GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Abschlussbericht

Rhizo4Bio (Phase 1): RhizoWheat – Rhizosphärenprozesse und Ertragsdepressionen in Weizenfruchtfolge, TP C

Zuwendungsempfänger

Verein der Zuckerindustrie e. V. -
Institut für Zuckerrübenforschung

Verantwortliche Autoren

Dr. Heinz-Josef Koch
Dr. Dennis Grunwald

Förderkennzeichen

FKZ 031B091C

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen FKZ 031B091C gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Rhizo4Bio (Phase 1)

Rhizosphärenprozesse und Ertragsdepressionen in Weizenfruchtfolgen (RhizoWheat)

Schlussbericht

Förderkennzeichen:	Teilvorhaben 3: 031B0910C
Zuwendungsempfänger:	Teilvorhaben 3: Verein der Zuckerindustrie e.V., Institut für Zuckerrübenforschung

Ausführende Stelle:

Teilvorhaben 1 (CAU-Ag)	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung Hermann-Rodewald-Str. 9 24118 Kiel
Teilvorhaben 1 (CAU-Phyt)	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Phytopathologie Hermann-Rodewald-Str. 9 24118 Kiel
Teilvorhaben 2 (FZJ)	Forschungszentrum Jülich GmbH Institut für Bio- und Geowissenschaften, Agrosphäre (IBG-3) Wilhelm-Johnen-Straße 52428 Jülich
Teilvorhaben 3 (IFZ)	Verein der Zuckerindustrie e. V. - Institut für Zuckerrübenforschung (IfZ) Holtenser Landstraße 77 37079 Göttingen
Teilvorhaben 4 (JKI)	Julius-Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) Erwin-Baur-Str. 27 06484 Quedlinburg
Laufzeit & Berichtszeitraum	01.03.2020 bis 29.02.2024

I. Kurzbericht

I.1 Ziele und Aufgabenstellung

Weizen ist weltweit die wichtigste Grundnahrungsmittelpflanze in Bezug auf die Anbaufläche. Der jahrzehntelange lineare Ertragsanstieg ist jedoch in vielen Ländern beendet, d.h. die Weizenerträge in Hochertragsregionen stagnieren, und derzeit ist der weltweite Anstieg der Weizenproduktion geringer als das globale Bevölkerungswachstum. Ein kürzlich durchgeführtes Projekt (BMBF-IPAS/BRIWECS) zeigte, dass der Zuchtfortschritt für Weizen in Bezug auf den Ertrag selbst unter ungünstigen Umweltbedingungen weiterhin linear ist. Dies führte zu der Hypothese, dass neben dem Klimawandel der zunehmende Anteil von Weizenselbstfolgen ein Haupttreiber für den Rückgang der durchschnittlichen Weizenerträge ist. Die in Weizenselbstfolgen deutlich geringere Stickstoffnutzungseffizienz und die dort stärkeren Ertragsrückgänge unter Trockenstressbedingungen wurden bislang oft und ausschließlich auf den bodenbürtigen Schaderreger *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Ggt, Take-All, Schwarzbeinigkeit) zurückgeführt, der zu einer frühzeitigen Seneszenz der Weizenwurzelsysteme führt. Jedoch wurden Ertragsrückgange in Weizenselbstfolge auch ohne die typischen sichtbaren Symptome der Schwarzbeinigkeit beobachtet. Dies führt zu der Frage, ob die Ertragsrückgänge eine Folge des erhöhten Wurzelabsterbens, oder auch von Vorfruchteffekte auf die mikrobiellen N-Immobilisierung innerhalb oder außerhalb der Rhizosphäre, oder auf das Bodenmikrobiom sind.

Die Ziele dieses Projekts bestanden daher darin, a) die wesentlichen Prozesse zu klären und zu quantifizieren, die den Ertragsrückgang von Weizenselbstfolgen im Vergleich zu Weizen nach Blattfrüchten (z.B. Raps) verursachen, wobei der Schwerpunkt auf den Rhizosphärenprozessen lag, b) modellbasiert die Vorhersage des Ertragsrückgangs als Funktion des initialen Bodenmikrobioms und Umweltfaktoren zu ermöglichen. Dies soll die Identifikation von Managementoptionen für Züchter oder Landwirte ermöglichen um den Vorfrucht-verursachten Ertragsrückgang in der Weizenproduktion zu reduzieren.

I.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Ein gesundes Wurzelsystem ermöglicht Weizen eine vergleichsweise hohe Stickstoffnutzungs- und Wasseraufnahmeeffizienz (NUE/WUE) (King et al., 2003). Beide Effizienzen nehmen jedoch nach einer Infektion mit Ggt deutlich ab (Pillinger et al., 2005; Macdonald und Gutteridge, 2012). Zudem kann davon ausgegangen werden, dass Fruchtfolge-bedingte Veränderungen der Wurzelmorphologie die Nährstoffaufnahme und somit die Nährstoffnutzungseffizienz beeinflussen (Kohl et al., 2007). Bisher ist nur unzureichend verstanden, inwieweit morphologische Veränderungen der Wurzeln, die durch Krankheiten wie Schwarzbeinigkeit hervorgerufen werden, zu Veränderungen in den Wasseraufnahmemustern führen (Schneider und Lynch, 2018). Mittels kürzlich entwickelter Techniken zur zerstörungsfreien Überwachung der isotopischen Zusammensetzung des Bodenwassers (Rothfuss et al., 2013; Volkmann et al., 2014) und entsprechender Modellierungswerkzeuge (Javaux et al., 2008; Couvreur et al., 2012; Schnepf et al., 2018) kann nun jedoch die Wasseraufnahme über die gesamte Dauer eines Feld- oder Rhizobox-Experiments quantifiziert werden.

Die schädlichen Auswirkungen eines vorhergehenden Weizenanbaus auf die Genexpression und Regulation von nachfolgendem Weizen sind weitgehend unbekannt. Epigenetische Modifikationen können jedoch einen dynamischen und reversiblen Mechanismus zur Regulation der Genexpression/Pflanzenleistung darstellen und als Schnittstelle zwischen Umweltwahrnehmung und entsprechenden Veränderungen in der Genexpression wirken (Boyko et al., 2011, López und Wilkinson, 2015; Shen et. al., 2018). Zudem gibt es Hinweise auf schädliche Auswirkungen des Rhizosphärenmikrobioms auf die WUE und NUE in Weizenselbstfolgen, in Interaktion mit den standortspezifischen Boden- und Klimabedingungen (Pillinger et al., 2005). Des Weiteren führt der Anbau von Weizen nach Weizen zu einer signifikanten Verschiebung der Bakteriengemeinschaft in der Weizen-Rhizosphäre (Donn et al., 2015), die zum beobachten Ertragsrückgang beitragen könnten.

Umfassende Wachstumsmodelle (Weir et al., 1984; Ritchie und Otter, 1985) werden weit verbreitet zur Vorhersage des Weizenertrags und der Ernährungssicherheit unter dem Einfluss des Klimawandels eingesetzt (Asseng et al., 2013). Biostressfaktoren wurden jedoch selten in Wachstumsmodelle für Kulturen integriert (Willocquet et al., 2008). Studien zur Modellierung des Take-All-Infektionsprozesses auf Weizen (Gilligan, 1994) und der Auswirkungen von reduzierter Wurzellängendichte und -lebensdauer auf die Wasser- und Stickstoffaufnahme (Kohl et al., 2007) lassen dies nun jedoch möglich erscheinen.

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Im Rahmen umfangreicher Feld- und Rhizoboxexperimente (Arbeitspaket (AP), engl. Working Package (WP) 1) wurde der Effekt der Fruchtfolgestellung auf Wurzelwachstum und -seneszenz (WP2) analysiert. Zudem wurde untersucht, ob sich das Mikrobiom und die Genexpression im Weizenanbau auf Grund der Vorfrucht verändern (WP3), inwiefern es Effekte auf die Kohlenstoff- und Stickstofftransformation in der Rhizosphäre gibt (WP4) und es Unterschiede in der Pflanzenwasseraufnahmen gibt (WP5). Bestandestemperatur-Messungen wurden als alternativer Ansatz zur Quantifizierung des Trockenstresses untersucht. Die im Projekt gewonnenen Erkenntnisse und erhobenen Daten wurden zur Weiterentwicklung der Wurzelwachstumskomponente eines bereits bestehenden Weizenwachstumsmodells genutzt (WP6). Eine Datenbank historischer Feldversuchsergebnisse zu fruchtfolgebedingten Ertragseffekten im Winterweizen wurde als Evaluationsgrundlage für modellbasierte Szenarienrechnungen zusammengestellt.

I.4 Wesentliche Ergebnisse

Am Versuchsstandort Harste konnte der Ertragsrückgang von Weizen nach Weizen im Vergleich zu nach Raps angebautem Weizen bestätigt werden. Das Auftreten dieses Ertragsrückgangs war grundsätzlich unabhängig von einer Infektion mit der Schwarzbeinigkeit bei der Weizenselbstfolge, wurde aber durch eine Infektion noch verstärkt. Somit scheint es jenseits des Schwarzbeinigkeitsbefalls noch andere, den Ertrag beeinflussende Faktoren bezüglich der Vorfrucht vor Weizen zu geben. Weiter wurde ein Ertragsunterschied zwischen einem Stoppelweizen und einem Weizen in Daueranbau (seit 2006) wiederum nur in einem Jahr mit starkem Schwarzbeinigkeitsbefall (2021) gefunden. Hier scheint der Befall als hauptsächliche Differenzierungsursache zwischen den beiden Varianten.

Als mögliche Ursachen für geringere Erträge in der Weizenselbstfolge (Stoppel- wie Dauerweizen zusammengefasst) neben dem Krankheitsdruck wurde zunächst die Bodenstruktur im Frühjahr untersucht. Hier gab es allerdings keinerlei nennenswerte Unterschiede zwischen den Varianten, obwohl zu diesem Zeitpunkt bereits ein Unterschied in der oberirdischen Biomasse zu sehen war. Möglicherweise gab es bezüglich der zeitlich stark variablen Bodenstruktur zur Aussaat des Weizens vor Winter noch vorfruchtbedingte Unterschiede, die durch die Winterwitterung nivelliert wurden, vorher allerdings bereits einen Effekt auf das Pflanzenwachstum hatten.

Weiter wurde die Wurzellängendichte des Weizens im April und Juni untersucht. Im April gab es hierbei, ähnlich wie bei der Bodenstruktur, keine Unterschiede zwischen den Varianten. Im Juni hingegen konnte in allen drei Versuchsjahren ein deutlich positiver Effekt der Vorfrucht Raps auf die Wurzellänge des Weizens im Unterboden (30-120 cm) gefunden werden. Somit gibt es ähnliche Vorfruchteffekte hinsichtlich Wurzellänge und oberirdischer Biomasse bzw. Ertrag, die Kausalität ist hier allerdings nicht geklärt. So könnte eine stärkere Durchwurzelung für ein besseres Pflanzenwachstum insgesamt sorgen oder umgekehrt.

Schließlich wurde im Zuge der Wurzeluntersuchungen für dieses Projekt mit der Minirhizotronmethodik ein alternativer Ansatz zur Wurzelanalyse kritisch betrachtet und weiterentwickelt. Hierzu wurde eine bestehende Methodik zur Analyse von Wurzelbildern anhand eines großen, im Rahmen des Projektes gewonnenen Datensatzes weiterentwickelt und erfolgreich auf Weizenwurzeln angepasst. Weiter wurden die Ergebnisse aus Minirhizotronuntersuchungen mit den destruktiv gewonnen Daten verglichen. Im Unterboden gab es eine gute Übereinstimmung beider Methoden, sofern aus dem Einbau

der Röhren resultierende Lücken vor Messbeginn gefüllt werden und es nicht zu gravierenden Trockenperioden kommt, wohingegen im Oberboden keine Übereinstimmung gefunden wurde und Zweifel an der Verlässlichkeit der Minirhizotrondaten aufkamen.

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen des Vorhabens bestand aufgrund der holistischen Herangehensweise, der komplexen Fragestellungen und des hohen organisatorischen Aufwandes in der Durchführung der Versuche eine enge Zusammenarbeit mit allen Partnern. Die Probenahmen der verschiedenen Partner in dem für das Projekt genutzten Feldversuch wurden unterstützt bzw. für sie ausgeführt. Erhobene Daten und Ergebnisse wurden entsprechend einer zu Projektbeginn geschlossenen Vereinbarung miteinander geteilt.

II. Eingehende Darstellung

II.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

AP 1 Feld- und Rhizobox Experimente, Koordination & Datenmanagement

Task 1.1: Feldversuche (CAU-Ag, IfZ)

Auf dem Versuchsgut Hohenschulen der CAU wurden 2 Versuche für Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Versuch 1 wurde 1989 angelegt und beinhaltet die Versuchsfaktoren a) Vorfrucht (1., 2., 3. Weizen nach 3 Jahren Gesundungsfrucht), b) Sorte (3 Sorten) und c) N-Düngung (4 Stufen) (Abbildung 1); Versuch 2 mit dem Faktor Vorfrucht (1.-4. Weizen ab Versuchsjahr 2). Die Untersuchungen wurden schwerpunktmäßig im 1. und 3. Weizenjahr (W1 bzw. W3) durchgeführt. Bei Versuch 2 handelt es sich um einen umfangreicheren Fruchtfolgeversuch, in dem eine von 4 Fruchtfolgen (Raps/Weizen/Ackerbohne/Weizen/Weizen) so umgestellt wurde, dass nach Winterraps 4 Weizenjahre folgen (Raps/Weizen/Weizen/Weizen/Weizen). Durch 5 unterschiedliche N-Düngungsstufen in jedem Jahr lassen sich Effekte der Selbstfolge auf die Stickstoffeffizienz untersuchen.

Durch die Covid-Pandemie wurde in Feldversuch 1 in 2020 ein reduziertes Messprogramm durchgeführt.

Die Messungen in Feldversuch 2 konnten durch die notwendige Fruchtfolgeumstellung erst in 2021 beginnen. Aus diesem Grund lag der Fokus der Datenerhebung in beiden Versuchen auf den Versuchsjahren 2021 und 2022. Im Versuchsjahr 2023 wurde in Feldversuch 1 kein Messprogramm und in Feldversuch 2 ein leicht reduziertes Messprogramm durchgeführt (kein Einbau von Minirhizotronröhren). In den Versuchsjahren 2020 (nur Feldversuch 1), 2021, 2022 und 2023 (nur Feldversuch 2) wurden die Messungen wie im Projektantrag vorgesehen durchgeführt: Mittels Drohnenbefliegung wurden regelmäßig (14-tägig) Spektralaufnahmen von den Versuchen gemacht. Thermalaufnahmen wurden unter warmen und trockenen Witterungsbedingungen durchgeführt. Der Bodenwassergehalt wurde in der relevanten Phase (Anfang April bis Ende Juli) wöchentlich mittels eines FDR-Rohrsonden-Systems (Diviner-2000) gemessen. Mit Hilfe von Minirhizotronröhren wurden zwischen Januar und Juli in den Versuchsjahren 2021 und 2022 in beiden Feldversuchen zu sechs bzw. sieben Terminen, Wurzelaufnahmen gemacht. Destruktive Biomassebestimmung wurden an drei Terminen (BBCH 32, 59 & 72) durchgeführt. Kurz vor der Ernte wurden Wurzelproben zur Bestimmung des Befalls mit Schwarzbeinigkeit genommen. Zur Ernte wurde der Ertrag aller Parzellen mittels Parzellendrusch ermittelt und die Ertragskomponenten durch eine zusätzliche Handernte ermittelt. N_{min} wurde zu Vegetationsende, Vegetationsbeginn und zur Ernte mittels Bodenbeprobung erfasst. Zusätzlich wurden zu Projektbeginn Boden-C-Gehalte bestimmt.

Ein dritter Versuch (Versuch 3) wurde 2021, 2022 und 2023 in einer Rollhausanlage auf dem Versuchsgut Hohenschulen angelegt (Abbildung 1). Das verschiebbare Dach dieser Anlage ermöglicht die Erzeugung von Trockenstressbedingungen. Hier wurde Weizen in Selbstfolge und Weizen nach Ackerbohne mit optimaler Bewässerung und unter Trockenstress getestet. Zusätzlich zu dem auf Versuch 1 & 2 durchgeführten Messprogramm lag der Fokus auf der Erfassung des Trockenstresses durch zeitlich hochaufgelöste Bestandestemperaturmessungen und Messungen des Stomataschlusses.

Abbildung 1 Versuchsanlagen 1 und 3 auf dem Versuchsgut Hohenschulen.

Die Daten aus den Feldversuchen wurden in der gemeinsam zugänglichen Datenablage in Form von „flat-file format“ Textdateien gespeichert.

Der Kornertrag in Versuch 1 in Kiel war in allen drei Jahren in W3 in beiden N-Stufen reduziert, jedoch mit unterschiedlicher Intensität (Abbildung 2). Der visuell bonitierte Schwarzbeinigkeitsbefall war in W3 signifikant erhöht (Abbildung 2). Die N-Düngung hatte keinen Einfluss. Der Ertragsabfall war in 2020 am geringsten, wohingegen der Befall höher war im Vergleich zu den anderen Jahren. Im Jahr 2021 war der Befall trotz nassem Frühjahr niedrig, der Ertragsabfall aber höher. Die ungedüngte W3 Variante in 2022 zeigte den höchsten Befall und den geringsten Ertrag (Abbildung 2).

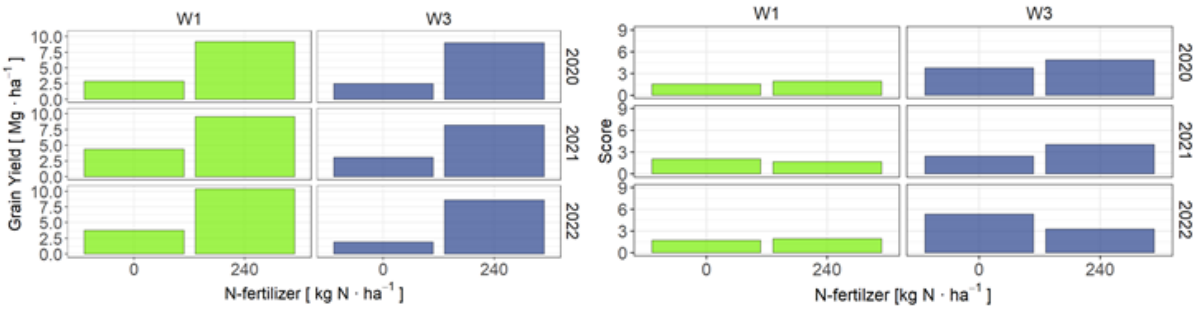


Abbildung 2 Kornertrag (links) und visuell bonitierter Befall von Schwarzbeinigkeit anhand einer Skala nach Mielke, (1974) (rechts) von Weizen nach Raps (W1) und Weizen im dritten Jahr in Selbstfolge (W3) in den drei Versuchsjahren gedüngt und optimal gedüngt in Versuch 1 auf dem Versuchsgut Hohenschulen.

