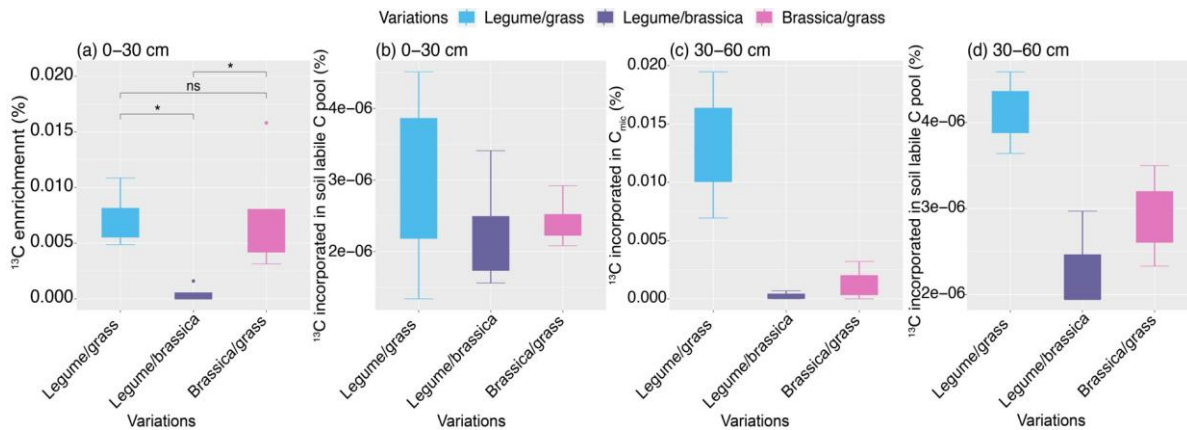
Hierbei wurden die Bodenproben aus leeren Wurzelkanälen der Zwischenfrüchte und jene aus der Rhizosphäre von Maiswurzeln, die die Wurzelkanäle der Zwischenfrüchte wiederverwenden, sowie Proben aus dem Oberboden und dem Unterboden getrennt analysiert.

Die Ergebnisse zeigen, dass in der Tiefe von 0-30 cm die  $^{13}\text{C}$ -Anreicherung in den Wurzelkanälen der Leguminosen/Brassica Mischung bei T1 (Zeitpunkt der Maiskeimung, BBCH03) am höchsten war (Abbildung 1a) und von T1 bis T3 (Schossen des Mais, BBCH33) um 89 % abnahm. Der prozentuale Anteil des aus der Zwischenfrucht stammenden C am gesamten C-Pool der Wurzelkanäle war bei T1 in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Brassica höher als in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Gras und Brassica/Gras, unterschied sich aber bei T3 nicht signifikant (Abbildung 1b). Der aus der Zwischenfrucht stammende C-Anteil am Gesamt-C-Pool der Wurzelkanäle von Leguminosen/Gras und Brassica/Gras nahm von T1 bis T3 deutlich zu. Der prozentuale Anteil des aus der Zwischenfrucht stammenden C in den Wurzelkanälen der Zwischenfrüchte in 0-30 cm Tiefe wurde weder durch die Zwischenfruchtmischungen noch durch den Zeitpunkt beeinflusst (Abbildung 1c). Der prozentuale Anteil des aus der Zwischenfrucht stammenden C im labilen C-Pool in den Wurzelkanälen der Zwischenfrüchte in 0-30 cm Tiefe war bei allen Zwischenfruchtmischungen bei T3 signifikant höher als bei T1 (Abbildung 1d). In der Tiefe von 30-60 cm ging die  $^{13}\text{C}$ -Anreicherung in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Brassica und Brassica/Gras von T1 bis T3 auf null zurück, während die  $^{13}\text{C}$ -Anreicherung in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Gras an T3 genauso hoch blieb wie zu T1 (Abbildung 1e). Der aus der Zwischenfrucht stammende C-Anteil am Gesamt-C-Pool stieg von T1 bis T3 in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Gras an (Abbildung 1f). Ähnlich wie der Gesamt-C-Pool, nahm auch der prozentuale Anteil des aus der Zwischenfrucht stammenden C von T1 bis T3 in den Wurzelkanälen von Leguminosen/Gras zu (Abbildung 1g). Der aus der Zwischenfrucht stammende C, der in den Pool des labilen C im Boden aufgenommen wurde, nahm von T1 bis T3 in den Wurzelkanälen aller Zwischenfruchtmischungen zu (Abbildung 1h).



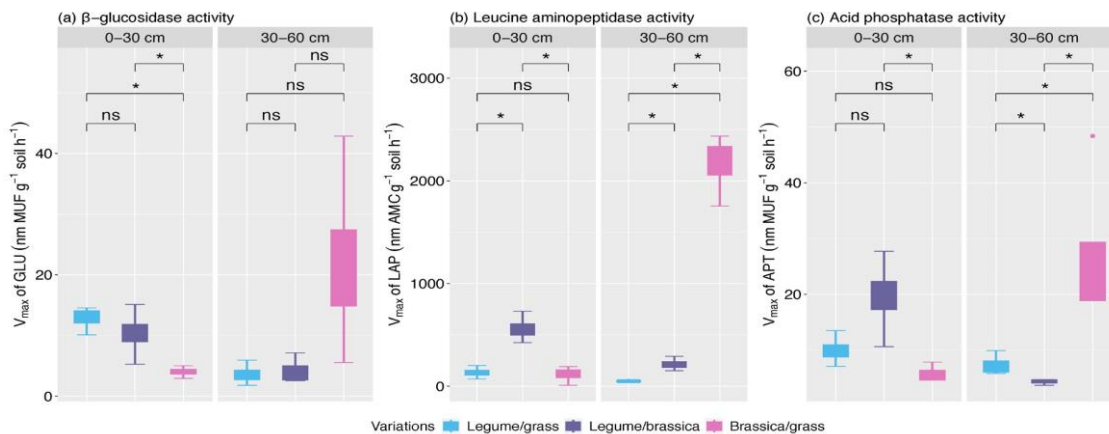
**Abbildung 1:**  $^{13}\text{C}$ -Anreicherung (a, e) und Inkorporation in die Boden-C-Pools (b-d und f-h) in den leeren Wurzelkanälen im Ober- und Unterboden im Jahr 2021. (Zweiwege-ANOVA, n=4, \*\* bedeutet p<0,01; \*\*\*\* bedeutet p<0,0001)

Wenn Maiswurzeln Zwischenfrucht wurzelkanäle in 0-30 cm Tiefe wiederverwendeten, war der Prozentsatz des aus den Zwischenfrüchten stammenden C in der mikrobiellen Biomasse ( $C_{mic}$ ) in Wurzelkanälen von Leguminosen/Gras und Brassica/Gras Mischungen signifikant höher als in Leguminosen/Brassica-Wurzelkanälen (Abbildung 2a), was auf eine große Wiederverwendungseffizienz des von Leguminosen/Gras stammenden C hinweist.



**Abbildung 2:**  $^{13}\text{C}$ -Inkorporation in die Boden-C-Pools in der Rhizosphäre von Mais bei Wiedernutzung von Zwischenfrucht wurzelkanälen im Ober- und Unterboden bei T3 im Jahr 2021 (einseitige ANOVA,  $n=4$ , \*\* bedeutet  $p < 0,05$ ).

Der Prozentsatz des aus Zwischenfrüchten stammenden C, der in den labilen C-Pool der in 0-30 cm Tiefe vom Mais wiedergenutzten Zwischenfrucht wurzelkanäle aufgenommen wurde, unterschied sich jedoch nicht signifikant zwischen den drei Mischungen (Abbildung 2b). In 30-60 cm Tiefe war der Anteil des aus der Zwischenfrucht stammenden C im  $C_{mic}$  und im labilen C-Pool des Bodens in vom Mais wiedergenutzten Zwischenfrucht wurzelkanälen der Leguminosen/Gras Mischung, tendenziell höher als nach der Leguminosen/Brassica und Brassica/Gras Mischung (Abbildung 2c, d).



**Abbildung 3:** Enzymaktivitäten ( $V_{max}$ ) in der Rhizosphäre von Mais unter Wiederverwendung der Wurzelkanäle von Zwischenfrüchten im Ober- und Unterboden bei T3 im Jahr 2021 (Kruskal-Wallis-Test,  $n=4$ , \*\* bedeutet  $p < 0,05$ ).

Wenn die Maiswurzeln Wurzelkanäle der Leguminosen/Brassica Mischung im Oberboden (0-30 cm) nutzten, waren die Aktivitäten ( $V_{max}$ ) von  $\beta$ -Glucosidase (GLU), Leucin-AminoPeptidase (LAP) und saurer Phosphatase (APT) am höchsten (Abbildung 3). In 30-60 cm Tiefe war die  $V_{max}$  von LAP in der Brassica/Gras-Mischung 44-mal und 9-mal höher als in der Leguminosen/Gras- bzw. Leguminosen/Brassica-Mischung (Abbildung 3b). Die  $V_{max}$  von APT war in der Brassica/Gras-Mischung 3-mal höher als in der Leguminosen/Gras-

Mischung und in der Leguminosen/Gras-Mischung doppelt so hoch wie in der Leguminosen/Brassica (Abbildung 3c). Folglich erhöht vor allem die Brassica/Gras-Mischung die Enzymaktivität im Unterboden.