Der zweite Versuchsstandort befand sich bei Harste, nahe Göttingen, wo seit 2006 ein Langzeitfruchtfolgeversuch (Systemversuch Fruchtfolge) vom IfZ betrieben wird. Für das Projekt wurden zwei Fruchtfolgen des Versuchs genutzt: eine seit Versuchsbeginn bestehende Weizenmonokultur sowie eine sechsjährige Fruchtfolge, in der auf Raps zweimal Weizen folgt, also der erste und zweite Weizen nach Blattfrucht Raps untersucht werden kann. Als zusätzliche Variation wurde der Weizen entweder optimal oder nicht mit Stickstoff gedüngt. Neben dem spezifischen Messprogramm für andere Arbeitspakete (siehe unten) wurden die allgemeinen Parameter Kornertrag und Tausendkornmasse, Ährendichte, Kornprotein, Grünflächenindex (zweiwöchentlich während der Vegetationsperiode, Schätzung aus spektralen Reflektionsdaten), Biomasse und C/N-Konzentrationen an drei Zeitpunkten, Menge und C/N-Konzentration der Ernterückstände sowie Boden-N_{min} zu drei Zeitpunkten (Vegetationsbeginn, Vegetationsende, nach Ernte) wie geplant für die drei Versuchsjahre 2020, 2021 und 2022 erhoben. Zudem wurden die Boden-C-Gehalte der Parzellen wie geplant 2020 und zusätzlich 2022 erhoben.

Die grundlegenden pflanzenbaulichen Parameter für den Versuch in Harste wurden zu großen Teilen in Arnhold et al. (2023a) veröffentlicht. Der Kornertrag war dabei in jedem Untersuchungsjahr gemittelt über die beiden N-Stufen am höchsten für den Rapsweizen, wohingegen es zwischen Stoppel- und Dauerweizen nur in einem Jahr einen signifikanten Unterschied gab (Abbildung 3 links). Im betroffenen Untersuchungsjahr 2021, das überdurchschnittlich feucht war und damit einen Kontrast zu den eher

trockenen Versuchsjahren 2020 und 2022 bildete, wurde ein insgesamt starker Schwarzbeinigkeitsbefall im Versuch festgestellt, dessen unterschiedliche Intensität in den verschiedenen Fruchtfolgepositionen die Ertragsunterschiede in diesem Jahr gut erklären konnte (Abbildung 3 rechts). 2022 wiederum wurde kein Schwarzbeinigkeitsbefall festgestellt.

Somit lässt sich festhalten, dass der Ertragsvorteil von Raps als Vorfrucht zu Weizen unabhängig von dem durch Wurzelbonitur quantifizierbaren Krankheitsdruck zu bestehen scheint, der überwiegend auf den in Weizenselbstfolgen typischen Befall mit Schwarzbeinigkeit zurückzuführen ist. Es erscheint somit möglich, dass auch nicht-phytopathologische Ursachen für den Ertragsrückgang in Weizenselbstfolgen ursächlich sein könnten.

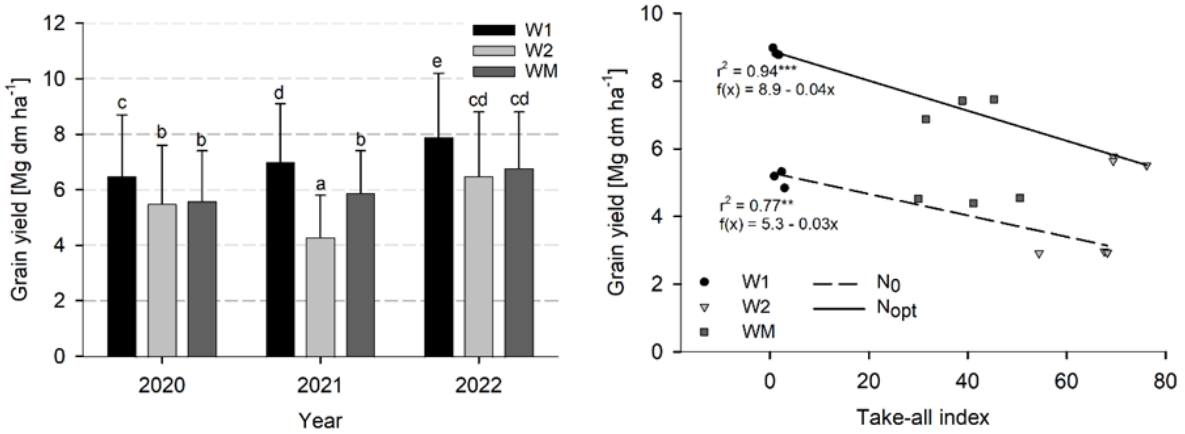


Abbildung 3 Links: Kornertrag von Weizen nach Winterraps (W1) sowie nach Weizen als Stoppelweizen (W2) oder Weizenmonokultur (WM) in den drei Untersuchungsjahren gemittelt über die beiden N-Düngungsstufen. Gezeigt sind Mittelwerte (n = 6) mit Standardabweichungen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante (p<0,05) Unterschiede. Rechts: Zusammenhang zwischen Schwarzbeinigkeitsbefall (bonitiert als Take-all index) und Kornertrag für das Untersuchungsjahr 2021, getrennt dargestellt für optimale und ohne N-Düngung. Abbildungen aus Arnhold et al. 2023a.

Task 1.2: Rhizobox-Experimente (FZJ)

Rhizoboxexperiment 1 (Tasks 1.2, 2.2, 3.2, 4.3)

In diesem Versuch untersuchten wir, wie sich die Fruchtfolgepositionen von Winterweizen auf die pflanzeninterne Allokation von frisch assimiliertem Kohlenstoff (C) in ober- und unterirdische Pflanzenteile sowie in Wurzelexsudate, einer Energiequelle für Bodenmikroben, auswirken und dadurch das Bodenmikrobiom beeinflussen. Dies war vor Beginn des Vorhabens noch weitgehend unbekannt.

Im Gewächshaus wurde ein Rhizoboxenversuch mit Winterweizen durchgeführt, der in Boden nach Raps (W1), nach einem Jahr Winterweizen (W2) und nach drei aufeinander folgenden Jahren Winterweizen (W4) angebaut wurde. In aufeinanderfolgenden Winterweizen-Fruchtfolgen kam es zu einem starken Biomasse- und Ertragsrückgang (Abbildung 4d), der von deutlichen Veränderungen im Wurzelwachstum begleitet wurde (Abbildung 5).

Mithilfe eines neuartigen experimentellen Ansatzes, der die Echtzeit-Quantifizierung von $^{13}CO_2$ aus der Wurzelatmung nach $^{13}CO_2$-Pulsmarkierung verwendet, konnten wir zeigen, dass die Vorgängerkulturen die ober- und unterirdische C-Allokation in Winterweizen stark beeinflussen. Unseres Wissens ist dies das erste Mal, dass eine solche zerstörungsfreie Echtzeit-Methode eingesetzt wurde, um den Verbleib von photosynthetisch assimilierten C in Winterweizen zu verfolgen und die Auswirkungen der Vorfrüchte auf den Boden und die nachfolgende Kultur zu verstehen.

Wir verwendeten ein automatisches Probenahmesystem auf der Basis von gaspermeablen Schläuchen, um den ^{13}C-Überschuss der Bodenatmung in sechs Tiefen und zu fünf verschiedenen Zeitpunkten zu messen. In W1 wurde im Vergleich zu W4 ein höherer ^{13}C-Überschuss in der Bodenatmung gemessen, insbesondere im Oberboden in späteren Wachstumsstadien (Abbildung 6). Unsere Studie zeigte erstmals einen Mechanismus auf, durch den die Fruchtfolgeposition von Winterweizen die Verteilung von frisch assimiliertem C oberirdisch und im Boden beeinflusst. Winterweizen nach Raps hielt die unterirdische Allokation von frisch assimiliertem C länger aufrecht als in Selbstfolge angebauter Winterweizen und baute mehr von diesem C in seine Biomasse ein, wohingegen bei aufeinanderfolgenden Winterweizen-Fruchtfolgen weniger ^{13}C aufgenommen wurde (Abbildung 6a+b). Ein höherer ^{13}C-Überschuss des DOC und der mikrobiellen Biomasse wurde ebenfalls in W1 und W4 im Vergleich zu W2 festgestellt (Abbildung 7).

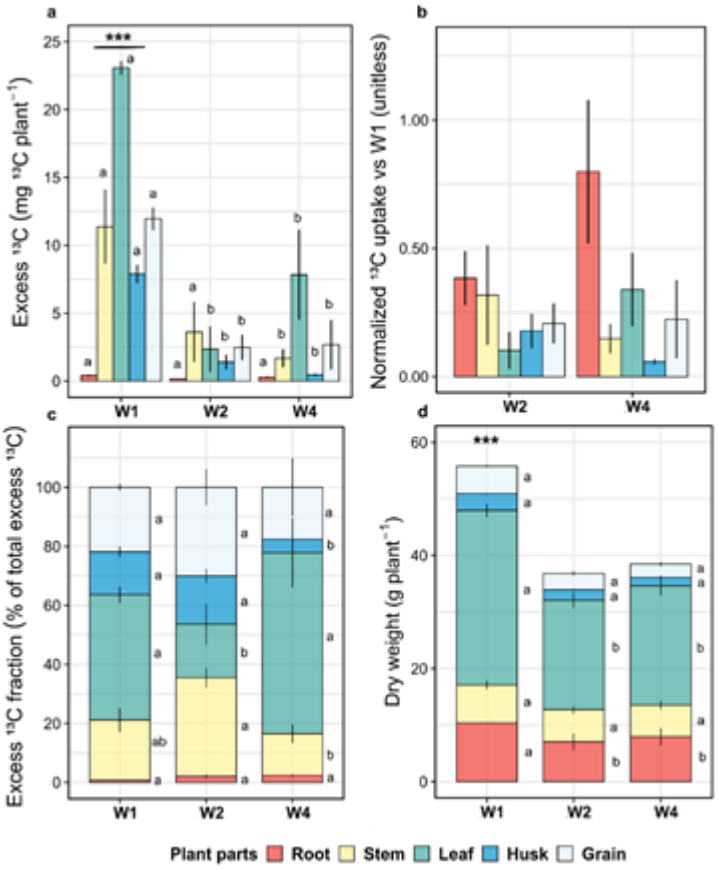


*Abbildung 4 (a) Absoluter ^{13}C-Überschuss, (b) normalisierte ^{13}C-Aufnahme von W2 und W4 im Vergleich zu W1, (c) relativer ^{13}C-Überschussanteil und (d) Trockengewicht von Wurzeln, Stängeln, Blättern, Spelzen und Körnern von drei Fruchtfolgepositionen von Winterweizen im Stadium der Kornreifung (BBCH 92). W1 = erster Weizen, W2 = zweiter Weizen und W4 = vierter Weizen nach Raps. Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen über alle Pflanzenteile mit *p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01; ***p ≤ 0,001. Innerhalb der einzelnen Pflanzenteile weisen unterschiedliche Kleinbuchstaben auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche hin.*

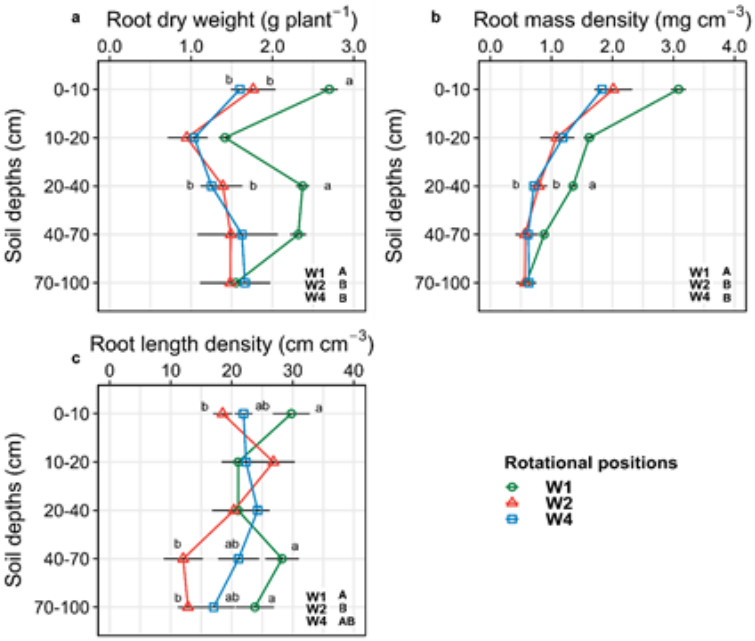


Abbildung 5 Wurzeltrockengewicht (a), Wurzelmassendichte (b) und Wurzellängendichte (c) von drei Fruchtfolgepositionen von Winterweizen im Stadium der Kornreife (BBCH 92). W1 = erster Weizen, W2 = zweiter Weizen und W4 = vierter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Großbuchstaben in jeder Teilabbildung weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen hin. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen in jeder Bodentiefe auf einem Niveau von $p \leq 0{,}05$ gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche.

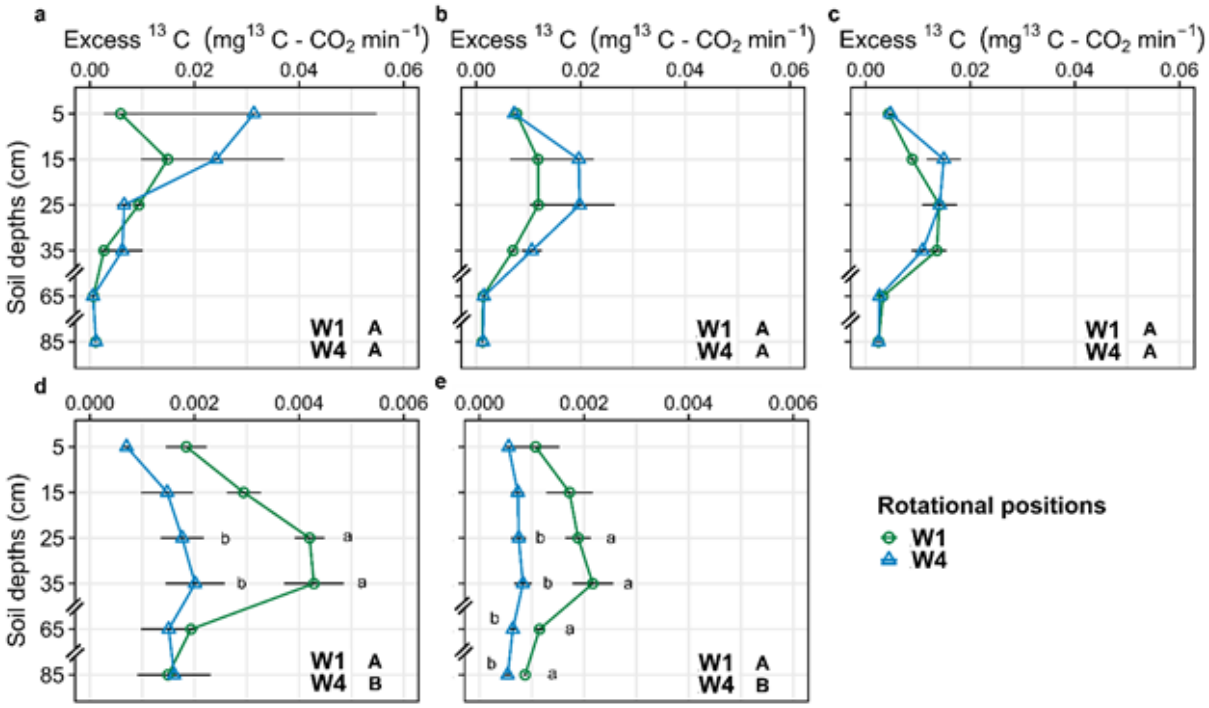


Abbildung 6 Überschüssiges ^{13}C der Bodenatmung in zwei unterschiedlichen Winterweizenfruchtfolgen 0 (a), 1 (b), 2 (c), 10 (d) und 25 (e) Tage nach der Markierung (DAL). Die Pflanzen wurden während der späten Blüte (BBCH 69) markiert. W1 = erster Weizen und W4 = vierter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Großbuchstaben in jeder Teilabbildung weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen hin. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen in jeder Bodentiefe auf einem Niveau von $p \leq 0{,}05$.

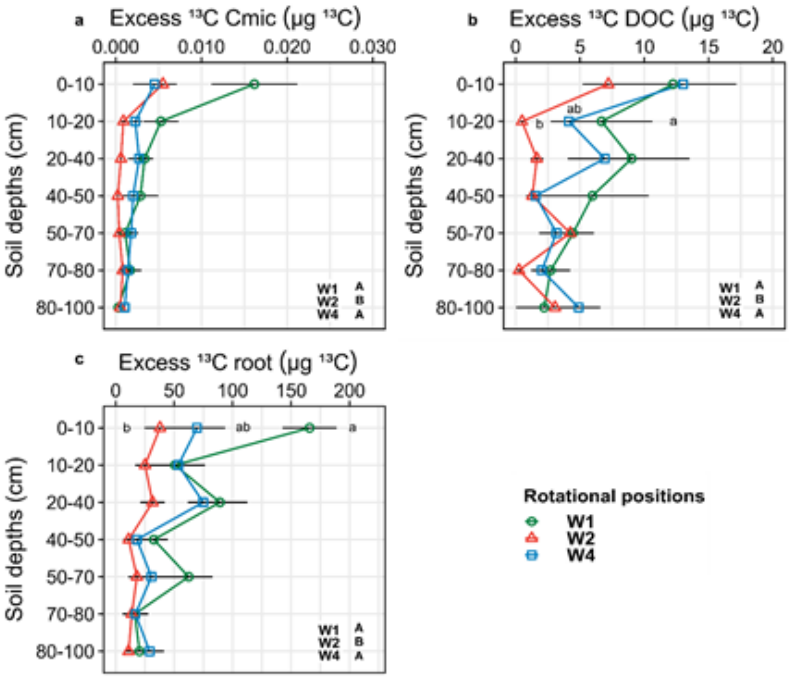


Abbildung 7 Absoluter ^{13}C-Überschuss der (a) mikrobiellen Biomasse C (Cmic), (b) des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) und (c) der Wurzelbiomasse in drei Fruchtfolgepositionen von Winterweizen im Stadium der Kornreife (BBCH 92). W1 = erster Weizen, W2 = zweiter Weizen und W4 = vierter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Großbuchstaben in jeder Teilabbildung weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen hin. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen in jeder Bodentiefe auf einem Niveau von $p \leq 0{,}05$.

Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass die beiden unterschiedlichen Fruchtfolgepositionen W1 und W2 mit signifikanten Unterschieden im mineralischen N-Gehalt des Bodens sowie von Schlüsselenzymen des C- und N-Kreislaufs im Boden einhergingen (Abbildung 8), die letztlich mit einem erhöhten Wurzelwachstum und erhöhten Ertrag in W1 verbunden waren.

Zudem untersuchten wir zusammen mit Partner JKI die Abundanz von Bakterien und Archaeen und deren Dynamik im Boden (Abbildung 9). Als Reaktion auf die geringere N-Verfügbarkeit im Unterboden von W2 zum Zeitpunkt der Aussaat reicherten die Pflanzen ihr Rhizosphärenmikrobiom mit N-fixierenden, nitrifizierenden und denitrifizierenden, also wichtigen, an den N-Umsetzungen des Bodens beteiligten Mikroben an. Dieser Unterschied zwischen W1 und W2 blieb auch bis zum Stadium der Kornreife weitgehend erhalten, gleichzeitig gingen die Pflanzenwuchsleistung und der Kornertrag in W2 im Vergleich mit W1 zurück (Abbildung 10).

Insgesamt deuten unsere Ergebnisse der $^{13}CO_2$-Pulsmarkierung auf eine verstärkte Aufnahme von kürzlich assimiliertem C in die pflanzliche Biomasse von W1 (Winterweizen nach Raps) im Vergleich zu W2 (sukzessiv angebautem Winterweizen) hin. Ein größerer Teil dieses allokierten C wurde direkt durch Wurzelexsudation oder indirekt durch die heterotrophe Nutzung der Wurzelstreu in die mikrobielle Biomasse aufgenommen (Abbildung 7a). Die Ergebnisse unseres Versuchs verdeutlichen die langanhaltende Auswirkung vorangegangener Kulturen auf die N-Verfügbarkeit im Boden und das Wachstum der nachfolgenden Winterweizenkultur und verbessern unser mechanistisches Verständnis des Pflanze-Boden-Feedbacks von unterschiedlichen Winterweizen-Fruchtfolgen im Hinblick auf die ober- und unterirdische Allokation von frisch assimiliertem C. Die erhöhte und anhaltende C-Investition in das Wurzelsystem von W1 wird durch eine höhere und längere allgemeine Pflanzenvitalität überkompensiert, was letztlich zu einem höheren Ertrag führt, wohingegen die geringerer C-Allokation in sukzessiv angebauten Winterweizen zu einer verringerten Wurzelleistung und damit zu einem potenziell geringeren Ertrag führt.

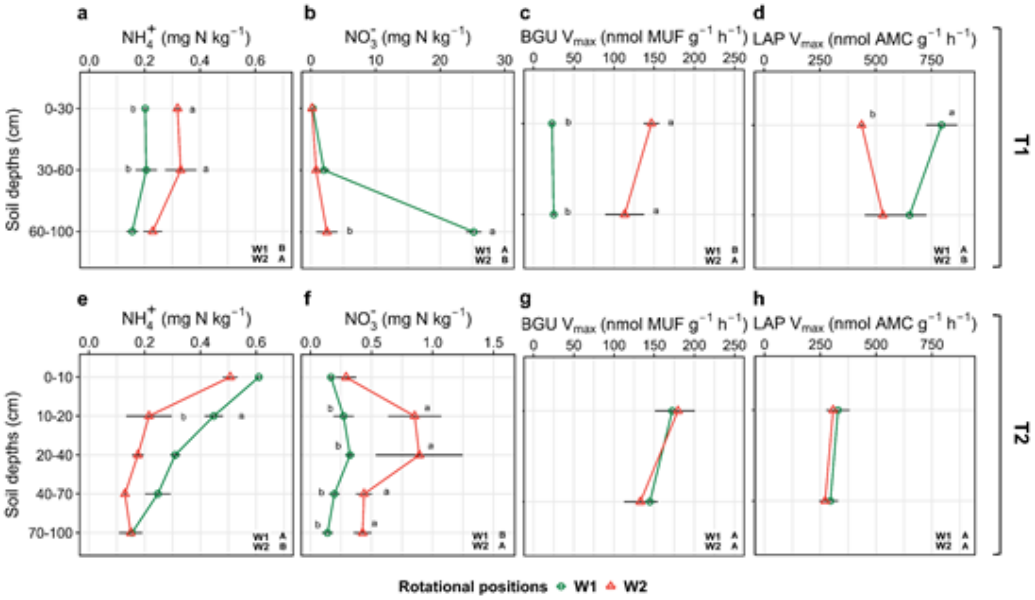


Abbildung 8 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf NH4+-N (a, e), NO3--N (b, f), maximale Geschwindigkeit (Vmax) von β-Glucosidase (BGU; c, g) und Leucin-Aminopeptidase (LAP; d, h) des folgenden Winterweizens zum Zeitpunkt der Bestockung (T1 = BBCH 29) und Kornreife (T2 = BBCH 90). W1 = erster Weizen und W2 = zweiter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Großbuchstaben in jeder Teilfläche weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen hin. Innerhalb jeder Bodentiefe kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05.

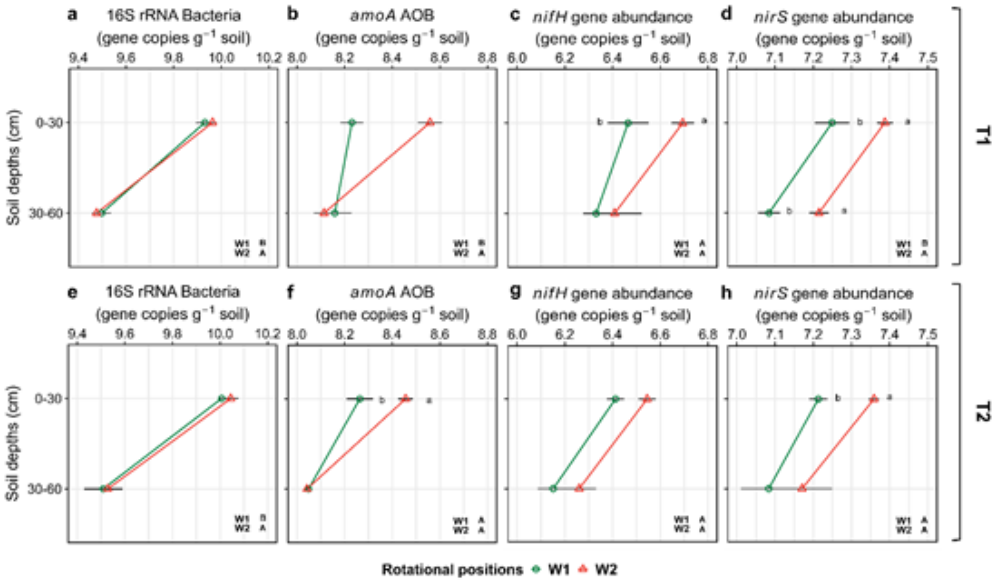


Abbildung 9 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf die 16S rRNA von Bakterien (a, e), die Abundanz des amoA-Gens von Ammoniak-oxidierenden Bakterien (AOB; b, f), die Abundanz des nifH-Gens (c, g) und die Abundanz des nirS-Gens (d, h) im wurzelbeeinflussten Boden des folgenden Winterweizens zum Zeitpunkt der Bestockung (BBCH 29) und der Kornreife (BBCH 90). W1 = erster Weizen und W2 = zweiter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Großbuchstaben in jeder Teilabbildung weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen hin. Innerhalb jeder Bodentiefe kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05.

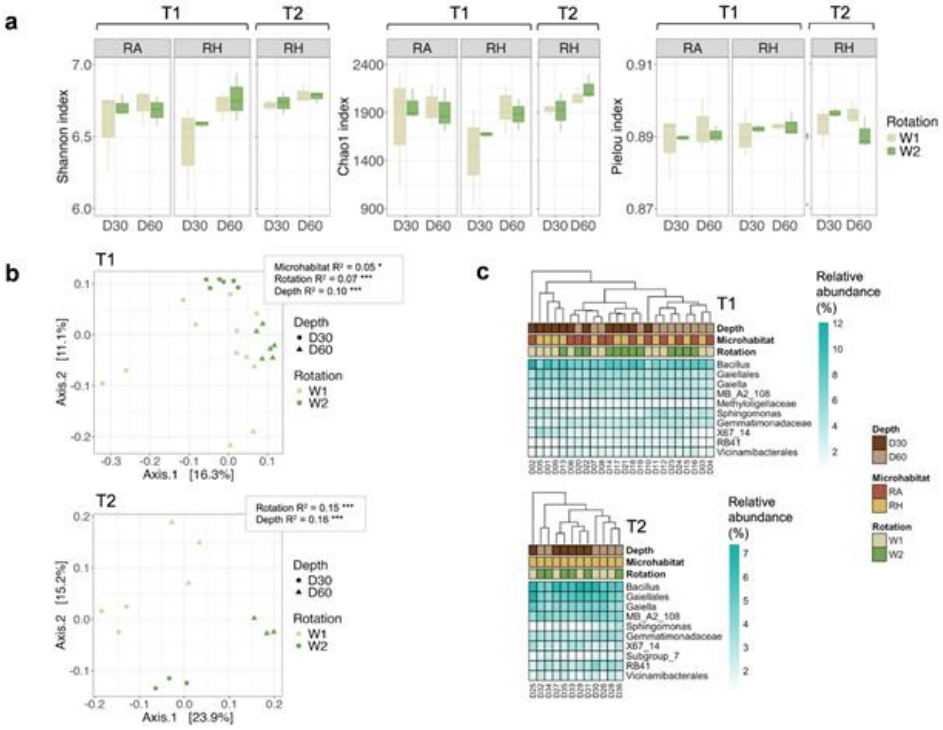


*Abbildung 10 Diversität von Bakterien und Archaeen in zwei Pflanzenentwicklungsstadien (T1 = BBCH 29, Bestockung; T2 = BBCH 92, Kornreife), getrennt nach Bodentiefe (D30, 0-30 cm; D60, 30-60 cm), Mikrohabitat (RA = wurzelbeeinflusster Boden; RH = Rhizosphäre) und Fruchtfolgeposition (W1 = erster Weizen nach Raps; W2 = zweiter Weizen nach Raps), basierend auf 16S rRNA-Genamplikon-Sequenzierungsdaten. (a) Alpha-Diversitätsmetriken, einschließlich Shannon-, Chao1- und Pielou-Diversität (analysiert mit Mann-Whitney-U-Test mit nach der Bonferroni-Methode angepassten p-Werten). Vertikale Balken stellen Standardfehler dar. (b) Beta-Diversität, gemessen mit Bray-Curtis-Dissimilarität und visualisiert durch multidimensionale Skalierung (MDS), mit statistischer Analyse durch PERMANOVA. (c) Relative Häufigkeit der zehn am häufigsten vorkommenden Taxa in T1 und T2. Signifikanzniveaus: * p < 0,05; *** p < 0,001.*

Rhizoboxexperiment 2 (Tasks 1.2, 2.2, 3.2, 4.2)

Wir führten einen weiteren Rhizoboxversuch im Freiland (*Rhizoboxexperiment 2*) mit sandig-lehmigem Ackerboden vom Standort Hohenschulen bei Kiel durch. Winterweizen wurde in Boden nach Raps (W1), nach einer Winterweizen-Saison (W2) und nach drei aufeinanderfolgenden Winterweizenjahren (W4) angebaut. In diesem Versuch wendeten wir zusammen mit den Partnern CAU-Phyt die Methode der Zymographie an, um die räumliche Verteilung und Menge der Freisetzung von Glucose (GLU) in der Rhizosphäre von Winterweizen zu beobachten sowie Veränderungen in der Aktivität der an wichtigen C- und N-Umsetzungen im Boden beteiligten Enzyme β-Glucosidase (BGU) und Leucin-Aminopeptidase (LAP) zu quantifizieren. Zudem wurden verschiedene biochemische und mikrobielle (Partner JKI) Eigenschaften des Bodens und der Rhizosphäre in Abhängigkeit von der Position in der Fruchtfolge (W1, W2 oder W4) gemessen. Wie im ersten Rhizoboxexperiment wiesen W2 und W4 im Vergleich zu W1 ein geringeres Wachstum auf (Abbildung 11).

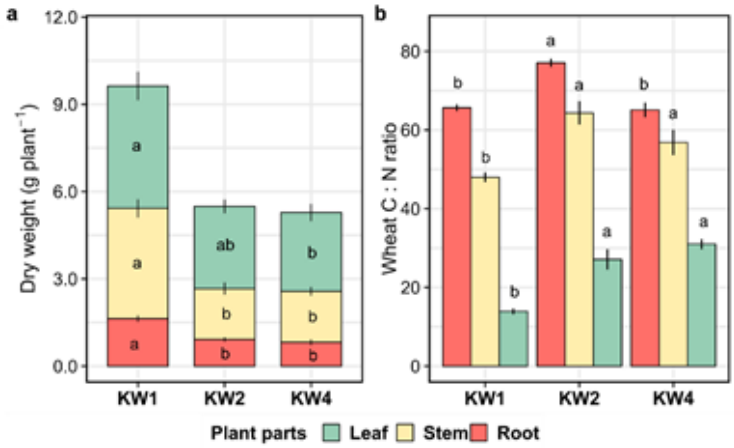


Abbildung 11 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf das Wurzel-, Stängel- und Blatttrockengewicht (a) und das C:N-Verhältnis (b) des folgenden Winterweizens bei Beginn der Stängelstreckung (BBCH 30). KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen. Innerhalb jedes Pflanzenteils kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05.

Die Eigenschaften des Wurzelwachstums zeigten eine starke plastische Reaktion, mit einer höheren Wurzellängendichte, einem höheren mittleren Wurzeldurchmesser und einer geringeren spezifischen Wurzellänge für KW1 im Vergleich zu KW2 und KW4 (Abbildung 12).

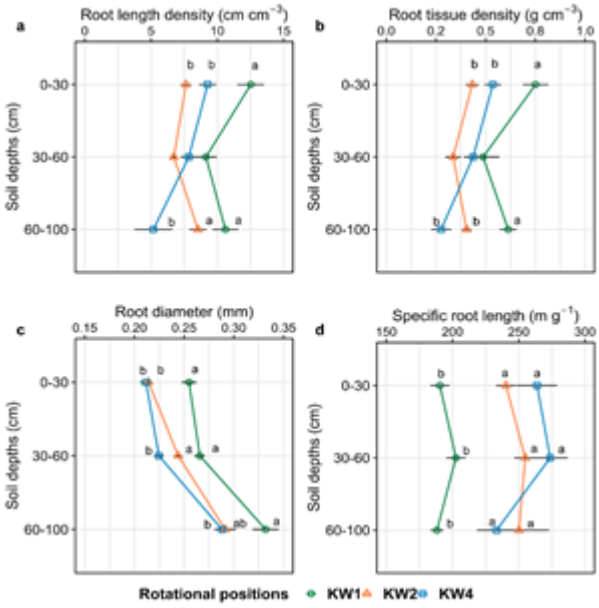


Abbildung 12 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf die Wurzellängendichte (a), die Wurzelgewebedichte (b), den durchschnittlichen Wurzeldurchmesser (c) und die spezifische Wurzellänge (d) des folgenden Winterweizens bei Beginn der Halmstreckung (BBCH 30) in den Bodentiefen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-100 cm). KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen in Kiel, Deutschland. Innerhalb jeder Bodentiefe kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ⩽ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche.

Der Boden von KW1 wies eine geringere mineralische N-Konzentration (Abbildung 13) und mikrobielle Biomasse (Abbildung 14) als KW2 und KW4 auf, was zu einem höheren C:N-Verhältnis führte.

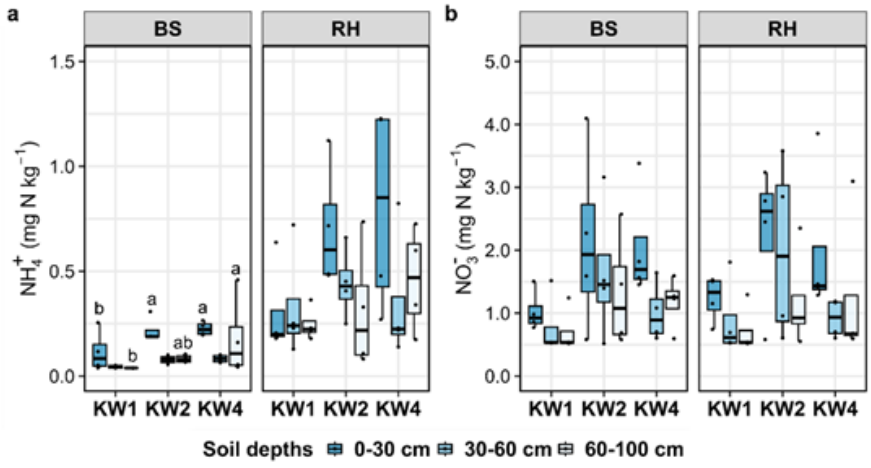


Abbildung 13 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf NH4+-N (a) und NO3--N (b) des nachfolgenden Winterweizens zu Beginn der Halmstreckung (BBCH 30) in den Bodentiefen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-100 cm und zwei Bodenkompartimenten Schüttboden (BS) und Rhizosphärenboden (RH). KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen in Kiel, Deutschland. Innerhalb jeder Bodentiefe und jedes Bodenkompartiments kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche.