### 1.2.1.2 Bestimmung standortabhängiger Kohlenstoffeinträge und Kohlenstoffumsatzraten in Wurzelporen unterschiedlicher Zwischenfruchtmischungen und Trockenstressabhängige Tiefenallokation von Kohlenstoff in der Rhizosphäre von Mais nach dem Anbau unterschiedlicher Zwischenfruchtmischungen

Im Jahr 2023 wurde der Mais auf allen drei Untersuchungsstandorten mit  $^{13}\text{C}$  markiert und die  $^{13}\text{C}$  Signatur von Bodenproben aus der Maisrhizosphäre mittels EA-IRMS bestimmt. Um zu untersuchen ob die Wiedernutzung von Zwischenfruchtwurzelkanälen dem Mais helfen kann mit Wassermangel umzugehen, verglichen wir anhand der  $^{13}\text{C}$ -Signatur in der Mairhizosphäre das Ausmaß der Wurzelexsudation unter Trockenstress- und normalen Niederschlagsbedingungen. Vor allem in den Leguminosen-/Graswurzelkanälen des Unterbodens war unter Trockenheit eine deutliche  $^{13}\text{C}$ -Signatur nachweisbar, was auf eine erhöhte Ausscheidung von Wurzelexsudaten hindeutet, welche die Bodenmikroorganismen in der Rhizosphäre zu einer verstärkten Mobilisierung von Nährstoffen anregt (Abbildung 4).

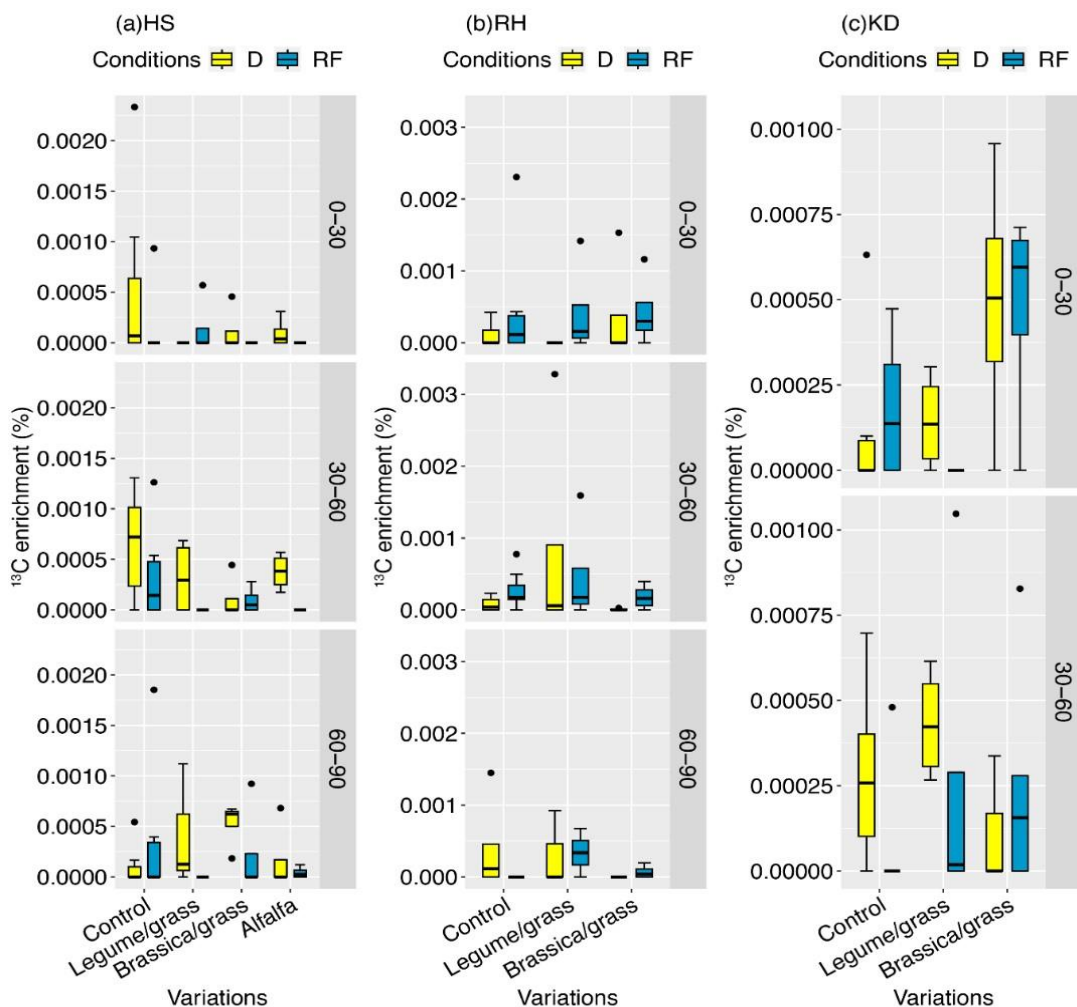
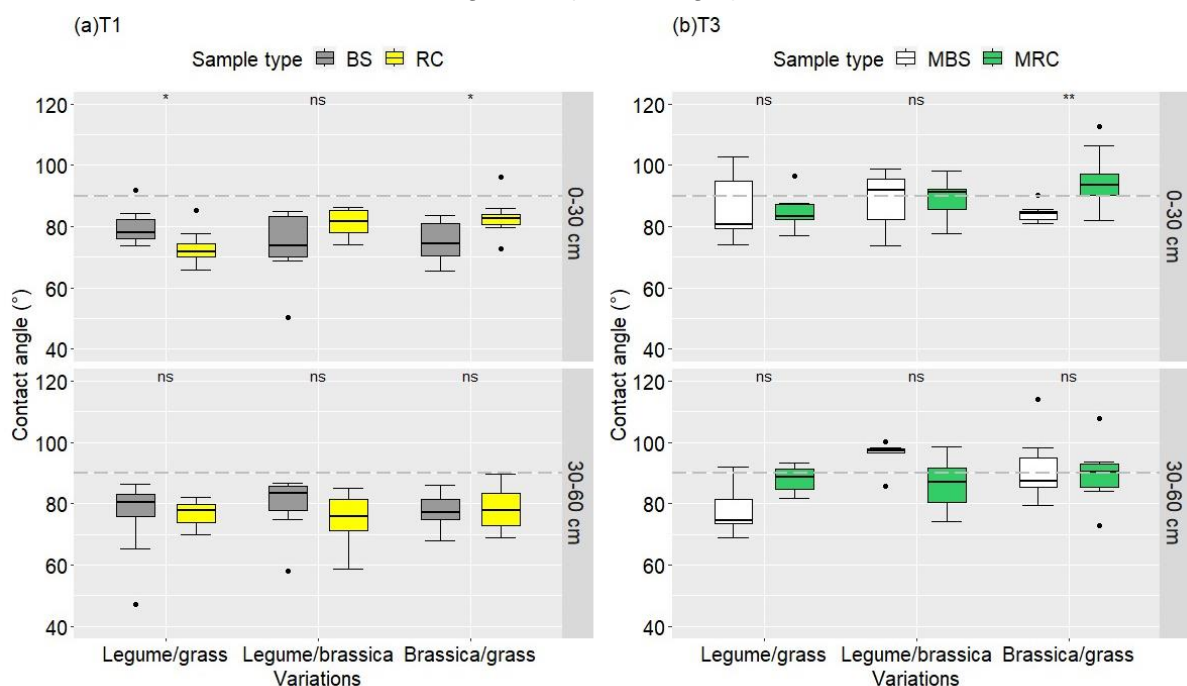


Abbildung 4:  $^{13}\text{C}$ -Anreicherung in der Rhizosphäre von Mais in 0-30, 30-60 und 60-90 cm Tiefe unter Trockenstress (D)- und Niederschlagsbedingungen (RF) an den drei Standorten Hohenschulen (HS), Reinshof (RH) und Karkendamm (KD) bei T3 im Jahr 2023, nach Zwischenfruchtanbau