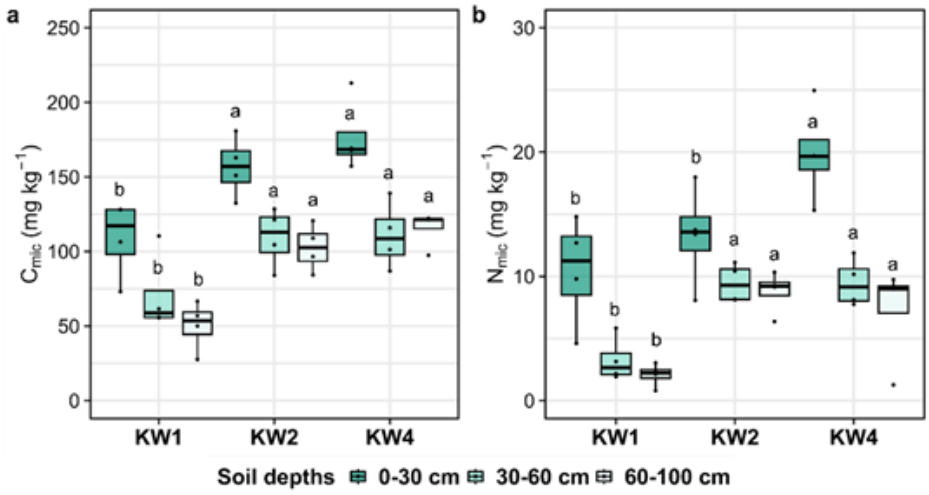


Abbildung 14 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf die mikrobielle Biomasse Kohlenstoff (Cmic, a) und die mikrobielle Biomasse Stickstoff (Nmic, b) des nachfolgenden Winterweizens bei Beginn der Halmstreckung (BBCH 30) in den Bodentiefen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-100 cm. KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen in Kiel, Deutschland. Innerhalb jeder Bodentiefe kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von p ≤ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche.

Die Zymographie zeigte eine größere rhizosphärische Ausdehnung von BGU und LAP im Bodenprofil von KW1 als in KW2 und KW4 (Abbildung 15).

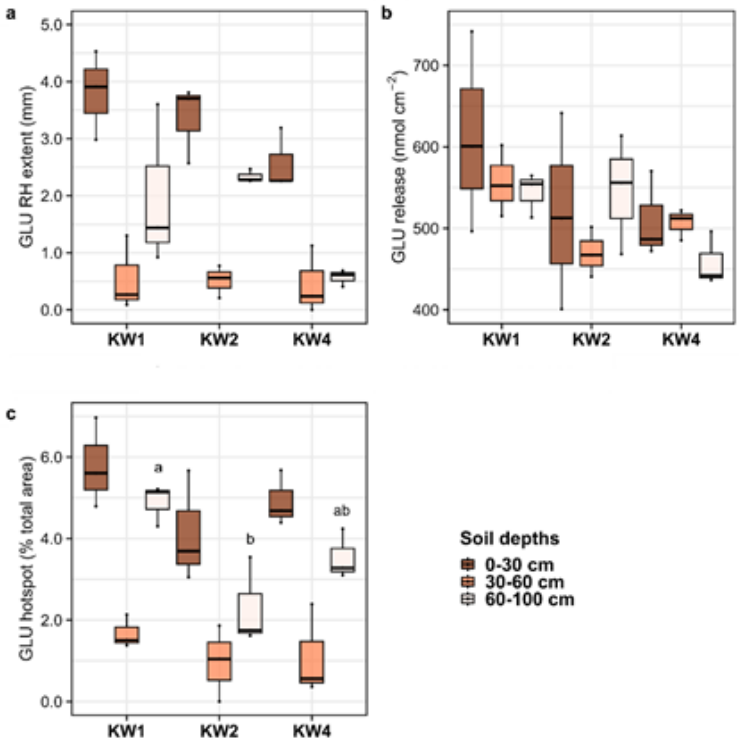


Abbildung 15 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen auf die Ausdehnung der Glukose-Rhizosphäre (RH, a), die Freisetzung (b) und den Hotspot-Anteil (c) des folgenden Winterweizens bei Beginn der Halmstreckung (BBCH 30) in den Bodentiefen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-100 cm. KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen in Kiel, Deutschland. Innerhalb jeder Bodentiefe und jedes Bodenkompartiments kennzeichnen unterschiedliche Kleinbuchstaben signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen auf einem Niveau von $p \leq 0{,}05$ gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche.

Geringerer gelöster organischer Kohlenstoff und Hotspot-Bereiche von GLU in der Rhizosphäre der aufeinanderfolgenden KW führten möglicherweise zu einer Dysbiose mit den Bodenmikroben. KW4 wies einen höheren mikrobiellen Artenreichtum auf als KW1, während die Bodentiefe und die Fruchtfolgeposition den größten Teil der Varianz in den mikrobiellen Bodengemeinschaften erklärten. Actinobacteriota, Proteobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadota und Crenarchaeota waren die am häufigsten vorkommenden Phyla mit deutlichen Unterschieden zwischen den Fruchtfolgepositionen in verschiedenen Bodentiefen.

Rhizoboxexperiment 3 (Tasks 1.2, 2.2, 3.3, 4.2)

Die Rhizoboxen wurden weiterentwickelt, um die Bodentemperatur entlang des Bodenprofils regulieren und damit ein möglichst realistisches (naturnahes) Bodentemperaturprofil einstellen zu können (Abbildung 16). Dies ermöglichte es uns, in Zusammenarbeit mit den Partnern CAU-Phyt und JKI einen Rhizoboxversuch im Freiland durchzuführen, bei dem W1 und W2 mit und ohne Inokulation mit einem pflanzenwachstumsfördernden Bakterium (PGPB) der Gattung Bacillus verglichen wurden. In diesem Versuch waren die Pflanzen den Wetterbedingungen im Freiland ausgesetzt, während die Bodentemperatur auf realistischem Niveau gehalten werden konnte, was die Aussagekraft unserer Ergebnisse erhöhte. Die Pflanzen wurden am Ende der Bestockung geerntet (BBCH 29). Wir haben die Reaktion der Pflanzen auf die PGPB-Inokulation gemessen und die Nährstoffdynamik in der Rhizosphäre und in der Rhizoebene der Wurzeln ermittelt. Die Dynamik des Wurzelwachstums wurde mit WinRhizo gemessen. Die Datenanalyse für diesen Versuch ist noch nicht abgeschlossen.

Abbildung 16 *Links: Winterweizen, wachsend in den neu entwickelten Rhizoboxen, die eine realistische Einstellung des Bodentemperatur-profils und damit Freilandversuche unter realistischen Witterungsbedingungen ermöglichen. Rechts: Zymogramm, welches in diesem Versuch im Wuchsstadium BBCH 29 angefertigt wurde.*

KW2 wies im Vergleich zu KW1 eine geringere Pflanzenbiomasse auf, analog zu den Rhizoboxenexperimenten 1 und 2 (Abbildung 17a).

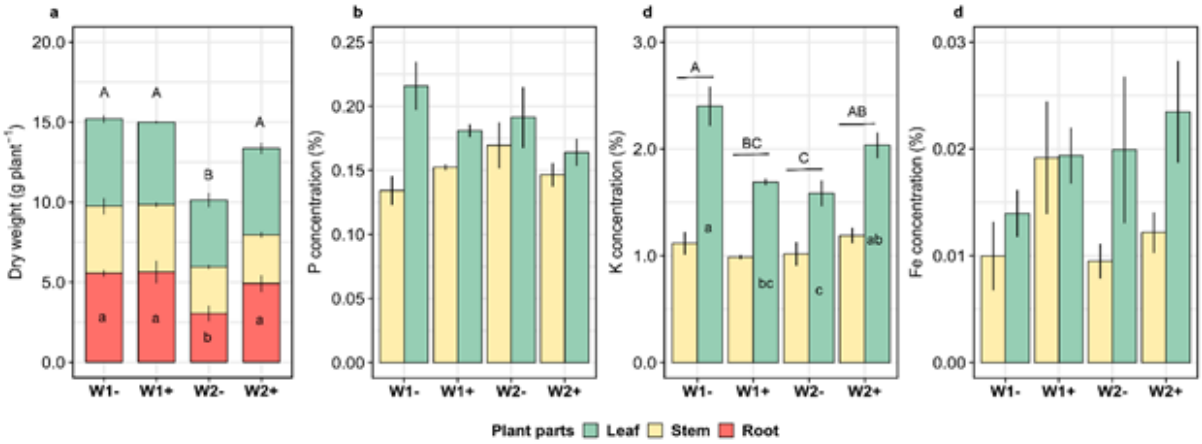


Abbildung 17 Auswirkung der Fruchtfolgepositionen und der Saatgutinokulation mit Bacillus pumilus auf Wurzel-, Stängel- und Blatttrockengewicht (a), P % (b), K % (c), Fe% (d) des folgenden Winterweizens zu Beginn der Stängelstreckung (BBCH 30). W1 = erster Weizen und W2 = zweiter Weizen nach Raps im Boden des Versuchsbetriebs Hohenschulen in Kiel, Deutschland. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen bei p ≤ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche.

Die Inokulation des Saatguts mit dem nützlichen *Bacillus pumilus* milderte die ansonsten sehr reproduzierbare Wachstums- und Ertragsverringerung von Winterweizen in Selbstfolge (W2) erheblich, wie der Vergleich zwischen W2- (W2 ohne Saatgutinokulation) und W2+ (W2 mit Saatgutinokulation) zeigt (Abbildung 17a). Weitergehende Analysen, v.a. zum Mikrobiom, waren bei Erstellung dieses Berichts noch nicht abgeschlossen. Diese werden Aufschluss darüber geben, ob dieser Effekt hauptsächlich auf ein verbessertes Wurzelwachstum und eine verbesserte Nährstoffaufnahme zurückzuführen ist, oder auf eine Unterdrückung von Pathogenen durch die PGPB-Inokulation.

Pflanzröhrenversuch im Freiland (Tasks 3.3, 4.3, 5.1)

Schließlich wurde ein weiterer Freilandversuch mit Boden vom Versuchsstandort Göttingen durchgeführt, in dem das C-, N- und H_2O-Aufnahme- und -verteilungsverhalten sowie Wuchsleistung und Ertrag von GW1 und GW2 mit und ohne Kompostzugabe verglichen wurden. Ziel war es, das Potenzial von Kompost, die Wachstumsverringerung von W2 abzumildern, die durch die negativen Effekte der Vorfrucht verursacht wird, zu untersuchen. Um die Pflanzen natürlichen Umweltbedingungen auszusetzen, wurde der Weizen in PVC-Röhren in leeren Lysimeterhohlräumen in der Freiland-Lysimeteranlage des FZJ angebaut, die mit einer dicken Styroporschicht gegen Witterungseinflüsse isoliert waren. Damit konnte ein realistisches Bodentemperaturprofil erreicht werden, was wir mit Temperaturmessungen belegen konnten. Die Röhren verfügten über zwei vertikale Reihen von Löchern auf gegenüberliegenden Seiten, um während der gesamten Wachstumsphase der Pflanzen Bodenproben entnehmen zu können. Die Pflanzen wurden mit ^{15}N-markiertem Ammoniumsulfat (10

Atom-% ^{15}N) markiert, das mit unmarkiertem Kalkammonsalpeter gemischt wurde, der in drei Wachstumsstadien der Pflanzen ausgebracht wurde. Die Pflanzen wurden im frühen Blühstadium (BBCH 59) mit 99,9 Atom-% $^{13}CO_2$ markiert und außerdem mit $^{1}H^{2}HO$ ($\delta^{2}H$ = 43000 ‰) und $H_2{}^{18}O$ ($\delta^{18}O$ = 5000 ‰), das in 25 bzw. 50 cm Bodentiefe injiziert wurde. Die erste Bodenprobe wurde 3 Tage nach der $^{13}CO_2$-Markierung entnommen. Dann wurden die Pflanzen im Stadium der Kornreife geerntet und verschiedene biochemische Parameter des Pflanzenwachstums quantifiziert. In diesem Versuch wies der in Selbstsukzession angebaute Winterweizen, wie in allen Rhizoboxenversuchen auch, ein verringertes Wachstum auf, was sich auch negativ auf den Kornertrag auswirkte (Abbildung 18a).

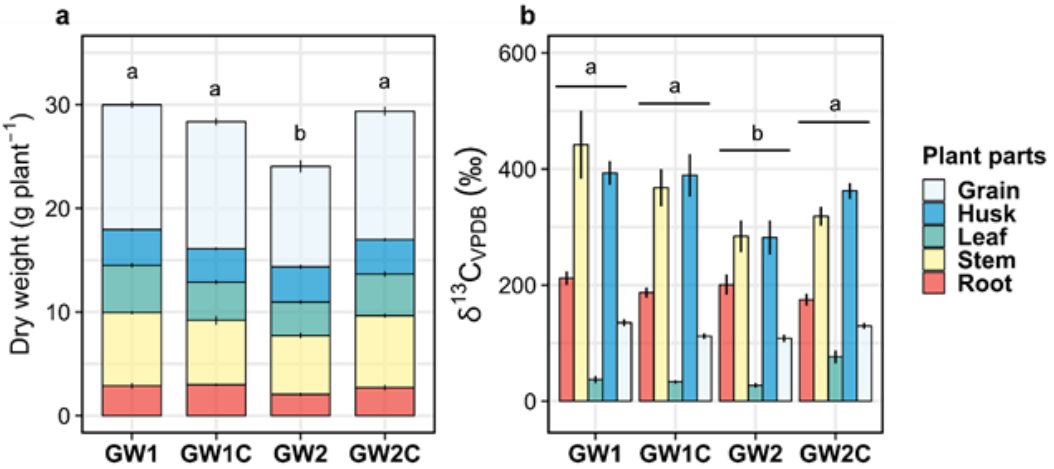


Abbildung 18 Auswirkung der Fruchtfolgeposition des Winterweizens und der Kompostausbringung auf das Trockengewicht der Pflanzen (a) und die δ13C-Werte von Wurzeln, Stängeln, Blättern, Spelzen und Körnern (b) im Stadium der Kornreife (BBCH 92). GW1 = erster Weizen und GW2 = zweiter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Rotationspositionen bei p ≤ 0,05 gemäß ANOVA mit Bonferroni-Korrektur für Mehrfachvergleiche.

Gleichzeitig zeigte die $^{13}CO_2$-Pulsmarkierung Unterschiede in den C-Allokationsmustern mit deutlich niedrigeren $\delta^{13}C$-Werten in der Biomasse von GW2 (Abbildung 18b). Die Ausbringung von Kompost milderte diese Wachstumsverringerung deutlich ab, wie sich in den höheren $\delta^{13}C$-Werten der Biomasse von GW2C und das damit verbundene Trockengewicht der Pflanzen zeigen. Weitere Analysen liefen noch zum Zeitpunkt der Berichtserstellung und werden Aufschluss über die biochemischen Mechanismen im Boden geben, die diese Reaktion steuern.

Task 1.3: Datenmanagement (CAU-Ag)

Im Rahmen des Arbeitspakets 1 erfolgte die Koordination und das Datenmanagement des Gesamtprojekts unter Federführung der CAU-Ag. Dies umfasste die Organisation von Projekttreffen, die Corona-bedingt überwiegend in Form von Videokonferenzen durchgeführt wurden. Treffen in Präsenz fanden im Mai 2022 in Göttingen, im Dezember 2022 in Kiel und im Februar 2024 in Braunschweig statt. Ein zusätzlicher, auch projektübergreifender, Austausch fand jährlich im Rahmen der Rhizo4Bio-Statusseminare statt. Zudem wurde durch die CAU-Ag die regelmäßige Berichterstattung sichergestellt und die gemeinsame Berichterstattung der drei CAU-Arbeitsgruppen koordiniert.

Das Datenmanagement erfolgt in Zusammenarbeit der Projektpartner, wobei von der CAU-Ag auf dem Cloud Server der CAU ein Datenspeicher mit gemeinsamem Zugriff eingerichtet wurde, in den die Projektpartner die Daten im einheitlichen BonaRes-flatfile-Format hochladen konnten. Die Grundregeln für die Datennutzung innerhalb des Projektes wurden in einem internen Dokument festgehalten. In diesem Format erfolgte unter Eigenregie der Projektpartner der Datenupload in die BonaRes-Datenbank. Hierdurch ist auch eine Nachnutzung der umfangreichen Datensätze für andere Nutzer in Zukunft möglich.

AP 2 Wurzelwachstum und Wurzelseneszenz

Task 2.1: Wurzelwachstum und -seneszenz unter Feldbedingungen (IfZ, CAU-Ag)

Die zeitlich-räumliche Dynamik des Wurzelwachstums von Winterweizen wurde durch destruktive Probenahmen (April 2021 und 2022 sowie Juni 2020, 2021 und 2022) im Feldversuch des IfZ und im Feldversuch 1 der CAU-Ag sowie durch regelmäßige Minirhizotron-Messungen erfasst. Entgegen der ursprünglichen Planung konnte die erste angedachte Probenahme im April 2020 sowie der Einbau der Minirhizotron-Röhren für das Jahr 2020 nicht erfolgen, da es hier durch die Corona-Pandemie, sowie Probleme mit den eigens für diese Arbeiten angefertigten Probenahmegeräten, zu Verzögerungen kam.

Die destruktiven Probenahmen erfolgten mit einer Sonde mit einem Durchmesser von 6 cm, mit der in fünf Messtiefen (0-15, 15-30, 30-60, 60-90 und 90-120 cm) jeweils drei Proben pro Parzelle im April sowie im Juni gezogen wurden. Anschließend wurden die Wurzeln aus den Proben ausgewaschen, auf einer Glasplatte ausgelegt, dabei von anderem organischen Material getrennt, und schließlich eingescannt. Die so entstandenen Scanbilder erlaubten die Bestimmung der Wurzellänge mit Hilfe der Software WinRhizo. Die gewonnenen Daten wurden zu größten Teilen in Arnhold et al. (2023a) veröffentlicht.

Während es in Harste im April keine Unterschiede in der Durchwurzelung zwischen den Varianten gab (Abbildung 19 links), wurde im Juni im Unterboden (30-120 cm) in allen drei Jahren eine signifikant höhere Wurzellängendichte nach Raps im Vergleich zu nach Weizen gefunden (Abbildung 19 rechts). Ein Unterschied zwischen Stoppel- und Dauerweizen wurde hier statistisch nicht gefunden, allerdings gab es im nassen Jahr 2021 eine numerisch höhere Wurzellängendichte für den Dauer- im Vergleich zum Stoppelweizen. Ähnlich war es im Juni im Oberboden (15-30 cm): hier gab es in den trockenen Jahren 2020 und 2022 ohne einen größeren Krankheitsdruck keine Unterschiede in der Durchwurzelung zwischen den Varianten, im feuchten Jahr 2021 mit hohem Schwarzbeinigkeitsbefall allerdings eine sehr deutliche Abstufung Rapsweizen > Dauerweizen > Stoppelweizen in Hinsicht auf die Wurzellängendichte, was mit der Intensität des Schwarzbeinigkeitsbefalls in den einzelnen Varianten übereinstimmt und als direkte Folge dieses Befalls interpretiert werden kann.