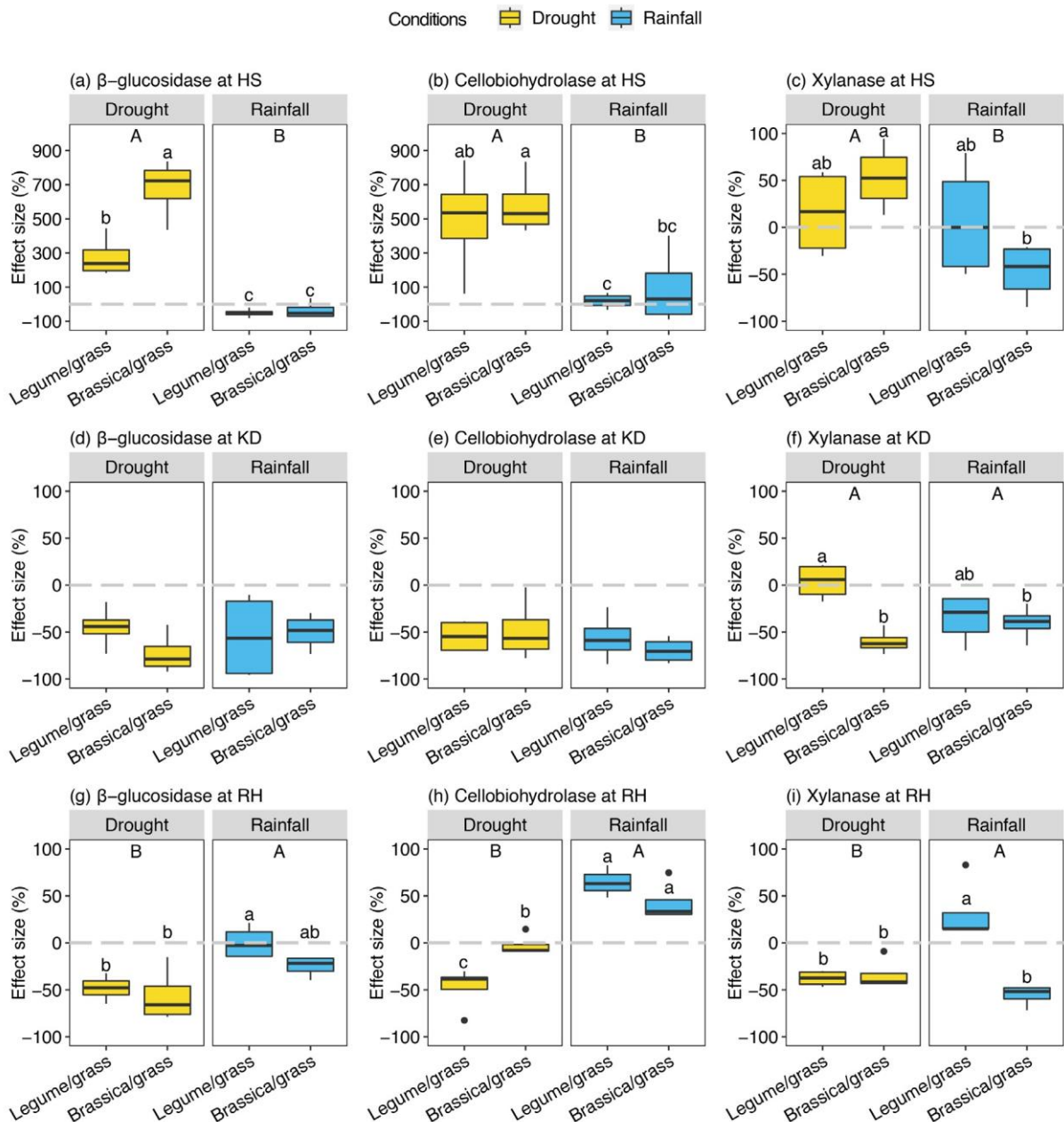
### 1.2.1.3 Nährstoffmobilisation und Kohlenstoffumsatz durch mikrobielle und wurzelbürtige Exsudation organischer Säuren und Aktivität nährstoffmobilisierender Enzyme

Die Benetzbarkeit der durch wurzelbürtige Exsudation geprägten Wurzelkanalwände der Zwischenfrüchte wurde mit der Sessile-Drop-Methode (OCA 25, DataPhysics, Deutschland) bestimmt. Ein Kontaktwinkel an der Grenzfläche Boden/Wasser von  $> 90^\circ$  klassifiziert hierbei einen Boden als hydrophob, ein Kontaktwinkel von  $0^\circ$  entspricht einem vollkommen hydrophilen Boden. Gezeigt werden hier exemplarisch die Daten aus dem Jahr 2021. Die Hydrophobizität der leeren Wurzelkanäle wurde mit der des undurchwurzelten Bodens bei T1 verglichen, und die Hydrophobizität in vom Mais wiederverwendeten Wurzelkanälen wurde mit der Hydrophobizität des Bodens in der unmittelbaren Umgebung von Maiswurzeln außerhalb der Zwischenfruchtwurzelkanäle verglichen (Abbildung 5).



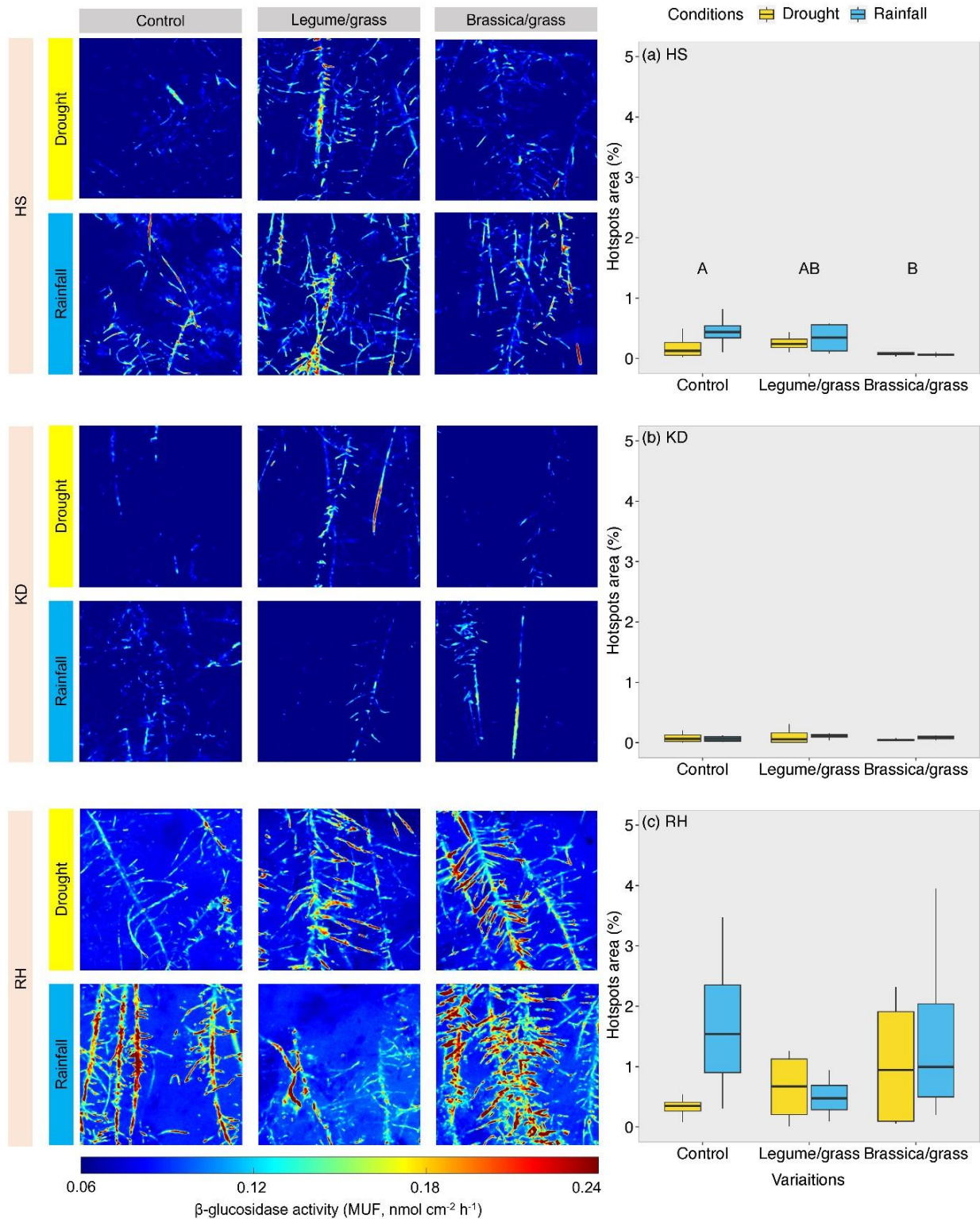
**Abbildung 5: Kontaktwinkel zwischen Boden und Wasser (a) in den Wurzelkanälen der Zwischenfrüchte (RC) und im undurchwurzelten Boden (BS) bei T1 und (b) in der Rhizosphäre von Maiswurzeln innerhalb (MRC) und außerhalb (MBS) von Zwischenfrucht Wurzelkanälen bei T3 im Jahr 2021. (t-Test, n=4, \*\* bedeutet  $p < 0,05$ , \*\*\* bedeutet  $p < 0,01$ )**

Der Kontaktwinkel der Leguminosen-/Gras-Wurzelkanäle war im Oberboden an T1 (Abbildung 5a) deutlich geringer als der des undurchwurzelten Bodens, was auf eine Zunahme hydrophiler organischer Rückstände in den Wurzelkanälen hinweist. Brassica/Gras-Wurzelkanäle wiesen hingegen einen signifikant höheren Kontaktwinkel auf als der umgebende Boden (Abbildung 5a), was auf eine Zunahme der hydrophoben organischen Fraktionen in diesen Wurzelkanälen hinweist. Insgesamt lag der Kontaktwinkel zu T1 jedoch sowohl in den leeren Wurzelkanälen als auch im undurchwurzelten Boden bei  $< 90^\circ$ , so dass der Boden in lufttrockenem Zustand zwar als benetzungsgehemmt, aber nicht als hydrophob einzustufen ist. Wenn Maiswurzeln bei T3 Wurzelkanäle von Brassica/Gras wiederverwendet, war der Kontaktwinkel um 10 % höher als in der Mais-Rhizosphäre außerhalb von Zwischenfruchtwurzelkanälen, und das Material sowohl im Oberboden als auch im Unterboden als hydrophob einzustufen (Abbildung 5b).