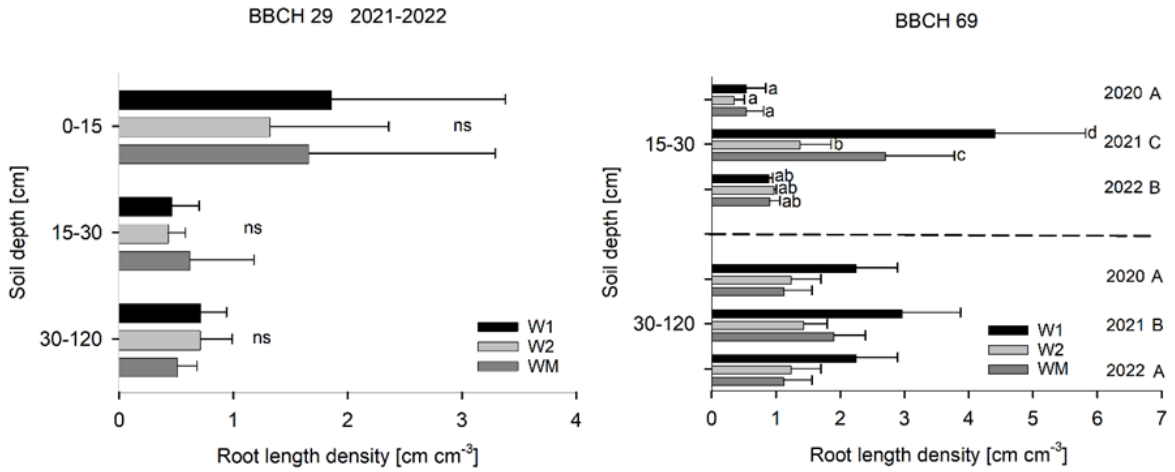


Abbildung 19 Links: Wurzellängendichte von Weizen BBCH 29 in drei Fruchtfolgepositionen und drei Bodentiefen, gemittelt über zwei N-Stufen und die beiden Versuchsjahre 2021 und 2022. Es wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. Rechts: Wurzellängendichte von Weizen BBCH 69 in drei Fruchtfolgepositionen und zwei Bodentiefen in den drei Versuchsjahren 2020, 2021 und 2022, gemittelt über zwei N-Stufen. Unterschiedliche Großbuchstaben zeigen signifikante (p<0,05) Unterschiede zwischen den Untersuchungsjahren, unterschiedliche Kleinbuchstaben zwischen den Fruchtfolgepositionen dar. Nicht innerhalb dieses Schemas dargestellt ist der Haupteffekt der Fruchtfolgeposition im Unterboden. Hier wurden jahresunabhängig signifikante Unterschiede zwischen W1 auf der einen und W2 sowie WM auf der anderen Seite gefunden. Abbildungen aus Arnhold et al. (2023a).

Die Durchwurzelungsintensität, insbesondere im Unterboden, könnte anhand dieser Ergebnisse als Erklärung für den möglicherweise krankheitsunabhängigen Vorfruchteffekt beim Vergleich Raps und Weizen als Vorfrüchte dienen, da eine stärkere Durchwurzelung im Unterboden einen Vorteil hinsichtlich der Erschließung und Aufnahme von Nährstoffen und insbesondere Wasser bietet. Allerdings spricht die fehlende Differenzierung im April, als es schon deutliche Unterschiede zwischen den Varianten hinsichtlich der oberirdischen Biomasse gab (Arnhold et al. 2023b, Daten hier nicht gezeigt), also ein Effekt auf das allgemeine Pflanzenwachstum schon feststellbar war, dagegen. Das lässt die Interpretation zu, dass andere Faktoren als Krankheitsdruck und Wurzelwachstum das Weizenwachstum beeinflussen können.

Für die Minirhizotronaufnahmen wurden pro Parzelle zwei oder drei 2m-Röhren möglichst früh in der Saison in einem 30° Winkel eingebaut, mit dem regelmäßigen Messrhythmus bis zur Ernte wurde ab April begonnen. Für die aufgenommenen Bilder wurde eine automatisierte Auswertung mittels eines Convolutional Neural Networks (CNN) entwickelt, bzw. ein vorhandenes CNN (Wang et al. 2019) weiterentwickelt und auf die Gegebenheiten von Weizenwurzeln angepasst. Weiter wurde ein Prozess zum Zusammenfügen der Bilder entwickelt. Die Ergebnisse der Analyse wurden mit den Ergebnissen der Bohrkernwurzelanalyse verglichen. Für das Versuchsjahr 2022 wurde eine gute Übereinstimmung im Unterboden gefunden, für das Jahr 2021 eine deutlich schwächere. Der Unterschied zwischen den beiden Versuchsjahren lag vermutlich im nur 2022 durchgeführten Einschlämmen der Röhren, das den zur Erkennung der Wurzeln nötigen Kontakt zwischen Boden und Röhre erst ermöglichte und somit für eine zuverlässige Messung unerlässlich ist. Für den Oberboden wurde kein Zusammenhang gefunden, was vermutlich an der starken Störung des Bodens und des Pflanzenwachstums durch den Röhreneinbau liegt. Somit scheint die Methode für Oberbodenuntersuchungen ungeeignet. Diese methodischen Erkenntnisse wurden detailliert in einem Manuskript aufgearbeitet, das sich derzeit im Gutachtenprozess bei der Zeitschrift *Plant Methods* befindet. Die eigentliche inhaltliche Auswertung der Ergebnisse hinsichtlich weiterer Erkenntnisse bezüglich möglicher Unterschiede der Durchwurzelungsdynamik zwischen den Fruchtfolgevarianten wird Gegenstand eines separaten Manuskripts werden, das sich derzeit in Vorbereitung befindet.

Im Rahmen dieses Arbeitspaketes wurde weiterhin die Bodenstruktur als mögliche Einflussgröße auf das Weizenwachstum untersucht. Hierzu wurden an beiden Standorten im April jeweils in den optimal gedüngten Varianten in drei Bodentiefen (5-10, 20-25, 40-45 cm) jeweils acht Stechzylinder verteilt auf zwei Probenahmestellen genommen. An diesen ungestörten Proben wurden anschließend Lagerungsdichte, Porenvolumen, Feld- und Luftkapazität sowie die pneumatische Leitfähigkeit bestimmt. Weiter wurde in Harste parallel zu dieser Probenahme der Eindringwiderstand bis 80 cm im Feld mittels Penetrologger gemessen. Ergänzend zu diesen geplanten Untersuchungen wurde im Versuchsjahr 2022 die Aggregatstabilität in den genannten Tiefen untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Arnhold et al. (2023b) veröffentlicht. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass zum Untersuchungszeitpunkt im April für keinen der untersuchten Parameter signifikante Unterschiede zwischen den Fruchtfolgepositionen gefunden wurden. Einzig der Eindringwiderstand zeigte eine Tendenz hin zu niedrigeren Werten für den Rapsweizen. Somit kann die Bodenstruktur, zumindest deren Zustand im April, als Ursache für das bereits zu diesem Zeitpunkt deutlich und signifikant sichtbare unterschiedliche Pflanzenwachstum ausgeschlossen werden. Möglich ist allerdings, dass es vor diesem Zeitpunkt, vor April oder sogar noch vor Winter, Unterschiede gab, die auf den unterschiedlichen Ernteresteigenschaften oder der unterschiedlichen Durchwurzelung der Vorfrüchte beruhen und die bereits zu einem frühen Stadium einen Einfluss auf das Weizenwachstum haben könnten. Bodenstruktureigenschaften sind sehr variabel über die Zeit und unter gewissen Umwelteinflüssen. Es ist daher denkbar, dass eine mögliche Differenzierung der Varianten bspw. im November im April nicht mehr sichtbar ist. Weitere Untersuchungen zum Zustand der Bodenstruktur vor Winter werden in Phase 2 des Projekts weitere Einblicke liefern.

Schließlich wurde nach der Ernte eine Bonitur des Befalls der Wurzeln mit Schwarzbeinigkeit durchgeführt. Die Ergebnisse sind im Rahmen der Beschreibung der Tätigkeiten zu Arbeitspaket 1 dargestellt.

Task 2.2: Wurzelwachstums- und Seneszenzprozesse unter kontrollierten Umweltbedingungen (FZJ, JKI)

Ergebnisse aus den Rhizoboxeperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

Quantifizierung und Verständnis räumlich-zeitlicher Dynamik von Wurzelwachstum und Seneszenz sowie Veränderungen der Bodenenzymatik, N- und C-Translokationsprozesse und der Bakterien-/Archaeen-Gemeinschaften in sukzessiven Winterweizenrotationen

Um die Auswirkungen verschiedener Winterweizenmonokulturen auf die Wurzeldynamik (Wurzelexsudate, Bodenenzymaktivitäten, N- und C-Translokationen, Rhizosphärenmikrobiom) zu untersuchen, wurden vom Partner FZJ Rhizobox-Experimente durchgeführt (siehe Task 1.2). Dazu wurde Feldboden vom Versuchsgut Hohenschulen (Kiel) aus verschiedenen Weizenrotationen (Weizen nach Winterraps= 1. Weizen KW1, Weizen nach Weizen = 2. Weizen KW2, Winterweizen zum dritten Mal in Folge = 3. Weizen KW4) verwendet. Die Aufgabe des JKI bestand in der Analyse der Boden- und wurzelassoziierten Bakterien- und Archaeengemeinschaften. Die Probenahme zur Analyse des Mikrobioms (Bakterien und Archaeen) aus der Rhizosphäre von Winterweizen (WW; cv. „Nordkap“) erfolgte zum Zeitpunkt der Bestockung des Weizens (BBCH 29). Zu diesem frühen Pflanzzeitpunkt war es möglich sowohl den von der Wurzel nicht beeinflussten Boden (*bulk soil;* BS) als auch die Rhizosphäre (RH) zu beproben. Es wurden außerdem separate Proben für die Bodentiefen D30 (0-30 cm) und D60 (30-60 cm) genommen. Nach Extraktion mikrobieller Gesamt-DNA wurden die Bakterien-/Archaeen-Gemeinschaften mittels 16S rRNA Gen Amplikon-Sequenzierung untersucht und die Sequenzen im Anschluss mit Hilfe der DADA2-Pipeline zu ASVs (*Amplicon Sequence Variants*) verarbeitet.

Die Zusammensetzung der Bakterien/Archaeen-Gemeinschaften wurde durch die WW-Rotationsposition beeinflusst. Eine reduzierte Häufigkeit bekannter nitrifizierender bakterieller Phyla (Nitrospirota) und am Kohlenstoffzyklus beteiligter Bakterien (Gemmatimonadota) in sukzessiv angebautem Weizen, besonders in KW4, könnten für die schlechtere Energiebilanz und Stickstoffaufnahme verantwortlich sein und damit mögliche Ertragseinbußen erklären.

Ein deutlicher Unterschied im Artenreichtum zwischen KW1 und KW4 wurde im BS-Kompartiment und in den obersten 30 cm des Bodens beobachtet, wobei KW4 eine höhere Artenzahl aufwies als KW1. Die Bodentiefe prägte mit einem Anteil von 12.3 % ($F = 5{,}97$; $p<0{,}001$) und die Rotationsposition mit 10.5 % ($F = 3{,}51$; $p<0{,}001$) signifikant die Zusammensetzung der Bakterien/Archaeengemeinschaft.

Auf der Phylum-Ebene fanden wir eine höhere relative Abundanz von Acidobacteriota in RH von KW1 im Vergleich zu KW2 und KW4 (Abbildung 20a). Acidobacteriota kommen häufig in der Rhizosphäre von Weizen vor (Kavamura et al., 2020). Auch im Unterboden von KW2 war die relative Abundanz von Acidobakterien signifikant niedriger als bei KW1, was auf eine rotationspositionsspezifische Förderung oder Vermehrung bestimmter bakterieller Phyla hindeutet. Weitere Unterschiede zwischen den Rotationspositionen wurden bei den Phyla Chloroflexi und Nitrospirota gefunden (Abbildung 20c, d). Diese Phyla sind aus der Literatur als nitrifizierende Bakterien bekannt, die durch ihre Enzymsysteme zunächst Ammonium zu Nitrit, und dann Nitrit zu Nitrat oxidieren können, welches dann der Pflanze als Nährstoff zur Verfügung steht. Damit könnten sie eine entscheidende Rolle im Stickstoff-Zyklus spielen Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die beobachteten strukturellen Unterschiede in den Bakterien/Archaeen-Gemeinschaften in Abhängigkeit der Weizenfruchtfolgeposition Auswirkungen auf biochemische Bodenprozesse (insbesondere Stickstoffverfügbarkeit) nach sich ziehen.

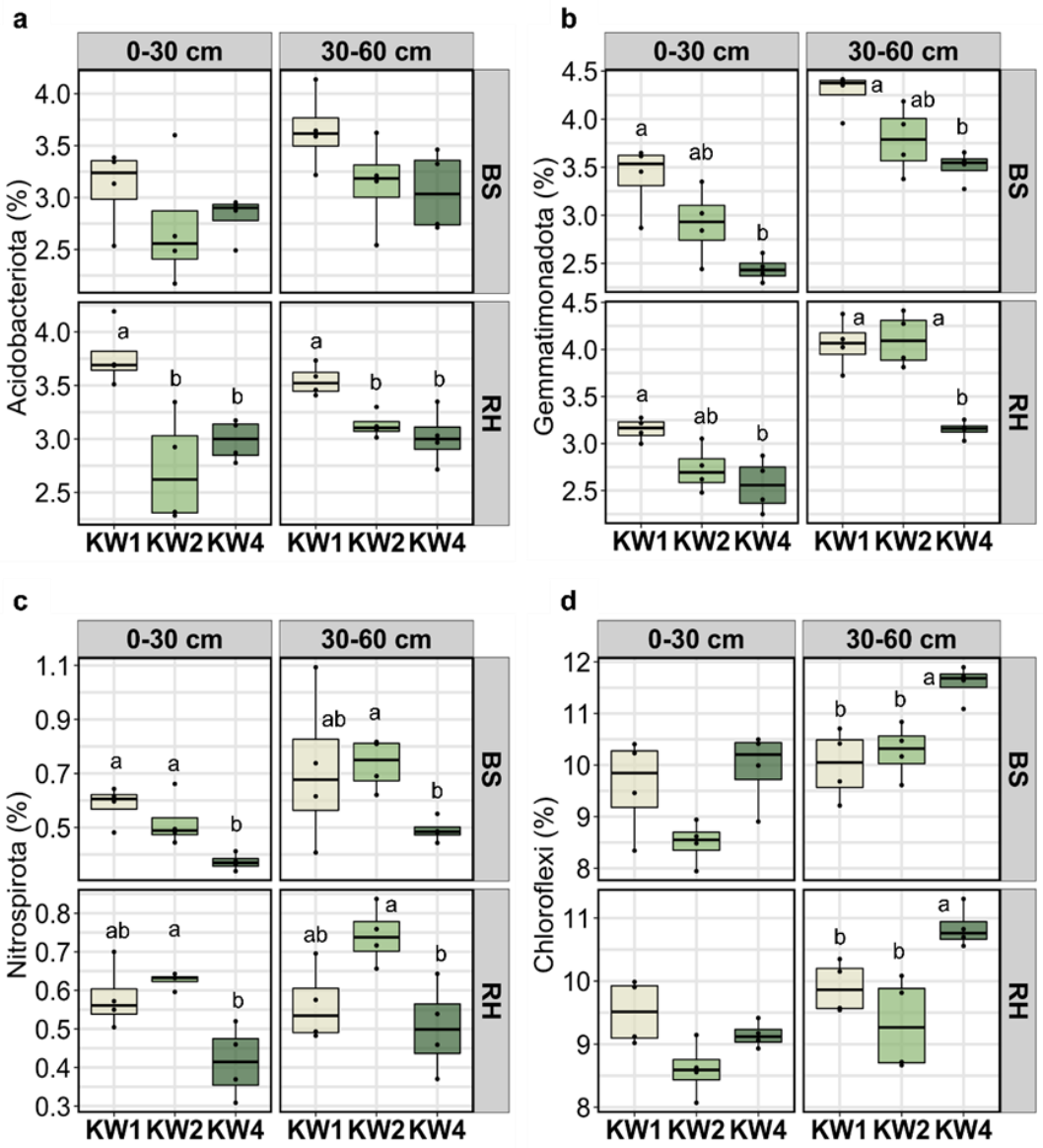


Abbildung 20 Einfluss der Rotationspositionen auf die relative Häufigkeit verschiedener bakterieller Phyla (a) Acidobacteriota, (b) Gemmatimonadota, (c) Nitrospirota und (d) Chloroflexi im Boden (BS) und der Rhizosphäre (RH) in verschiedenen Bodentiefen (0-30 cm und 30-60 cm) am Ende der Bestockung. KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = dritter Weizen nach Raps. Unterschiedliche Kleinbuchstaben bezeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Rotationspositionen bei p ≤ 0.05 gemäß ANOVA nach Bonferroni-Korrektur.

Die Ergebnisse wurden in einer gemeinsamen Publikation (Kaloterakis et al. 2024) veröffentlicht.

Task 2.3: Simulation von Wurzelwachstum und Seneszenz als Funktion von Vorfrucht und Umweltbedingungen (FZJ, CAU-Ag, IfZ)

Ziele dieses Tasks waren die Entwicklung eines vereinfachten 1D- und eines detaillierten 3D-Wurzelwachstumsmodell unter Nutzung der in den Feldversuchen und Rhizobox-Experimenten erhobenen Wurzeldaten.

Da die Auswertung der Minirhizotronen-Daten länger als geplant dauerte, wurde mit der Arbeit auf Grundlage eines von der CAU-Ag zur Verfügung gestellten Datensatzes aus einem älteren 3-jährigen Feldversuch (Standort Ruthe bei Hannover) begonnen. Auf deren Basis wurde das in der CAU-Ag zu Projektbeginn bereits vorliegende 1D-Wurzelwachstumsmodell um eine Zeitraum- und tiefenspezifische

Schätzung der kleinräumigen Variabilität der Durchwurzelungsintensität erweitert. Grundlage war die Annahme log-normaler Verteilungsfunktionen der Wurzellängendichte in einer Tiefenschicht. Es konnte ein relativ enger Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der Wurzellängendichte und Logarithmus des Variationskoeffizienten gefunden werden (Abbildung 21: Beziehung zwischen dem Logarithmus des Variationskoeffizienten der Wurzellängendichte und dem Logarithmus des Mittelwerts der Wurzellängendichte für Winterweizen, abgeleitet aus Minirhizotronmessungen.):

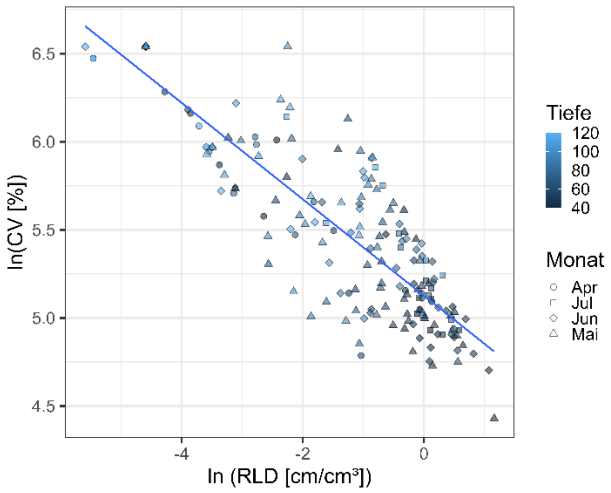


Abbildung 21: Beziehung zwischen dem Logarithmus des Variationskoeffizienten der Wurzellängendichte und dem Logarithmus des Mittelwerts der Wurzellängendichte für Winterweizen, abgeleitet aus Minirhizotronmessungen.

Parallel dazu wurde das am FZJ entwickelte funktional-strukturelle Wurzelarchitekturmodul des CPlantBox Modells (Giraud et al. 2023) anhand der Felddaten der CAU-Ag für diesen Standort genotypspezifisch parameterisiert (Abbildung 22). Der Virtual Field Root Sampling Ansatz von Morandage et al. (2019) wurde dafür adaptiert, unter Berücksichtigung der in verschiedenen Tiefen gemessenen Bodentemperatur.

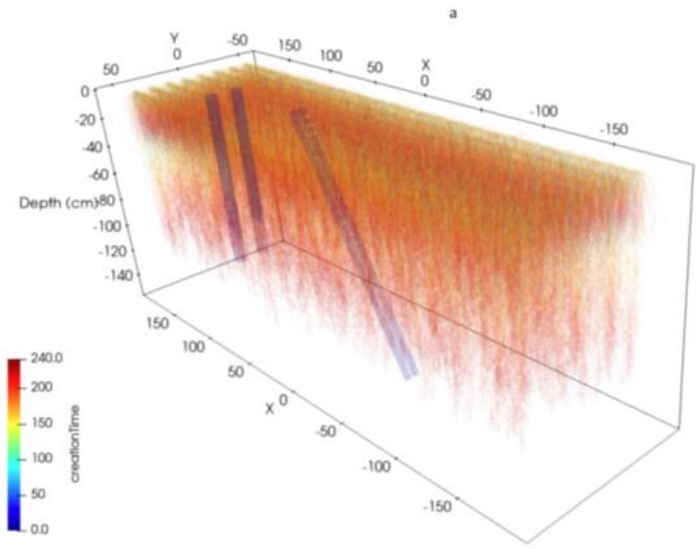


Abbildung 22 Modellsetup für das virtuelle Field Root Sampling: Individuelle Realisierungen von Weizenpflanzen des CPlantBox Modells werden in agronomisch korrektem Pflanzen- und Reihenabstand simuliert. Virtuelle Bodenbohrkerne und Mini-Rhizotubes ermöglichen den detailgetreuen Nachbau der realen Feldmessungen.

Zudem wurde das Modell erweitert, um die Wurzelseneszenz abzubilden. Hierfür wurde ein Wachstumsstopp bei gegebenem Wurzelalter eingeführt. Die Auswirkungen der Wurzelseneszenz auf die Wurzelfunktionalität wurde anhand der Parameter Krs und SUF bestimmt. Krs ist ein Skalar mit der

Dimension T-1, der die Fähigkeit des Gesamtwurzelsystems, Wasser zu leiten, beschreibt. SUF (-) ist ein Vektor, der den Anteil jeder Bodenschicht an der Gesamtwasseraufnahme des Wurzelsystems beschreibt und sowohl von der Wurzelarchitektur als auch den hydraulischen Eigenschaften der einzelnen Wurzelsegmente abhängt. Wurzelseneszenz bewirkt eine Verringerung der Bodentiefe, aus der Wasser aufgenommen werden kann, sowie eine geringere Gesamtwasserleitfähigkeit des Wurzelsystems.

AP 3 Mikrobiom der Weizenrhizosphäre und dessen Auswirkung auf Genexpression bei Weizen

Task 3.1: Bestimmung des Rhizosphärenmikrobioms von Weizen (CAU-Phyt, JKI)

Eine erste Untersuchung der Bakterien/Archaeen-Gemeinschaften in der Rhizosphäre einer Langzeit-Weizenmonokultur (15 Jahre) im Vergleich zu kurzen Weizenrotationen am Standort Harste (vgl. WP1, Task 1.1) in Abhängigkeit der Bodentiefe und des Mikrohabitats lieferte neue Erkenntnisse zur Bakterien/Archaeen-Diversität und Zusammensetzung, die in Giongo et. al 2024 veröffentlicht wurden.

Zum frühen Reifezeitpunkt des Weizens (BBCH 72) konnten deutliche Unterschiede in der relativen Abundanz dominanter Taxa (>1% relative Abundanz) zwischen der Monokultur (WM) und kurzen (WR) Weizenrotationen festgestellt werden (Abbildung 23). Im Wurzel-beeinflussten Boden (RA) wiesen die bakteriellen Gattungen *Bacillus, Bradyrhizobium, Devosia* und das Taxon MB-A2-108 höhere relative Häufigkeiten in WM als in WR auf (Abbildung 23). In der Rhizosphäre (RH) wurden ebenfalls die Gattungen *Bacillus, Bradyrhizobium* und das Taxon MB-A2-108 in signifikant höheren relativen Abundanzen in WM im Vergleich zu WR gefunden, zusammen mit *Paenibacillus* und *Pseudomonas* (Abbildung 23). Innerhalb von RP wiesen sechs Taxa, einschließlich *Nitrospira, Pedobacter, Phyllobacterium*, Taxa innerhalb der Ordnung Gaiellales und der Klasse MB-A2-108 (Phylum Actinobacteriota), sowie ein Taxon aus der Familie der *Gemmatimonadaceae*, signifikant höhere relative Abundanzen in WM im Vergleich zu WR auf (Abbildung 23). Nur zwei Gattungen, *Agromyces* und *Shinella*, wiesen signifikant höhere Abundanzen in WR als in WM auf. Die hohe relative Häufigkeit von Taxa, die zum Phylum Proteobacteria gehören, in der Rhizoplane, wie *Devosia, Pseudomonas, Shinella*, und *Sphingomonas*, zusammen mit anderen Gattungen, wie *Pedobacter* (Bacteroidota), *Agromyces* und *Streptomyces* (Actinobacteriota) deuten auf eine Ansiedlung potenziell nützlicher Bakteriengattungen in der Nähe der Wurzeln hin. Interessanterweise wurden diese Taxa über die gesamte Länge der Weizenwurzeln beobachtet, selbst in Tiefen von bis zu 120 cm. Das Vorhandensein bestimmter Taxa in Verbindung mit Weizenwurzeln in allen Bodentiefen, könnte für die Bewältigung von Nährstoff- und Wasserknappheit von Vorteil sein, insbesondere unter Klimaszenarien, in denen Wasser ein begrenzender Faktor für das Pflanzenwachstum sein könnte.

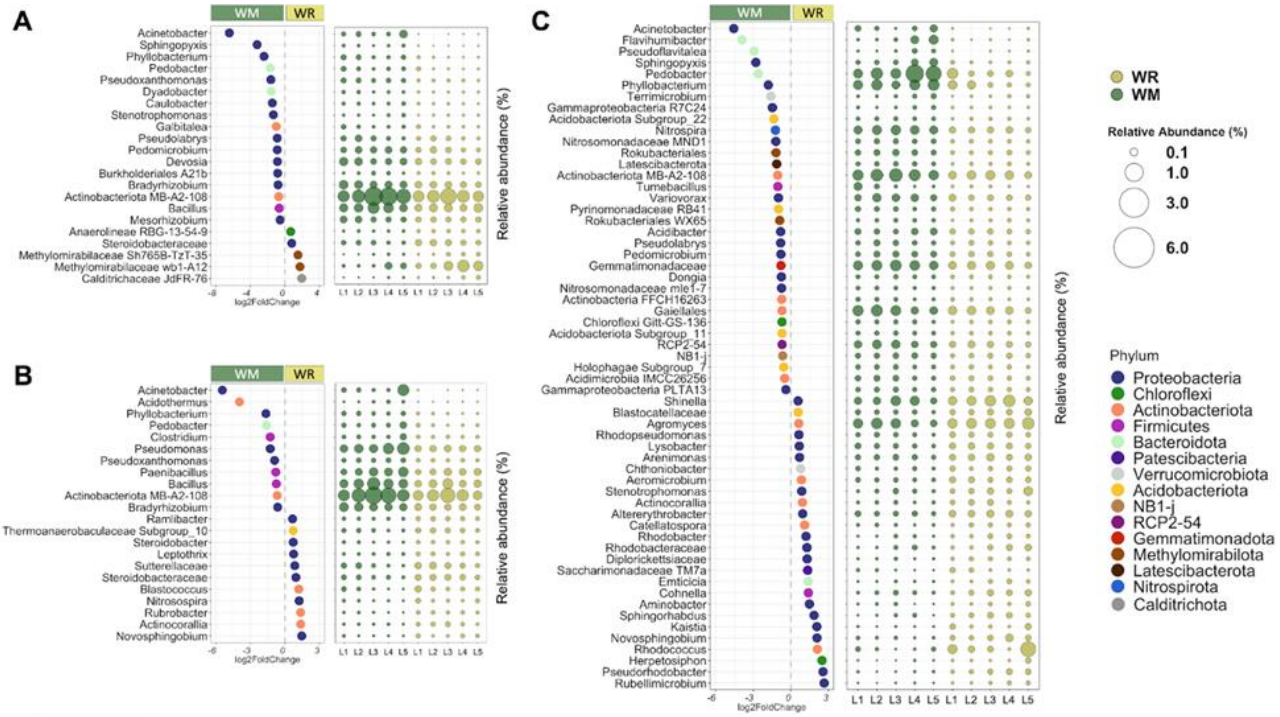


Abbildung 23 Signifikant verschiedene Taxa zwischen den beiden Fruchtfolgepositionen, Weizenmonokultur (WM) und Weizenrotation (WR) in (A) wurzelbeeinflusstem Boden (RA); (B) Rhizosphäre (RH); und (C) Rhizoplane (RP) und deren relative Häufigkeiten in unterschiedlichen Bodentiefen. Es wurden nur Taxa mit einer durchschnittlichen Abundanz von mehr als 0.1 % angezeigt. Jedes Phylum ist durch eine andere Farbe dargestellt. Negative log2FoldChange-Werte weisen auf eine signifikant höhere Abundanz in WM hin, während positive log2FoldChange-Werte eine höhere Abundanz in WR anzeigen. Die relative Häufigkeit der einzelnen signifikant unterschiedlichen Taxa wird durch runde Formen dargestellt, die zwischen 0.1 % und 6 % der Gesamtsequenzen liegen, bei p<0.05, nach Datentransformation und Benjamini-Hochberg-Korrektur.

Eine weitere gezieltere Analyse der Bakterien- und Archaeengemeinschaften an beiden Standorten (Hohenschulen und Harste, WP1, Task1.1) in den unterschiedlichen Weizenrotationspositionen in den Feldversuchen der Jahre 2020 und 2021 ergab einen hohen Standorteinfluss und Einfluss der Mikrohabitate auf die Struktur der Gemeinschaften (Tabelle 1). Rotationsbedingte Unterschiede ergaben sich dagegen hauptsächlich in der Rhizoplane.

Tabelle 1 Analyse der primären Einflussfaktoren auf die mikrobiellen Gemeinschaften (PERMANOVA; basierend auf Bray-Curtis Distanzwerten) an den beiden Standorten (silty soil = Harste, sandy soil = Hohenschulen) und in beiden Feldversuchsjahren (2020 trocken, 2021 nass).

	Silty soil						**Sandy soil**					
	Dry			**Wet**			**Dry**			**Wet**		
Factor	**R2**	**F**	***p***	**R2**	**F**	***p***	**R2**	**F**	***p***	**R2**	**F**	***p***
Microhabitat	0.138	4.445	< 0.0001	0.145	4.638	< 0.0001	0.217	6.873	< 0.0001	0.109	2.940	< 0.0001
Rotation	0.063	2.031	< 0.0001	0.072	2.287	< 0.0001	0.084	5.332	< 0.0001	0.060	3.231	< 0.0001
Stage	0.045	2.912	< 0.0001	0.045	2.859	< 0.0001	0.029	1.842	0.024	0.038	2.029	0.001
Microhabitat:Rotation	0.055	0.897	0.853	0.054	0.865	0.940	0.037	1.171	0.183	0.037	0.987	0.472
Microhabitat:Stage	0.044	1.412	0.012	0.034	1.100	0.198	0.032	1.011	0.390	0.037	1.002	0.431
Rotation:Stage	0.044	1.434	0.011	0.035	1.102	0.206	0.020	1.283	0.141	0.022	1.181	0.143
Microhabitat:Rotation:Stag	0.054	0.869	0.934	0.051	0.812	0.994	0.027	0.870	0.707	0.032	0.867	0.872
Residual	0.557			0.564			0.553			0.666		
Total	1.000			1.000			1.000			1.000		

Da das Mikrohabitat eine entscheidende Rolle auf die Formation von Bakterien/Archaeen-Gemeinschaften spielte und bis zu 14,5 % der Variation am Standort Harste und 21,7 % am Standort Hohenschulen erklärte (Tabelle 1), wurden die Gemeinschaften in den einzelnen Mikrohabitaten einzeln betrachtet. Unabhängig vom Standort wurden keine signifikanten Unterschiede in der Alpha-Diversität zwischen den Weizenrotationspositionen gefunden (Abbildung 24A; p>0,05). Die Fruchtfolgeposition trug zu 6,0–8,4 % der beobachteten Variationen in den Bakterien/Archaeen-Gemeinschaften bei und

das Pflanzenentwicklungsstadium 2,9–4,5 % (Tabelle 1). Da der Gesamteinfluss des Weizenentwicklungsstadiums (T1 = BBCH 60; T2 = BBCH 72) gering war, konzentrierten wir uns für die weitere Analyse auf T1. Am Standort Harste zeigten die Bakterien/Archaeen- Gemeinschaften eine höhere Ähnlichkeit (ANOSIM; trockenes Jahr, R = 0,032; feuchtes Jahr, R = 0,083; p = 0,158 bzw. p = 0,042) im Vergleich zum Standort Hohenschulen (ANOSIM; trockenes Jahr, R = 0,219; nasses Jahr, R = 0,208; p = 0,003 bzw. p = 0,001) (Abbildung 24B). Darüber hinaus analysierten wir die Auswirkungen der Mikrohabitate auf die Gemeinschaften für jedes Jahr und jede Fruchtfolgeposition separat. Im trockenen Jahr (2020) beobachteten wir, dass die relative Abundanz und Vielfalt der Bakterien/Archaeen- Gemeinschaften in BS und RH an beiden Standorten Ähnlichkeiten aufwiesen, im Gegensatz zur Rhizoplane, wo eine geringere Diversität festgestellt wurde. Diese Beobachtung war in der nassen Feldsaison (2021) jedoch nicht so ausgeprägt und es gab weniger Unterschiede in der mikrobiellen Diversität über alle Weizenrotationspositionen an beiden Feldstandorten.

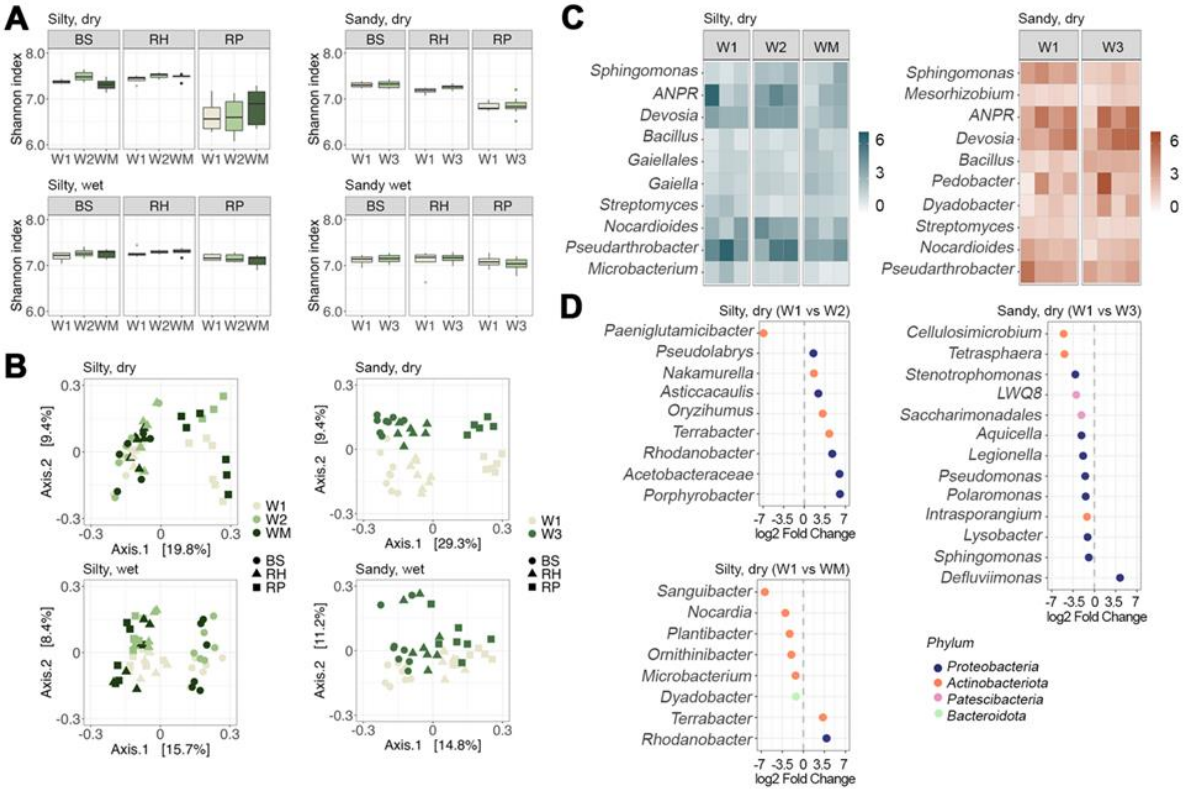


Abbildung 24 Mikrobielle Diversität und Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften im Weizen nach unterschiedlichen Fruchtfolgepositionen an zwei Feldstandorten (Harste = silty; Hohenschulen = sandy) über zwei Jahre (2020 trocken, 2021 nass) unter Verwendung der 16S-rRNA-Gen-Amplikonsequenzierung. (A) Alpha-Diversität (Mann-Whitney-U-Test; p-Werte angepasst mit der Bonferroni-Methode, alle p > 0,05) innerhalb der Proben verschiedener Weizenrotationspositionen und jedes Mikrohabitats; (B) Beta-Diversitätsmessung der Distanz zwischen den mikrobiellen Gemeinschaften der einzelnen Proben unterschiedlicher Weizenrotationspositionen und verschiedener Mikrohabitaten; (C) Die relative Häufigkeit (%) der zehn am häufigsten vorkommenden Gattungen, die in der Rhizoplane identifiziert wurden; (D) Differentialanalysen von Taxa mit einer relativen Häufigkeit von mehr als 0,1 % in der Rhizoplane. Die Farben der Punkte zeigen das bakterielle Phylum an. Mikrohabitate entsprechen BS = wurzelfreier Boden; RH = Rhizosphäre; RP = Rhizoplane. Die Weizenrotationspositionen entsprechen W1 = erster Weizen nach Raps als Vorfrucht; W2 = Weizen, der zwei Jahre lang ununterbrochen angebaut wurde; W3 = Weizen, der drei Jahre lang kontinuierlich angebaut wurde; WM = Weizen, der seit 15 Jahren kontinuierlich angebaut wird. Vertikale Balken entsprechen Standardfehlern.