**Abbildung 6: Auswirkungen des Einsatzes von Zwischenfruchtmischungen auf die Aktivitäten von drei Enzymen des Kohlenstoffkreislaufes in der Rhizosphäre von Mais unter Trockenstress- und Niederschlagsbedingungen an den drei Standorten Hohenschulen (HS), Reinshof (RH) und Karkendamm (KD). Die graue gestrichelte Linie in der Abbildung ist der Schwellenwert, bei dem die Effektgröße gleich Null ist. Großbuchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen Trockenheits- und Niederschlagsbedingungen. Kleinbuchstaben stehen für einen signifikanten Unterschied zwischen den Variationen unter Trockenheits- und Regenbedingungen (Zwei-Wege-ANOVA,  $n=4$ ,  $p<0,05$ ).**

Am Standort HS hatte der Anbau von Zwischenfrüchten unter natürlichen Niederschlagsbedingungen keinen Einfluss auf die Enzymaktivitäten in der Rhizosphäre von Mais im Wachstumsstadium BBCH 50 (Abbildung 6a-c), möglicherweise weil die Wurzelrückstände der Zwischenfrüchte zum Zeitpunkt der Probenahme im Juli 2023 unter feuchten Bodenbedingungen die ersten Stadien der Zersetzung bereits abgeschlossen hatten. Unter Trockenstress erhöhten die Zwischenfrüchte jedoch deutlich die  $\beta$ -Glucosidase-, Cellobiohydrolase- und Xylanase-Aktivitäten in der Rhizosphäre von Mais bei BBCH 50, was auf einen intensiven Abbau von Cellulose und Hemicellulose hinweist.



**Abbildung 7: Zymogramme der  $\beta$ -Glucosidase-Aktivität und Hotspot-Verteilung der Rhizosphäre von Mais im Unterboden (30-60 cm) unter Trockenstress- und Regenbedingungen an den drei Standorten Hohenschulden (HS), Reinshof (RH) und Karkendamm (KD). Mais wuchs nach Zwischenfruchtmischungen oder Schwarzbrache (Control). Großbuchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten (zweifache ANOVA,  $n = 4$ ,  $p < 0,05$ ).**

Am Standort KD reduzierten sowohl die Leguminosen/Gras- als auch die Brassica/Gras-Mischung die  $\beta$ Glucosidase- und Cellobiohydrolase-Aktivitäten in der Rhizosphäre von Mais, ungeachtet der Bodenfeuchtebedingungen (Abbildung 6d-f). Am Standort RH reduzierte der Einsatz von Zwischenfrüchten die Aktivität der gemessenen Enzyme in der Rhizosphäre von

Mais unter Trockenheit (Abbildung 6g-i). Folglich konnte der Zwischenfruchtanbau an diesem Standort den trockenheitsbedingten Rückgang der Enzymaktivität nicht ausgleichen. Ohne Trockenstress hatten Zwischenfruchtmischungen, insbesondere Leguminosen/Gras, einen signifikant positiven Effekt auf die Aktivität der gemessenen Enzyme.

Die räumliche Ausdehnung von Hotspots mit hoher Enzymaktivität im Wurzelraum von Mais wurde mittels Zymografie ermittelt. Die Hotspot-Fläche war, sowohl unter Trockenstress als auch unter Niederschlagsbedingungen, in der Kontrolle am höchsten, und hier viermal höher als nach der Brassica/Gras-Mischung, in der sie am geringsten war (Abbildung 7). Die Zymogramme zeigten eine insgesamt weniger dichte Durchwurzelung und geringere  $\beta$ Glucosidase-Aktivitäten am Standort KD als am HS. Weder die Zwischenfruchtmischungen noch die Wasserverfügbarkeit hatten Einfluss auf die, insgesamt sehr geringen,  $\beta$ Glucosidase-Aktivitäten und Hotspot-Flächen am Standort KD.

Die Auswirkungen der Verwendung von Zwischenfrüchten auf die  $\beta$ -Glucosidase-Aktivitäten und Hotspots in der Rhizosphäre von Mais waren unter Regen- und Trockenheitsbedingungen ähnlich. Am Standort RH wiesen die Zymogramme eine höhere  $\beta$ -Glucosidase-Aktivität und eine größere Hotspot-Fläche auf als in HS und KD. Die Hotspot-Fläche der  $\beta$ -Glucosidase war unter Trockenstress nach den Leguminosen/Gras und Brassica/Gras Mischungen höher als in der Kontrolle, während sie unter Regenfällen in der Kontrolle am höchsten war.

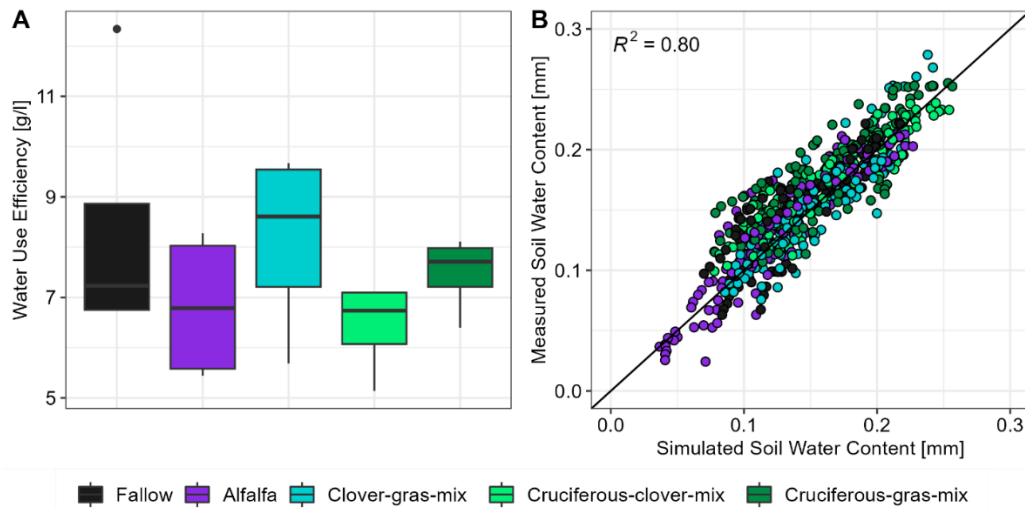
## **1.2.2 Teilprojekt 4: Quantifizierung des Bodenwasserhaushalts in Abhängigkeit von der Zwischenfrucht durch Messung und Modellierung**

### **1.2.2.1 Quantifizierung des Bodenwasserhaushaltes als Funktion der Zwischenfrucht durch Messung und Modellierung**

Der Bodenfeuchtegehalt wurde während jeder Mais-Vegetationsperiode wöchentlich oder zweiwöchentlich mit dem Sentek Diviner System gemessen. FDR-Rohre wurden 2021 jeweils einmal, 2022 und 2023 jeweils zweimal pro Parzelle installiert (natürlicher Neiderschlag vs. reduzierter Niederschlag). Für die empirische Analyse wurde die Änderung der Bodenwasserspeicherung in den gemäß einer zuvor durchgeführten Clusteranalyse zusammengefassten Tiefenbereichen: 0-20, 20-70, 70-110, 110-160 cm einbezogen. Die Daten wurden empirisch durch die Erstellung eines geeigneten statistischen Mischmodells (Pinheiro und Bates, 2000) ausgewertet. Basierend auf diesem Modell wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt, gefolgt von multiplen Kontrasttests (Bretz et al., 2011). Da das Versuchsdesign von 2021 von 2022 und 2023 abweicht, wurden die Daten aus 2021 separat analysiert. Die Mittelwerte der Bodenfeuchteänderung, einschließlich der Versuchsjahre 2022 und 2023, aufgeteilt in die vier geclusterten Tiefenbereiche, wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen Zwischenfruchtvarianten und Brache auf.

Die gesammelten Bodenfeuchtedaten wurden in ein prozessbasiertes Bodenwassermodell implementiert. Das Modell verknüpft drei grundlegende Komponenten: Pflanzenwachstum (einschließlich Wurzelwachstum), Evapotranspiration und dynamische Bodenprozesse. Dies ermöglicht die Berechnung der aktuellen Transpiration und Verdunstung sowie der Wassernutzungseffizienz der Maistreatments. Das Modell arbeitet hauptsächlich mit spektral erhobenen Grünflächenindizes, Pflanzenhöhe und Wetterdaten (einschließlich Niederschlag, Tagesdurchschnittstemperatur und globaler Strahlung), die von der Wetterstation

Hohenschulen dokumentiert werden. Die Bodendynamik im Modell hängt von der texturspezifischen hydraulischen Leitfähigkeit und den van-Genuchten-Parametern ab.

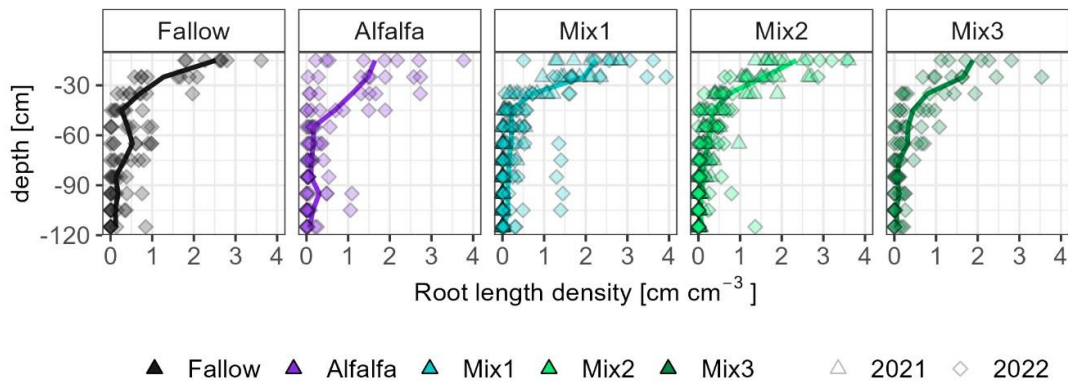


**Abbildung 8 A: Modellierte Wassernutzungseffizienz [g/l] von Mais nach Brache oder Zwischenfrüchten. B: Gemessener vs. simulierter Bodenwassergehalt [mm].**

Umfassende Bodentexturanalysen, die vom Zentrealprojekt in den Versuchsjahren 2021 und 2022 zur Verfügung gestellt wurden, ermöglichten eine realistische Simulation der Feldbedingungen auf Parzellenebene. Die Wassernutzungseffizienz von Mais nach Zwischenfrüchten unterscheidet sich nicht signifikant von Mais nach Brache (Abbildung 8 A). Die Kalibrierung des Modells erreichte einen guten Fit von  $R^2 = 0,8$  für die Simulation des Bodenwassergehalts bis zu einer Bodentiefe von 120 cm (Abbildung 8 B).

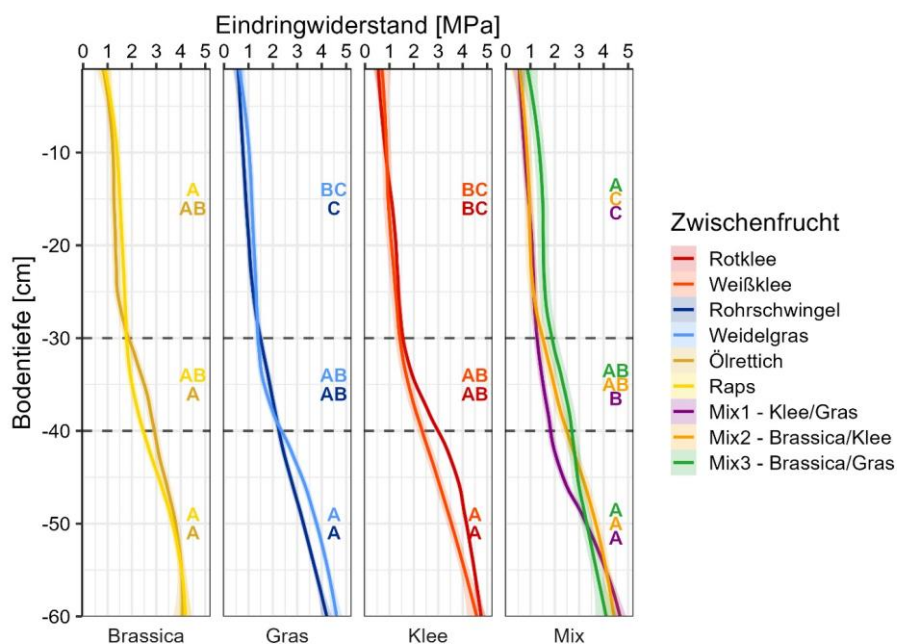
### **1.2.2.2 Gewinnung aggregierter Wurzelsystemparameter im Feldversuch Kiel inclusive modellgestützter Analyse**

In beiden Versuchsjahren wurden die Wurzellänge und die Wurzellängendichte (Root length density, Abbildung 2) bis zu einer Bodentiefe von 120 cm gemessen, entweder durch Bodenprofile oder durch mit Hilfe der Rammkernrohre entnommene Bohrkerne. Die Bohrkerne wurden zum Blühbeginn und zur Kornfüllung entnommen und in 10-cm-Abschnitte unterteilt. Nach dem Waschen der Proben wurden die extrahierten Wurzeln mit dem Epson Perfection V850 Pro gescannt. Abweichend von der ursprünglichen Planung wurde die Software RhizoVision zur Auswertung verwendet, da die Software WinRhizo veraltet ist. Die Scans wurden mit der Opensource Software RhizoVision Explorer v2.0.3 (Seethepalli et al., 2021) analysiert. Die Wurzeltiefe wurde zu vier Zeitpunkten während der Wachstumsperiode 2022 durch die Messung der tiefsten sichtbaren Wurzel im Bodenprofil untersucht. Die Daten wurden hauptsächlich zur Parametrisierung der Wurzelkomponente von HUME-Maize verwendet. Die Modellierung der Wasser- und Stickstoffaufnahme wird RootWayS Phase II weiter optimiert.



**Abbildung 9: Wurzellängendichte [ $\text{cm cm}^{-3}$ ] von Mais nach Zwischenfrüchten und Schwarzbrache (Kontrolle).**

Zusätzlich wurden die Durchwurzelungseffekte der Zwischenfrüchte auch über Eindringwiderstände mit einem Penetrologger bewertet. Die Messungen fanden hauptsächlich während des Wachstums der Zwischenfrüchte im Winter statt, da Messungen mit dem Penetrologger bei den trockenen Bodenverhältnissen im Sommer nicht durchführbar sind. Mit Beginn der Vegetationsruhe bei Temperaturen nahe  $0^\circ\text{C}$  ist von gleichmäßigen Bodenwassergehalten auszugehen, so dass Unterschiede in den Eindringwiderständen dann überwiegend auf Durchwurzelungseffekte zurückzuführen sind. Einheitlich über alle Varianten ist die Vorgeschichte der Flächennutzung an der Pflugsohlenverdichtung bei ca. 30 cm zu erkennen (Abbildung 10). Im Oberboden (0-30 cm) wurden signifikant höhere Eindringwiderstände unter Mix3 – Brassica/Gras gegenüber den anderen beiden Mischungen sowie den Reinsaaten aus Klee und Gras, festgestellt. Zwischen den Tief- und Flachwurzlern konnten keine Unterschiede abgesichert werden. Im Bereich der Pflugsohle (30-40 cm) unterschieden sich nur Ölrettich und Mix1 – Klee/Gras, unterhalb von 40 cm befanden sich statistisch gesehen alle Eindringwiderstände auf demselben Niveau.



**Abbildung 10: Eindringwiderstand des Bodens nach unterschiedlichen Zwischenfrüchten**

### 1.2.2.3 Monitoring und Analyse des Bodenstickstoffhaushalts als Funktion der Zwischenfrucht

Mineralischer Stickstoff im Boden ( $N_{min}$ ) wurde in allen Versuchsjahren zu den Zeitpunkten der Zwischenfruchtaussaat, des Vegetationsendes (Winter), der Maisaussaat und der Maisernte gemessen. Die Ergebnisse aller Versuchsjahre für den Tiefenbereich 0-90 cm sind in Abbildung 11 zusammengefasst. Wie erwartet, ist  $N_{min}$  am Ende der Vegetationsperiode im Winter, wenn die Temperaturen für das Pflanzenwachstum zu niedrig sind, in allen Zwischenfruchtmischungen signifikant (einfacher t-Test) niedriger als in der Brache. Das konnte auch in einem weiteren Zwischenfruchtprojekt der Arbeitsgruppe (THG-ZwiFru) bestätigt werden (Kühling et al. 2023).

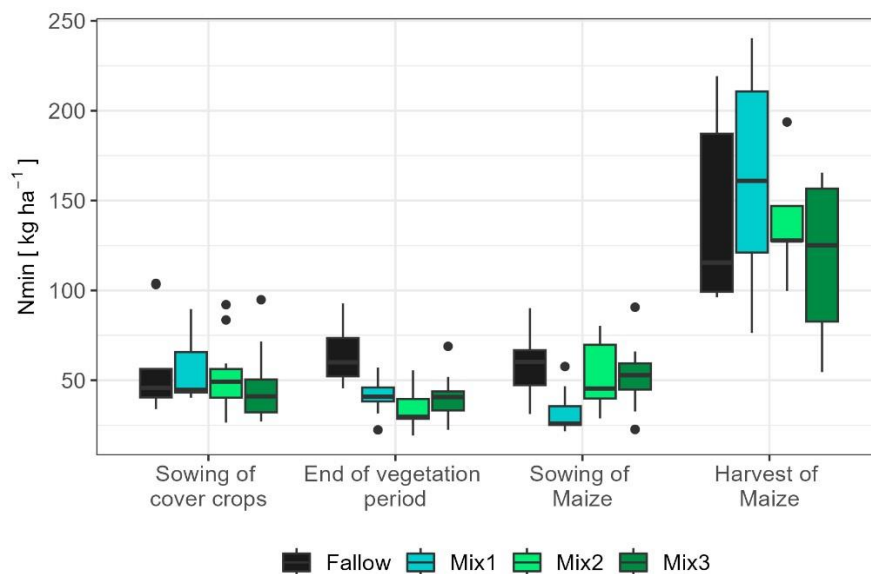


Abbildung 11: Mineralischer Bodenstickstoff [ $kg\ ha^{-1}$ ] gemessen in allen drei Versuchsjahren von RootWayS. Die Daten werden für eine Bodentiefe von 90 cm aufsummiert.