Von den zehn am häufigsten vorkommenden Taxa in der Rhizoplane zeigten *Bacillus*, *Sphingomonas* und *Streptomyces* über Rotationen und Feldstandorte hinweg ein stabiles Vorkommen (Abbildung 24C). Während bestimmte Taxa, wie das Rhizobiencluster ANPR und *Sphingomonas*, in Harste in W2 eine signifikant höhere Häufigkeit aufwiesen als in W1, war die relative Häufigkeit von *Bacillus* in der

Monokultur (W3) in Hohenschulen deutlich erhöht. *Pseudomonas* und *Sphingomonas* zeigten in der Rhizoplane von W1 in Hohenschulen eine höhere Häufigkeit im Vergleich zu W3. Die differenzielle Häufigkeitsanalyse über alle Taxa (>0.1% relative Abundanz) zwischen den Rotationen in Harste während des trockenen Jahres ergab dreizehn Taxa, die sich signifikant unterschieden (p <0,05) (Abbildung 23D). *Rhodanobacter* und *Terrabacter* waren in W2 und WM signifikant im Vergleich zu W1 angereicht. Beim Vergleich von W2 vs. WM wurden keine unterschiedlich häufig vorkommenden Taxa beobachtet. In Hohenschulen kamen dreizehn Taxa, darunter *Pseudomonas, Sphingomonas* und *Stenotrophomonas*, in höherer relativer Abundanz in W1 als in W3 vor.

Untersuchung des pilzlichen Mikrobioms

Die mikrobielle DNA der Bodenproben wurde in Kooperation mit dem JKI in Braunschweig isoliert. Nach erfolgreicher Isolation und anschließender Überprüfung der Qualität (Konzentration, Kontamination, Reinheit) wurden die DNA-Proben auf beide Gruppen (JKI, AG Cai) aufgeteilt in Vorbereitung der Marker-Sequenzierung (NGS; Next-Generation Sequencing), durchgeführt durch die Firma Novogene. Die Datensätze des pilzlichen Mikrobioms wurden anschließend u.a. auf Ihre Diversität (Alpha- und Beta-Diversität), Vorkommen dominanter Spezies, sowie dem Vorkommen von Indikator-Organismen hin untersucht. Der Parameter der Weizen-Selbstfolge repräsentiert dabei den wichtigsten Vergleich gefolgt von Vergleichen der verschiedenen Kompartimente (Bohrstock vs. Rhizosphäre), Entwicklungsstadium der Weizenpflanzen (T1 vs. T2 vs. T3), sowie Unterschiede bedingt durch die beiden Untersuchungsstandorte (Hohenschulen vs. Harste).

Phylogenetische Übersicht des pilzlichen Bodenmikrobioms

Das pilzliche Bodenmikrobiom wird in absteigender relativer Abundanz repräsentiert durch die Phyla: Ascomycota, Mortierellomycota, Basidiomycota, Zoopagomycota, Olpidiomycota, Rozellomycota, Chytridiomycota und Aphelidiomycota, Abbildung 25). Die Verteilung der ersten fünf Phyla ist, abseits dieser Untersuchung, repräsentativ für viele Untersuchungen des Bodenmikrobioms.

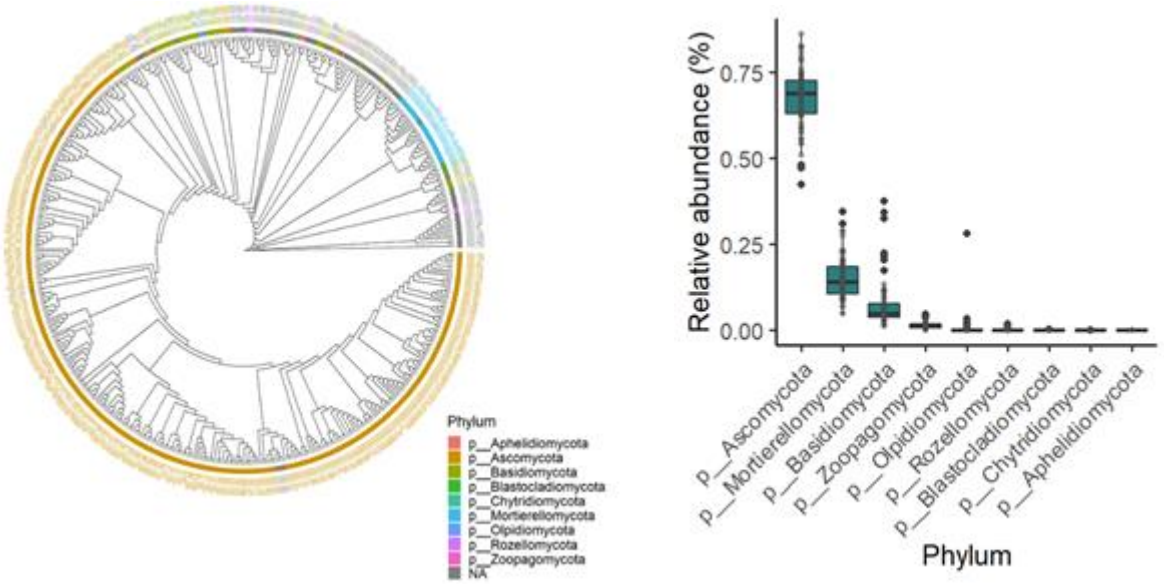


Abbildung 25 Phylogenetische Beziehung (A) und relative Abundanz (B) aller identifizierten Phyla der Zeitpunkte T1, T2 und T3 an den Standorten Harste (Göttingen) und Hohenschulen (Kiel) in Bohrstock- und Rhizosphärenproben.

Diversität des pilzlichen Bodenmikrobioms

Die Beschreibung der mikrobiellen Diversität stellt eine Kernaussage in der Charakterisierung von mikrobiellen Gemeinschaften dar. Zu unterscheiden sind die Alpha- und Beta- Diversität. Während sich die Alpha-Diversität auf die Diversität innerhalb einer Gemeinschaft bezieht, erlaubt die Beta-Diversität Aussagen über die Diversität zwischen mikrobiellen Gemeinschaften. Die inhaltliche Trennung bei der Interpretation und die Analyse von Mikrobiom-Daten ist dabei entscheidend. Zu den meistverwendeten Indizes zur Beschreibung der Alpha-Diversität gehören der Shannon-Index und die Anzahl der beobachteten Spezies.

Beide Untersuchungsstandorte zeigen deutliche Muster der Alpha-Diversität in Abhängigkeit des Kompartiments (Bohrstock: BS; Rhizosphäre: RZ) und des zeitlichen Verlaufs in der Vegetationsperiode (T1 - T3). Während in allen Bohrstockproben (Ausnahme: T2 Kiel) der wiederholte Anbau von Weizen zu einer Erhöhung des Shannon-Indexes führte, konnte dieses Muster in den Proben der Rhizosphäre nur in T1 festgestellt werden. Die Zeitpunkte T2 und T3 zeigen eine verminderte Alpha-Diversität in der Weizen-Selbstfolge (Abbildung 26). Auffällig ist der Wechsel (erhöht in Selbstfolge vs. vermindert in Selbstfolge) des Shannon-Indexes von T1 zu T2 in beiden Standorten, jedoch insgesamt weniger stark ausgeprägt in Kiel. Dieses Muster führt sich fort und ist auch in T3 zu beobachten gewesen. Dies könnte auf einen beginnenden Selektionsprozess der Pflanze (Rhizosphärenprozesse), mit zunehmender Entwicklung der Weizenpflanzen, hindeuten. Die Verstärkung des Effekts in Göttingen ließe sich auf eine höhere Anzahl der Weizen-Selbstfolge zurückführen, wenn auch ein strikter Vergleich schwierig ist aufgrund der Beobachtung an unterschiedlichen Untersuchungsstandorten.

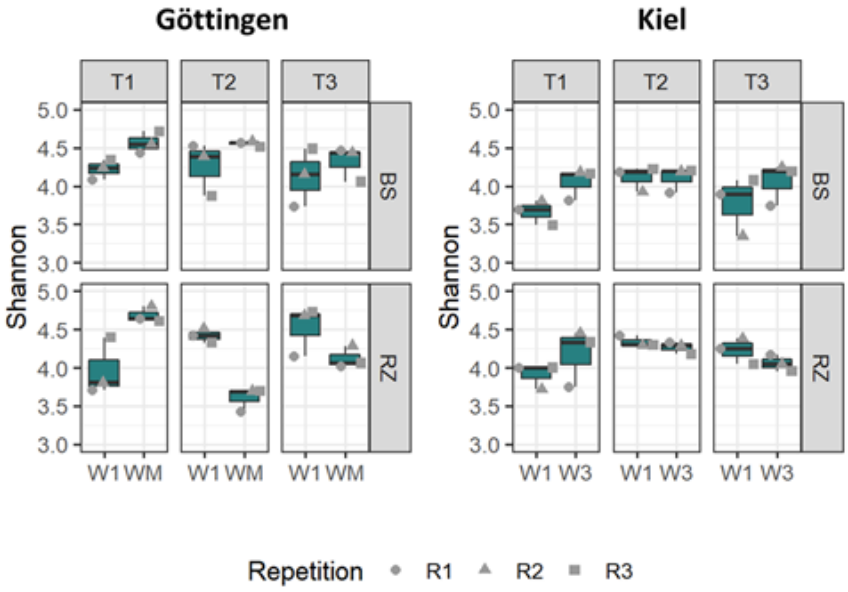


Abbildung 26 Alpha-Diversität (Shannon Index) des pilzlichen Bodenmikrobioms an den Standorten Hohenschulen (Kiel) und Harste (Göttingen). Die Alpha-Diversität ist getrennt nach Kompartiment (Bohrstock- und Rhizosphärenproben), sowie nach den Entwicklungsstadien der Weizenpflanzen (T1 - T3).

An beiden Untersuchungsstandorten zeigt sich eine deutliche Differenzierung der mikrobiellen Gemeinschaften hinsichtlich ihrer Beta-Diversität (Abbildung 27, PCoA-Analyse). Dieses Muster zeigt sich sowohl in den Proben des Bohrstocks, sowie in den Proben der Rhizosphäre. Aufgrund der gebildeten Cluster lässt sich der Einfluss der Rotation (Weizen-Selbstfolge) an der y-Achse, der Einfluss der Wachstumsstadien der Weizenpflanzen an der x-Achse ablesen. Demnach lassen sich ca. 20 % der ermittelten Varianz durch die Weizen-Selbstfolge erklären. Besonders auffällig sind die Proben der Rhizosphäre am Standort Kiel. Diese zeigen im zeitlichen Verlauf (x-Achse) eine Angleichung zueinander (y-Achse). Dies deutet auf ein Angleichen der Beta-Diversität zwischen dem ersten und dritten Weizen hin und bedeutet somit weniger unterschiedlich stark ausgeprägte pilzliche Gemeinschaften im zeitlichen Verlauf der Vegetationsperiode. Die größten strukturellen Unterschiede in der Zusammensetzung des pilzlichen Mikrobioms sind folglich während der frühen Wachstumsstadien der Weizenpflanzen (T1) zu beobachten. Ein möglicher geringer Einfluss junger Weizenpflanzen auf das pilzliche Bodenmikrobiom sind ebenso zu diskutieren und in der Interpretation zu berücksichtigen.

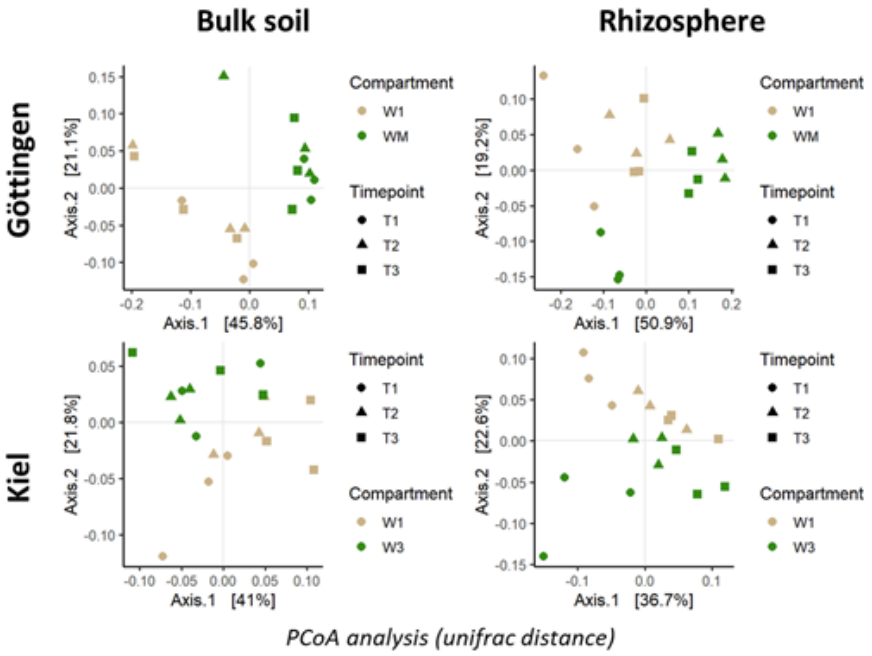


Abbildung 27 Analyse der Beta-Diversität des pilzlichen Bodenmikrobioms. Eine PCoA-Analyse (A) wurde durchgeführt zur Ermittlung von potenziellen Clustern der pilzlichen Gemeinschaften, getrennt nach Untersuchungsstandort und Kompartiment (Bohrstock und Rhizosphäre).

Detektion von Gaeumannomyces graminis var. tritici in Bodenproben

Basierend auf den phylogenetischen Verwandtschaftsbeziehungen konnte innerhalb der Ordnung der Magnaporthales die Gattung *Gaeumannomyces* identifiziert werden. Diese Gattung wird durch 2 ASVs (Amplicon sequence variants, Markersequenzen) repräsentiert, ASV288 und ASV 381 (Abbildung 28). Durch einen Sequenzabgleich mit bereits publizierten Sequenzen dieses Pilzes konnte ASV288 der Spezies *G. hyphopodioides* und ASV381 der Spezies *G. tritici* zugeordnet werden. Innerhalb der sequenzierten ITS Region (Abbildung 28, roter Kasten) unterscheiden sich beide Spezies durch eine Deletion mehrerer Basenpaaren.

Beide ASVs konnten in den Bodenproben (Bohrstock, Rhizosphäre) an beiden Standorten, in unterschiedlicher Quantität nachgewiesen werden. Die Varianten der Weizen-Selbstfolge (W3 Kiel, WM Göttingen) weisen insgesamt höhere relative Abundanzen beider ASVs auf als die Vergleichsvariante des ersten Weizens. Eine deutliche Zunahme des Erregers im Verlauf der Vegetationsperiode ist generell nicht zu beobachten. Auffällig ist, dass ASV288 in Proben der Rhizosphäre an beiden Standorten nur in sehr geringen relativen Abundanzen nachgewiesen werden konnte (Ausnahme: T2 Kiel). Die dominante Spezies in den Proben der Rhizosphäre ist *G. graminis* var. *tritici,* während in Bohrstockproben, beide ASVs in gleichem Maße detektiert werden konnten. Weiter zu untersuchen ist der Einfluss der Spezies *G. hyphopodioides* auf die Entwicklung und Ertragsbildung von Weizenpflanzen.

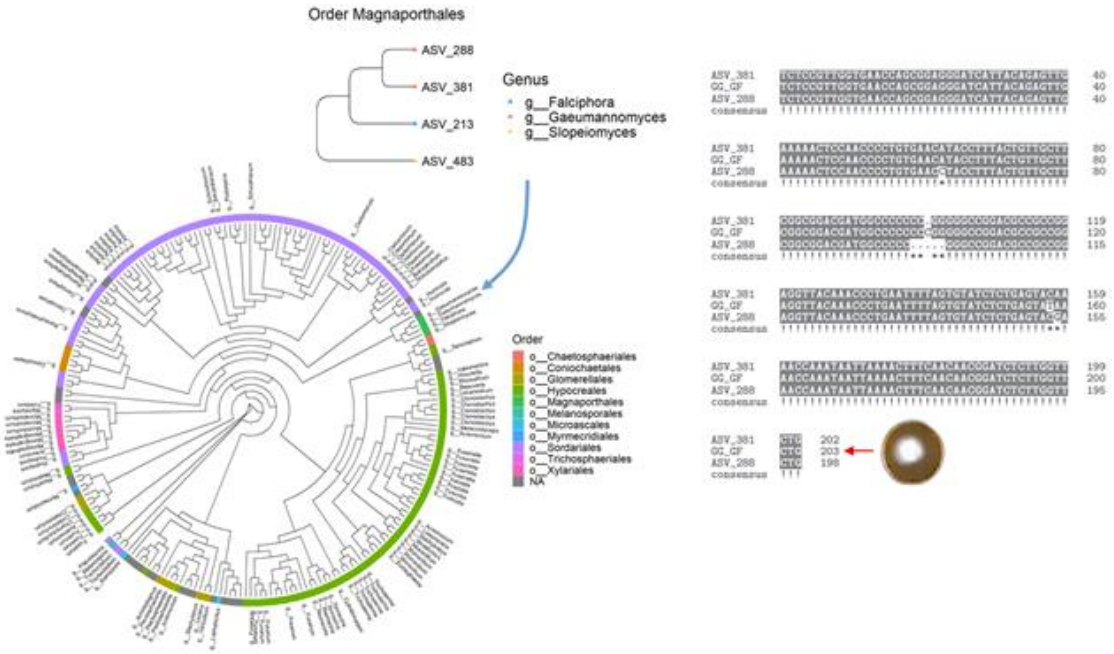


Abbildung 28 Phylogenetische Verwandtschaftsbeziehung der Ordnung Magnaporthales (A) welche die Gattung Gaeumannomyces enthält mit der phytopathogenen Spezies G. graminis. Ein multiples Sequenzalignment (B) zeigt die Sequenzähnlichkeit der ermittelten ASVs mit dem im Labor benutzten Stamm von G. graminis var. tritici.