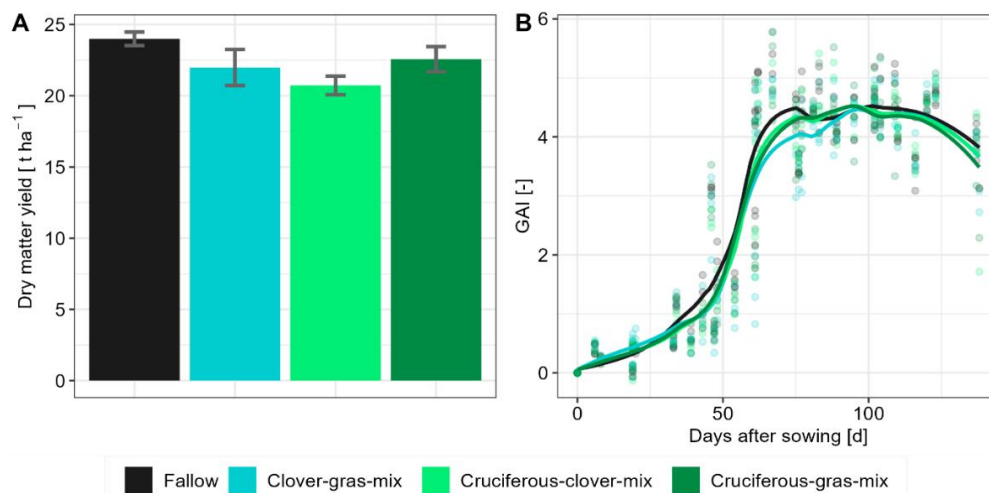
Zum Zeitpunkt der Maisaussaat/nach der Zwischenfruchtabtötung, die die Ausgangsbedingungen festlegt, wurde signifikant weniger  $N_{min}$  nach Mix1 (Klee/Gras) im Vergleich zu Brache gemessen. Da Mix2 (Kreuzblütler/Gras) und Mix3 (Kreuzblütler/Klee), den im Winter absterbenden Örtlich enthalten, erhöht sich der pflanzenverfügbare Stickstoff im Bodenspeicher bis zur Maisaussaat.  $N_{min}$  unterschied sich bei der Maisernte nicht. Die Daten werden für den weiteren Modellfortschritt, d.h. Kalibrierung/Evaluierung der HUME-MaizeBodenstickstoffkomponente, verwendet.

### 1.2.2.4 Analyse von Wachstumsdynamik und Ertragsleistung als Funktion der Zwischenfrucht

Nach Abschluss der Phase I des RootWayS-Projekts können alle Versuchsjahre (2021, 2022, 2023) in die Analyse einbezogen werden. Da die Zwischenfruchtmischungen (Mix1, Mix2, Mix3) und die Brache über alle drei Jahre kontinuierlich angebaut wurden, war eine statistische Analyse der Pflanzenentwicklung und schließlich des Ertrags von Silomais für diese vier Varianten möglich. Der Green Area Index (GAI) wurde während der gesamten Saison mit der Multispektralkamera Sequoia (Parrot Drones SAS, Paris), montiert an einer Starrflüglerdrohne (eBee, senseFly), erfasst. Die Kalibrierung der Kamera für Silomais wurde von Bukowiecki et al. (2024) etabliert und veröffentlicht, unter anderem unter Verwendung der destruktiven GAI-Messungen der ersten und zweiten RootWayS-Versuchsjahre (2021, 2022). Diese

Kalibrierung ermöglicht es uns, den GAI in hoher Auflösung zu schätzen und das Pflanzenwachstum über die gesamte Saison für jedes Versuchsjahr zu dokumentieren.

Der GAI für Silomais nach Brache war signifikant höher im Vergleich zum GAI von Mais nach den drei Zwischenfruchtmischungen ( $p$ -Wert = 0,0004). Es wurde keine Interaktion mit der zeitlichen Ebene (Tage nach der Aussaat) gefunden, was darauf hinweist, dass der GAI von Silomais nach Zwischenfruchtmischungen während der gesamten Saison niedriger war. Abgebildet in Abbildung 4 B ist die Entwicklung des GAI von Silomais nach den vier Varianten. Mais nach Brache erreicht den höchsten maximalen GAI früher als Mais nach Zwischenfruchtmischungen. Silomais-Trockenmassegewicht wurde in den Versuchsjahren zu vier Zeitpunkten gemessen.



**Abbildung 12:** Ertrag [t ha<sup>-1</sup>] für Mais nach Brache und den drei Zwischenfruchtmischungen als Mittelwert der Versuchsjahre (2021, 2022, 2023). B: Entwicklung des Green Area Index (GAI) während der Saison, als Mittelwerte der drei Versuchsjahre.

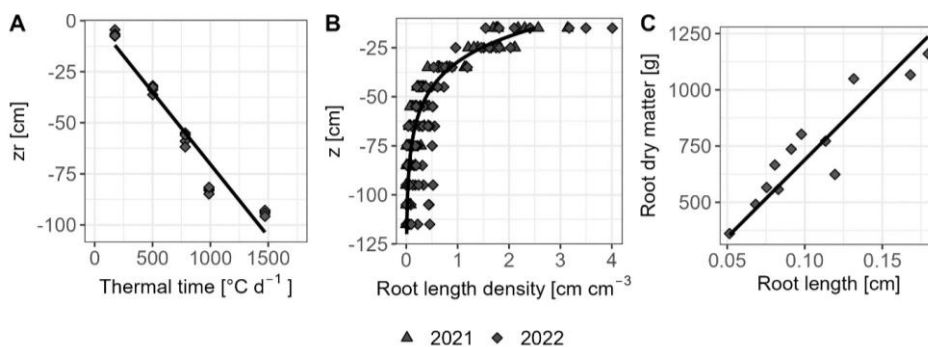
Der finale Ertrag wurde durch ein einfaches lineares Modell analysiert, das die Zwischenfruchtbehandlungen als abhängigen Faktor einschließt. Darüber hinaus sind die Mittelwerte in Abbildung 4 A dargestellt. Der endgültige Silomaisertrag war signifikant niedriger für Mais nach der Kreuzblütler-Klee-Mischung (Mix2). Im Allgemeinen erreichte Mais nach Brache tendenziell die höchsten Erträge in allen Versuchsjahren (Abbildung 12). Detailliertere Trockenmassemessungen von anderen Zeitpunkten wurden für die Auswertung eines dynamischen Pflanzenwachstumsmodells für Silomais verwendet (Arbeitspaket 5).

#### **1.2.2.5 Modellgestützte Analyse der Wasserversorgung und Ertragsbildung als Funktion der Zwischenfrucht**

Das dynamische Pflanzenwachstumsmodell HUME-Maize das erstmals von Wienforth (2011) etabliert wurde, wurde neu parametrisiert, teilweise angepasst und schließlich evaluiert. Das Modell dient als grundlegender Rahmen und umfasst die Hauptkomponenten des Silomaiswachstums: Pflanzenentwicklung, Trockenmasseproduktion und -verteilung, Wurzelwachstum, Evapotranspiration und Bodenprozesse. Diese Modellkomponenten wurden unter Verwendung großer mehrjähriger Feldversuche mit mehreren Standorten, unterschiedlichen Bodentypen, Aussaatterminen und Klimadaten, einschließlich des RootWayS-Datensatzes zur oberirdischen Biomasse, neu parametrisiert und bewertet.

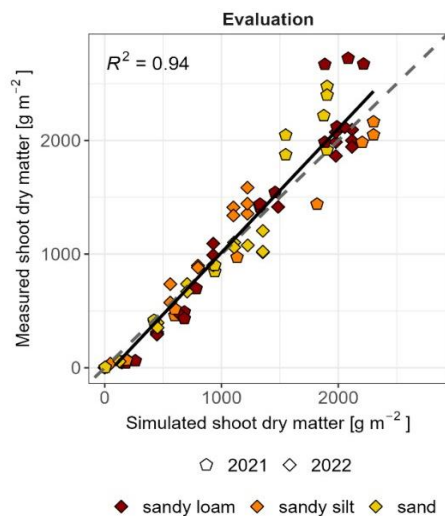
Während der RootWayS-Versuchsjahre 2021 und 2022 wurden umfangreiche destruktive Probenahmen durchgeführt, bei denen die Trockenmasse aller Pflanzenteile sowie die Blatt-

und Stängelfläche gemessen wurden. Zusätzlich wurde die Wurzelwachstumskomponente durch den RootWayS-Wurzeldatensatz kalibriert. Die Wurzelwachstumskomponente wurde nach den Annahmen von Kage et al. (2000) für Blumenkohl ausgerichtet. In Abbildung 13 sind die drei Hauptprozesse dieser Komponente dargestellt, basierend auf den Wurzeldaten aus dem ersten und zweiten RootWayS-Versuchsjahr. Erstens wird das Wurzeltiefenwachstum als linear abnehmend durch die Temperatursumme angenommen, kalibriert durch Wurzeltiefenmessungen zu fünf Zeitpunkten an den kontinuierlich erneuerten Bodenprofilen im Jahr 2022 (Abbildung 13). Zweitens wird das vertikale Wurzelwachstum, also die Wurzellängendichte als exponentiell abnehmende Funktion mit der Bodentiefe (Abbildung 5 B) unter Verwendung der aus den ausgewaschenen Bodenproben im Jahr 2021 und 2022 gemessenen Wurzellängendichten angepasst. Drittens nimmt die Wurzellänge als Funktion der Wurzelrockenmasse linear mit der spezifischen Wurzellänge zu (Abbildung 5 C), ebenfalls abgeleitet aus den ausgewaschenen und getrockneten Wurzelproben von 2021 und 2022.



**Abbildung 13:** Drei Prozesse der Wurzelkomponente. A: Wurzeltiefe ( $z_r$ , [cm]) Wachstum, als lineare Funktion der Wärmesumme [°C]. B: Vertikales Wurzelwachstum, als exponentiell abnehmende Wurzellängendichte [cm cm<sup>-3</sup>] über die Tiefe ( $z$ , [cm]). C: Spezifische Wurzellänge; Wurzellänge [cm] nimmt linear zu mit zunehmender Wurzelrockenmasse [g].

Als Gesamtergebnis der Modellkalibration wurde die Spross-Trockenmasse mit einem  $R^2$  von 0,94 simuliert (Abbildung 14). Für beide, Kalibrierungs- und Evaluierungsdatensätze, wurden wasserlimitierte Versuchsjahre erfolgreich einbezogen und simuliert. Die Spross-Trockenmasse der Versuchsstation Hohenschulen, wo RootWayS stattfindet, ist in Abbildung 6 als rote gefüllte Formen dargestellt, klassifiziert als sandiger Lehm Boden.



**Abbildung 14:** Bewertung des Silomais-Pflanzenwachstumsmodells HUME-Maize. Dargestellt ist die gemessene vs. vorhergesagte Spross-Trockenmasse [g m<sup>-2</sup>]. Unter anderem unter Verwendung des RootWayS-Datensatzes zur oberirdischen Biomasse. Der Evaluierungsdatensatz wurde nach Jahr und Bodentyp (sandiger Lehm = RootWayS) unterteilt.

### **1.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten**

Bei allen Feld- und Laborarbeiten wurde auf eine ressourcenschonende und effiziente Arbeitsweise geachtet. Der Aufwand der geleisteten Projektarbeiten war jederzeit den hohen Qualitätsstandards angemessen, die Vorhabenziele konnten dadurch erreicht werden. Der Verlauf des Projektes folgte in weiten Teilen der Planung und die in den einzelnen Arbeitspaketen festgelegten Aufgaben konnten erfolgreich bearbeitet werden. Ergänzende Zuwendungen und Ressourcen waren für die Erreichung der Projektziele nicht notwendig.

Die Anlage der Feldversuchspartellen und die Durchführung der geleisteten Projektarbeiten auf gleich drei Standorten (zum Vergleich, das Projekt CATCHY verfügte nur über zwei Versuchsstandorte) war notwendig, da ein erklärtes Projektziel von RootWayS darin bestand, Zwischenfruchtmischungen zu entwickeln, die bei verschiedensten Bodenbedingungen einen verbesserten Unterbodenzugang der Folgefrucht ermöglichen. Die gewählten drei Standorte unterscheiden sich hinsichtlich der dort vorherrschenden Bodentypen, sowie hinsichtlich der Bodentextur und waren somit ideal geeignet, die Spannweite der Ackerbaulich genutzten Standorte in Deutschland abzubilden. Die Installation von Regendächern war ebenfalls an allen Standorten notwendig (3. Projektjahr) um die standortsabhängigen Auswirkungen von Trockenstress quantifizieren zu können.

### **1.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses – auch konkrete Planungen für die nähere Zukunft – im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans**

Im Rahmen der ersten Phase des Projektes RootWayS konnten innovative neue Zwischenfrucht-Saatgutmischungen für den Maisanbau in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Feldsaaten Freudenberger entwickelt werden. Die Ergebnisse des ersten Feldjahres trugen dazu bei, alle drei untersuchten Zwischenfruchtmischungen zu optimieren: Der Kleeanteil in der Kreuzblütler-Klee Mischung wurde erhöht (Rotklee auf 50 %, Weißklee auf 10 %), und der Kreuzblütleranteil entsprechend reduziert (Ölrettich auf 25 %, Raps auf 15 %). Auch in der Kreuzblütler-Gras Mischung wurde der Kreuzblütler-Anteil reduziert (auf 20 % Ölrettich und 10 % Raps), und der Gräser-Anteil erhöht (auf 40 % Rohrschwengel und 30 % Weidelgras). Außerdem wurde in beiden Zwischenfruchtmischungen mit Gräsern die Weidelgras-Sorte Salmo durch die spätere Sorte Meplreta ersetzt. Durch die geschilderten Anpassungen in den Mischungszusammensetzungen können die Saatgutanbieter nun eine gleichmäßige Entwicklung der Zwischenfruchtsaatgutmischungen auf unterschiedlichen Standorten garantieren. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass insbesondere Zwischenfruchtmischungen mit Gräsern das Potenzial haben, die Nährstoff- (N, K, Ca) und Wasseraufnahme der Folgefrucht Mais aus dem Unterboden zu verbessern. Dies führt zwar nicht unmittelbar im Folgejahr zu höheren Maiserträgen, kann aber vor allem in Trockenjahren durch den verbesserten Zugang zu Unterbodenressourcen die Erträge zu stabilisieren. Vor dem Hintergrund zunehmend häufigerer Trockenperioden aufgrund des Klimawandels kommt dieser Entdeckung im Hinblick auf eine zukünftige Verwertung eine besondere Bedeutung zu.

Im Sinne eines fortgeschriebenen Verwertungsplans werden wir in enger Zusammenarbeit mit unserem Kooperationspartner Feldsaaten Freudenberger vor allem die Entwicklung von Zwischenfruchtmischungen mit Gräsern für den Maisanbau weiter vorantreiben. Im Austausch mit dem BONARES-Projekt CATCHY (Fk. 031A559A) wurde zudem deutlich, dass die

Einbeziehung von nicht winterharten Zwischenfrüchten in unsere Zwischenfruchtmischungen die Wiederdurchwurzelung der Zwischenfruchtwurzelkanäle durch Mais noch weiter verbessern könnte. Denn die weiter fortgeschrittene Mineralisierung der ZwischenfruchtWurzelrückstände in den Wurzelkanälen nicht winterharter Zwischenfrüchte zu Beginn der Maisausaat könnte die Wiedernutzung der Kanäle erleichtern. Ein konkreter Plan für die nähere Zukunft hinsichtlich der Verwertbarkeit und Anschlussfähigkeit besteht daher darin, die optimierten Zwischenfruchtmischungen mit Gräsern aus der ersten Projektphase durch die Beimischung nicht winterharter Zwischenfrüchte weiter zu verbessern. Dies findet derzeit bereits konkret in der inzwischen gestarteten zweiten Projektphase von RootWayS statt.

Die gewonnenen Daten stehen der wissenschaftlichen Gemeinschaft und den einschlägigen wirtschaftlichen Endnutzern (z.B. weiteren Saatgutzüchtern) im BonaRes-Datenzentrum (<https://www.bonares.de/datacentre-de>) zur freien Verfügung.

### **1.5 Während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen**

Neben RootWayS förderte das Bundesministerium für Bildung und Forschung das Zwischenfrucht-Projekt „CATCHY“ im Rahmen der Initiative „BonaRes - Boden als nachhaltige Ressource für die Bioökonomie“ (ab 2010; Förderkennzeichen 031A559). CATCHY gewann Erkenntnisse über den Einfluss von Zwischenfruchtmischungen und Monokulturen auf Maisertrag, mikrobielle Aktivität im Boden und Biomasse. Im Gegensatz zu RootWayS untersuchte CATCHY jedoch nicht die Reaktionen komplexer mikrobieller Gemeinschaften auf Wassermangel, insbesondere wenn sie sehr unterschiedlichen physiologischen Trockenstressbedingungen in verschiedenen Bodentypen ausgesetzt sind. Ein weiterer Unterschied zwischen CATCHY und RootWayS besteht darin, dass sich CATCHY auf nicht winterharte Zwischenfrüchte konzentrierte, während RootWayS insbesondere winterharte Zwischenfrüchte untersuchte. Diese sich ergänzenden Schwerpunkte der beiden Projekte ermöglichten in der ersten Förderphase von RootWayS und in der dritten Phase von CATCHY eine Reihe von fruchtbaren Kooperationen. Nicht winterharte Zwischenfrüchte haben während ihres Wachstums im Herbst den Bodenwasserspeicher in der Wurzelzone entleert. Nach dem Frost bildeten sie jedoch eine Mulchschicht und verringerten die Verdunstung während des Winters und zu Beginn des Frühjahrs im Vergleich zu unbewachsenem Boden, was zu einer insgesamt positiven Wasserbilanz im Vergleich zum unbewachsenen Boden führte (Gentsch et al. 2022). Dies könnte ein deutlicher Vorteil von nicht winterharten gegenüber winterharten Zwischenfrüchten unter Trockenheitsbedingungen im Frühjahr und Sommer sein.

Ein weiteres zentrales Ergebnis des CATCHY-Konsortiums war, dass die interspezifische Konkurrenz zwischen Zwischenfrüchten in Mischungen deren vertikale Verteilung der Wurzelbiomasse verändert. Diese Erkenntnis ist im Einklang mit der festgestellten höheren durchschnittlichen Wurzelhäufigkeit im Unterboden von Mais, der nach den Leguminosen/Gras- und den Brassica/Gras-Mischungen in RootWayS angebaut wurde. Diese höhere Wurzelbiomasse von winterabgetöteten Zwischenfruchtmischungen im Vergleich zu Monokulturen führte zu (i) erhöhtem C-Eintrag in die Rhizosphäre (Gentsch et al. 2020), (ii) mehr mikrobieller Biomasse im Boden (Gentsch et al. 2020), (iii) und einer verbesserten Ausnutzung der Nitratpools im Boden (Heuermann et al. 2019) sowie zu verringerten N-

Verlusten durch Auswaschung im Herbst und frühen Winter (Gentsch et al. 2022). Nicht winterharte Zwischenfrüchte erhöhen jedoch das Risiko von N-Verlusten durch Auswaschung im zeitigen Frühjahr, wenn die Rückstände der Zwischenfrüchte zu schnell mineralisiert werden (Gentsch et al. 2022). Insbesondere nicht winterharte Zwischenfruchtmischungen mit hohen Anteilen an Leguminosen und Senf wurden im Winter schnell mineralisiert und zeigten im Frühjahr die höchsten Nmin-Auswaschungsverluste (Gentsch et al. 2022). Generell nimmt die potenzielle N-Auswaschung aus der Mineralisierung von Zwischenfrüchten im Frühjahr mit abnehmendem C/N-Verhältnis der Streu zu, während das Potenzial für einen Nährstoffübertrag auf die nachfolgende Kultur steigt (Finney et al. 2016). Gentsch et al. (2022) kamen daher zu dem Schluss, dass es ratsam sein könnte, nicht winterharte mit winterharten Zwischenfrüchten zu mischen, die unmittelbar vor der Saatbettbereitung abgetötet werden, um eine Nmin-Auswaschung im Frühjahr zu verhindern.

## **1.6 Die erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 5 der NKBF/NABF**

**Die Ergebnisse des Projektes wurden auf den folgenden Fachtagungen präsentiert:**

Rhizo4Bio Status Seminar, Leipzig, 2024: Katja Holzhauser, Thomas Rübiger, Till Rose, Iris Zimmermann, Michaela Dippold, Sandra Spielvogel, Insa Kühling, Henning Kage: „Estimating canopy parameters of cover crop mixtures via drone-based multispectral reflectance data.“ (Highlight-Presentation)

META ORGANISMS Collaborative Research Center 1182 (CRC1182), Kiel, 4-6 Oktober 2023: Yijie Shi, Debjyoti Ghosh, Iris Zimmermann, Tobias Stürzebecher, Henrik Füllgrabe, Michaela A. Dippold, Jochen A. Müller, Nico Jehmlich, Sandra Spielvogel “Deeprooting Cover Crop Mixtures: Microbial Highways to Subsoil Nutrient Resources” (Vortrag)

Jahrestagung der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft „Böden – divers & multifunktional“, Halle (Saale), 2-8 September 2023: Yijie Shi, Iris Zimmermann, Tobias Stürzebecher, Katja Holzhauser, Debjyoti Ghosh, Bahar S. Razavi, Henning Kage, Michaela A. Dippold, Sandra Spielvogel “Cover crop mixtures optimize C allocation in the subsoil and promote N mobilization during maize cultivation” (Vortrag)

Jahrestagung der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft „Böden – divers & multifunktional“, Halle (Saale), 2-8 September 2023: K. Holzhauser, I. Zimmermann, M.A. Dippold, S. Spielvogel, H. Kage: „Modelling soil water dynamics of maize after deep-rooting cover crops. Tagung der deutschen bodenkundlichen Gesellschaft (DBG)“ (Poster)

International BONARES Conference, Berlin, 15-17 Mai 2023: Yijie Shi, Iris Zimmermann, Tobias Stürzebecher, Henrik Füllgrabe, Katja Holzhauser, Debjyoti Ghosh, Bahar S. Razavi, Henning Kage, Michaela A. Dippold, Sandra Spielvogel “Cover crop mixtures optimize C allocation in the subsoil and promote nutrient uptake during maize cultivation” (Vortrag)

International BONARES Conference, Berlin, 15-17 Mai 2023: Holzhauser, K., Zimmermann, I., Dippold, M., Spielvogel, S., Kage, H.: “Water conservation through cover crops - Which mixtures are suitable?” (Poster)

Global Soil Biodiversity Conference, Dublin, 13-15 März 2023: Yijie Shi, Iris Zimmermann, Tobias Stürzebecher, Debjyoti Ghosh, Michaela Dippold, Sandra Spielvogel “The effect

of deep-rooting cover crop mixtures on subsoil carbon allocation and microbial hotspot”  
(Poster)

XVII. Congress of the European Society for Agronomy, 29th August- 2nd September 2022, Potsdam, Germany: Holzhauser, K., Rübiger, T., Rose, T., Kage, H., Kühling, I.: “UAVbased estimation of biomass and N-uptake from multispectral canopy reflectance data in different winter cover crops.” (Vortrag)

Bonares Status Seminar, online, 2022: Holzhauser, K., Stürzebecher, T., Spielvogel, S.: “Root system and rhizosphere strategies to access top- and subsoil resources” (Vortrag)

BonaRes Status Seminar, online, 2021: Holzhauser, K., Kage, H.: “Aggregation and synthesis of root system parameters to model water uptake by Maize.” (Poster)

BonaRes Conference, 16-17 Juni 2021: Yijie Shi, Iris Zimmermann, Tobias Stürzebecher, Michaela Dippold, Sandra Spielvogel “Cover Crop C Allocation: Key Pore C Properties and Distribution” (Poster)

63. Tagung der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften e. V. 2021: CLOSING THE CYCLE: Pflanze und Tier im Agrarsystem, Rostock, 28. bis 30. September: Holzhauser, K., Kage, H. „Effekte tiefwurzelnder Zwischenfruchtmischungen auf das Wurzelwachstum von Mais.“ (Poster)

Folgende Publikationen wurden bisher veröffentlicht (weitere sind in Vorbereitung):

Bukowiecki, J., Rose, T., Holzhauser, K., Rothardt, S., Rose, M., Komainda, M., Herrmann, A., Kage, H. (2024). UAV-based canopy monitoring: calibration of a multispectral sensor for green area index and nitrogen uptake across several crops. *Precision Agric* 25, 1556–1580 <https://doi.org/10.1007/s11119-024-10123-2>

Holzhauser, K., Rübiger, T., Rose, T., Kage, H., Kühling, I. (2022): Estimation of Biomass and N Uptake in Different Winter Cover Crops from UAV-Based Multispectral Canopy Reflectance Data. *Remote Sens.* 14, 14(18):4525. <https://doi.org/10.3390/rs14184525>

Holzhauser, K., Kage, H. (2022): Verbesserte Ressourcennutzung durch tiefwurzelnde Zwischenfruchtmischungen? *Fachzeitschrift Mais* 4/2022 (49. Jg.)

## 1.7 Literatur

- Bretz, Frank, et al. "Graphical approaches for multiple comparison procedures using weighted Bonferroni, Simes, or parametric tests." *Biometrical Journal* 53.6 (2011): 894-913.
- Bukowiecki, Josephine, et al. "UAV-based canopy monitoring: calibration of a multispectral sensor for green area index and nitrogen uptake across several crops." *Precision Agriculture* 25.3 (2024): 1556-1580.
- Finney D.M. et al. (2016): Biomass production and carbon/nitrogen ratio influence ecosystem services from cover crop mixtures. *Agronomy Journal* 108, 39–52.
- Gentsch N. et al. (2020): Catch crop diversity increases rhizosphere carbon input and soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 56, 943-957.
- Gentsch N. et al. (2022): Soil nitrogen and water management by winter-killed catch crops. *Soil* 8, 269-281.
- Heuermann D. et al. (2019): Interspecific competition among catch crops modifies vertical root biomass distribution and nitrate scavenging in soils. *Scientific Reports* 9, 11531.
- Kage, H., M. Kochler, and H. Stützel. "Root growth of cauliflower (*Brassica oleracea* L. botrytis) under unstressed conditions: Measurement and modelling." *Plant and Soil* 223.1 (2000): 133-147.
- Kühling, Insa, et al. "Effects of winter cover crops from different functional groups on soil-plant nitrogen dynamics and silage maize yield." *European Journal of Agronomy* 148 (2023): 126878.
- Pinheiro, José C., und Douglas M. Bates. "Linear mixed-effects models: basic concepts and examples." *Mixedeffects models in S and S-Plus* (2000): 3-56.
- Seethepalli, Anand, et al. "RhizoVision Explorer: Open-source software for root image analysis and measurement standardization." *AoB plants* 13.6 (2021): plab056.
- Wienforth, Babette Maria. *Cropping systems for biomethane production: a simulation based analysis of yield, yield potential and resource use efficiency*. Diss. Inst. für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, CAU Kiel, 2011.