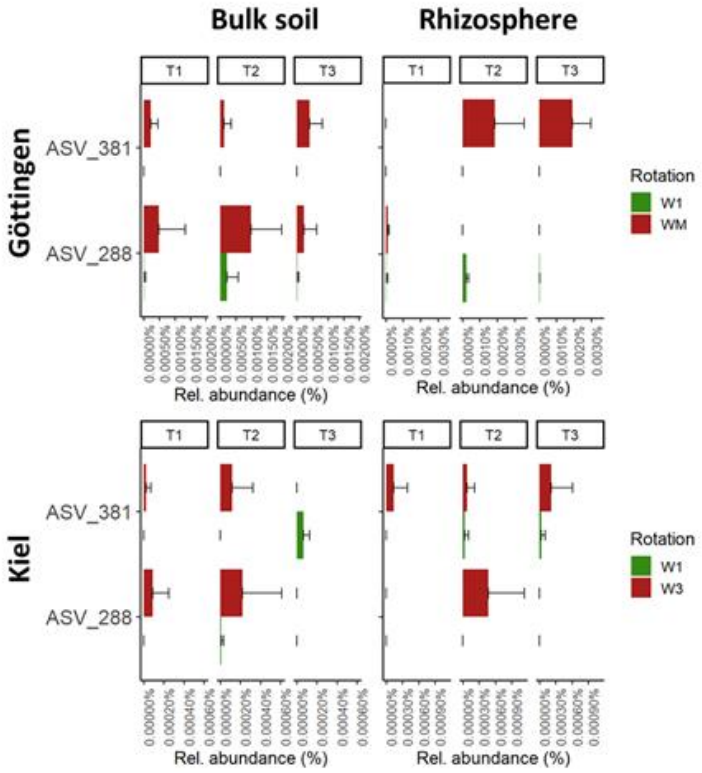


Abbildung 29 Relative Abundanzen der ASVs (ASV_288, ASV_381), welche die Gattung Gaeumannomyces repräsentieren aufgeteilt nach Untersuchungsstandort, Kompartiment und Untersuchungszeitpunkt

.

Task 3.2: Untersuchung der Genexpression und -regulation von Weizen (CAU-Phyt, FZJ)

Ergebnisse aus den Rhizoboxeperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

Identifizierung von differentiell exprimierten Genen

Um Gene (DEGs) zu identifizieren, die sich zwischen W3/WM und W1 signifikant unterschieden, wurden die Daten einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen. Das Genom-Alignment zeigte, dass 73,69 - 89,66 % der Reads eindeutig auf das Weizen-Genom (IWGSC RefSeq v1.2) lokalisiert werden konnten. Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) der acht Sequenzierungsdatensätze gruppierte die Daten in vier Gruppen, die eine gute Wiederholbarkeit zwischen den Proben für die nachfolgende Analyse zeigten.

Insgesamt wurden 1023 und 714 DEGs in Blatt bzw. in Wurzelproben am Standort Kiel identifiziert, darunter 348 und 581 hochregulierte DEGs sowie 675 und 133 herunterregulierte DEGs im Blatt bzw. in der Wurzel. Von Göttingen wurden 603 bzw. 3231 Gene in Blättern und Wurzeln identifiziert, darunter 49 bzw. 2236 hochregulierte Gene sowie 554 bzw. 995 herunterregulierte Gene in Blättern und Wurzeln (Abbildung 30). Interessanterweise wurden an beiden Standorten in Blättern mehr herunterregulierte DEGs identifiziert, während in Wurzeln mehr hochregulierte DEGs gefunden wurden. In jeder der ermittelten Gruppen konnten 414, 347, 227 und 1576 Transkriptionsfaktoren (TFs) identifiziert, die jeweils 40,47 %, 48,60 %, 37,65 % und 48,78 % der jeweils DEGs ausmachten (Tabelle 2).

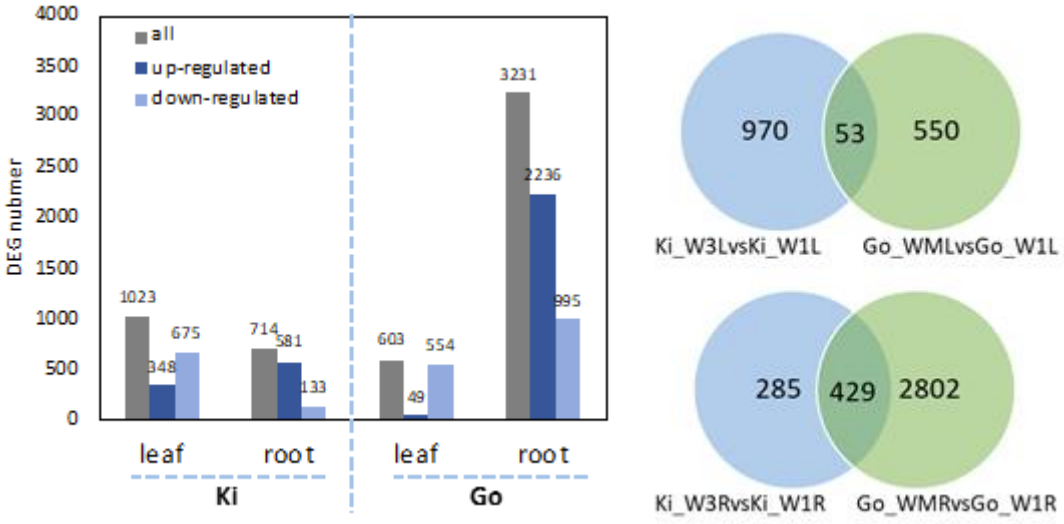


Abbildung 30 Anzahl von DEGs (A) und Venn-Diagramm Analyse (B) aus Blatt- und Wurzelproben in Kiel und Göttingen durch Vergleich von W3 mit W1 bzw. WM mit W1.

Tabelle 2 Anteil an Transkriptionsfaktoren (TFs) unter den identifizierten differentiell exprimierten Genen (DEGs) im Vergleich der Weizen-Selbstfolge.

Comparison	all TFs in %	up-regulated TFs in %	down-regulated TFs in %
Ki_W3L vs. Ki_W1L	414/40.47%	164/47.13%	250/37.04%
Ki_W3R vs. Ki_W1R	347/48.60%	289/49.74%	58/43.61%
Go_WML vs. Go_W1L	227/37.65%	25/51.02%	202/36.46%
Go_WMR vs. Go_W1R	1576/48.78%	1007/45.04	569/57.19%

Funktionelle Analyse in silico

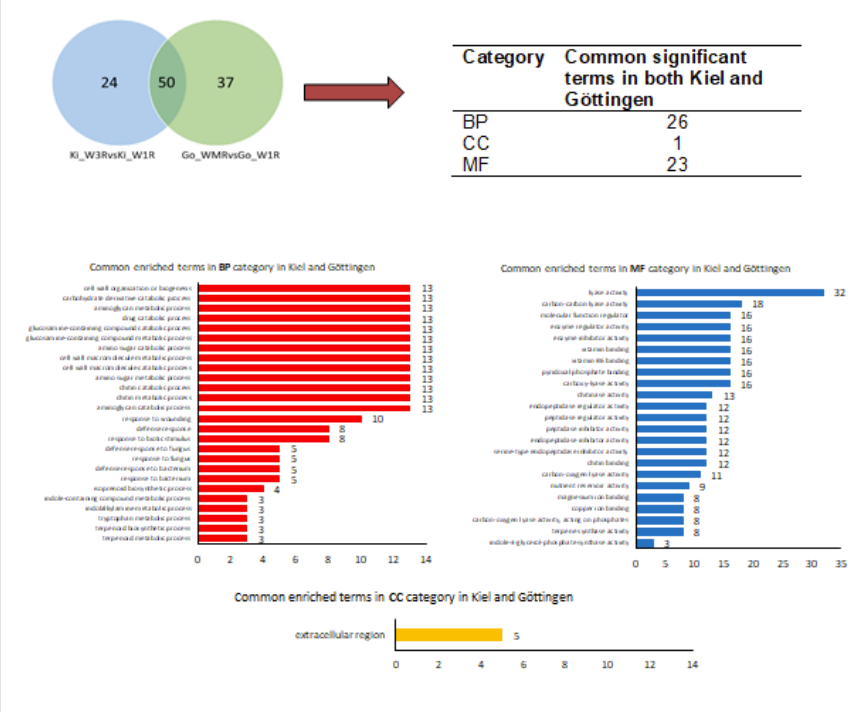
Mittels der GO Enrichment-Analyse wurden 124 GO-Terme in die Kategorie „Biologischer Prozess“ (BP), 18 in die Kategorie „Zelluläre Komponente“ (CC) und 103 in die Kategorie „Molekulare Funktion“ (MF) eingeordnet (Tabelle 3). Die am häufigsten vorkommenden Terme in der BP Kategorie sind Metallionentransport (14 von 395) und zellulärer Kohlenhydrat-Stoffwechselprozess (13 von 395), während eine große Anzahl von Genen, die an Enzym-Inhibitor-Aktivität (14 von 552), Enzym-Regulator-Aktivität (14 von 552), molekularem Funktionsregulator (14 von 552) und antioxidativer

Aktivität (14 von 552) beteiligt sind, in der MF-Kategorie in Blättern (Kiel) entdeckt wurden. In Blattproben von Göttingen waren die am häufigsten vorkommenden Terme jedoch viel geringer und verschieden zu denen aus Kiel. Lediglich 5 bzw. 6 Gene der BP-Kategorie konnten mit der Reaktion auf Auxin (5 von 182) und in der MF-Kategorie mit der Acetyltransferase-Aktivität (6 von 315) ermittelt werden, was darauf hindeutet, dass die gefundenen Terme in den Weizen-Blättern aus Kiel und Göttingen stark variieren.

Im Gegensatz dazu wurden 50 signifikante Terme in Wurzelproben beider Untersuchungsstandorte identifiziert. Darunter sind 26 GO-Terme in biologischen Prozessen, ein Term in zellulären Komponenten und 23 in molekularen Funktionen (Abbildung 31). Insbesondere in den biologischen Prozessen waren DEG assoziierte GO Terme signifikant erhöht, welche Funktionen im Katabolismus von Chitin erfüllen, sowie in Stoffwechselprozessen von Aminozuckern und der Zellwandorganisation und Biogenese. Ebenso konnten Terme, die mit der pflanzlichen Reaktion auf Bakterien und Pilzen assoziiert sind, identifiziert werden. In der Kategorie der zellulären Komponenten wurde als einziger der Term „extrazelluläre Region“ als signifikant erhöht ermittelt. In der Kategorie der molekularen Funktionen wurden mehrere DEG assoziierten GO-Terme ermittelt: Nährstoffreservoir-Aktivität, Lyase-Aktivität, Indol-3-Glycerinphosphat-Synthase-Aktivität, Carboxy-Lyase-Aktivität sowie Chitinase-Aktivität und -Bindung. Dies deutet stark auf einen Effekt der Fruchtfolge auf physiologische Prozesse der Wurzeln von Weizen hin.

Tabelle 3 Anzahl von signifikanten GO-Termen welche involviert sind im Vergleich der Weizen-Selbstfolgen (W3 vs. W1 & W1 vs. WM) in Kiel und Göttingen.

Category	**total**	**Ki_W3L vs. Ki_W1L**	**Ki_W3R vs. Ki_W1R**	**Go_WML vs. Go_W1L**	**Go_WMR vs. Go_W1R**
BP	124	29	37	22	36
CC	18	2	1	10	5
MF	103	17	36	4	46



Category	Common significant terms in both Kiel and Göttingen
BP	26
CC	1
MF	23

Abbildung 31 GO-Analysen von DEGs aus Wurzelproben in Kiel und Göttingen durch Vergleich von W3 mit W1 (Kiel) bzw. WM mit W1 (Göttingen).

Ergebnisse der KEGG-Analyse

Zur funktionellen Klassifizierung von DEGs, wurde eine KEGG-Enrichment Analyse durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass einige wichtige Signalwege, wie z. B. Hormon-Signaltransduktion und Stickstoffmetabolismus sowohl in Blätter- als auch in Wurzelproben aktiviert wurden, was darauf hindeutet, dass sie möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Anpassung bzw. der physiologischen Veränderungen der Weizenpflanzen an die Fruchtfolge spielen. Vor allem in der Wurzel wurden 25 und 162 DEGs zu 24 bzw. 78 KEGG-Signalwegen in Kiel und Göttingen zugeordnet. Die Phenylalanin-, Tyrosin- und Tryptophan-Biosynthesewege der Weizenpflanzen an beiden Standorten sind signifikant hochreguliert (p_{adj} <0,05). Darüber hinaus wurden die Signalwege Phenylpropanoid-Biosynthese und Terpenoid -Biosynthese in den Wurzeln der Weizenpflanzen beider Untersuchungsstandorte signifikant hochreguliert. Abbildung 32 stellt die 20 Stoffwechselwege mit den meisten DEGs, dar, die an der Reaktion auf Fruchtfolgen bei Weizen beteiligt sind. Darunter sind Terme des Stärke- und Saccharosestoffwechsels, der Pflanze-Pathogen-Interaktion, MAPK-Signalweg, SNARE-Interaktion beim vesikulären Transport und Kohlenstofffixierung zu finden.

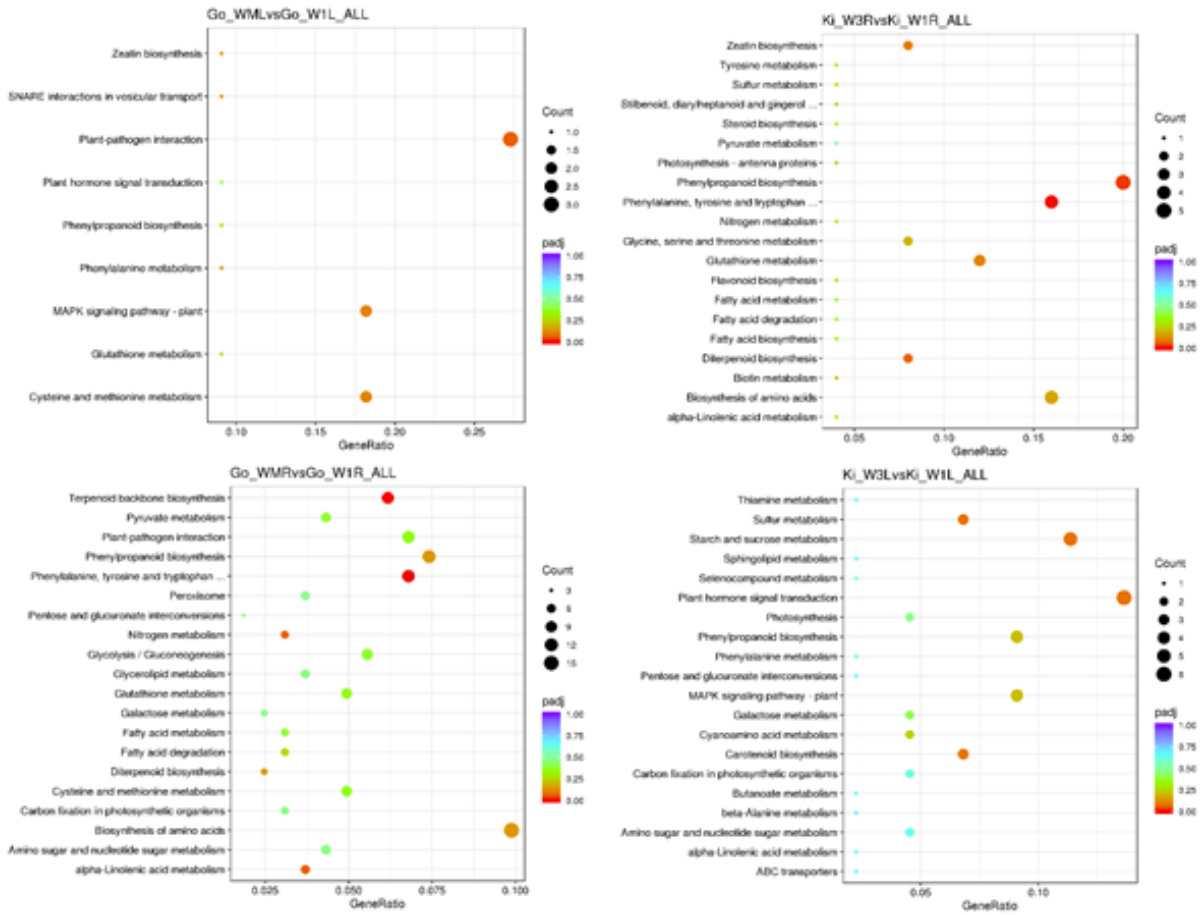


Abbildung 32 KEGG Analysen von DEGs aus Blatt- und Wurzelproben in Kiel und Göttingen durch Vergleich von W3 mit W1 (Kiel) bzw. WM mit W1 (Göttingen). In dem Diagramm wurden nur die 20 am stärksten vertretenen Pathways angezeigt.

Zusätzlich zu den bisher bereits gewonnenen Erkenntnissen (Jahr 2021) der differenziell exprimierten Gene, wurden auch im Jahr 2022 Feldproben aller Kompartimente (Fahnenblatt und Wurzel) genommen und hinsichtlich ihrer Genexpression hin, untersucht. Aufgrund zuvor erarbeiteter Erkenntnisse, wurden nur die Proben aus Göttingen erneut per NGS sequenziert (RNAseq) und erweitern somit den bereits vorhandenen Datensatz um ein weiteres Versuchsjahr. Die gewonnenen Reads wurden vor der Analyse einer standardmäßigen Qualitätskontrolle unterzogen, mit dem Ziel qualitativ schlechte, sowie fehlerbehaftete und zu kurze Reads auszusortieren. Anschließend wurden alle Reads auf die gleiche Weise prozessiert, wofür grundlegend folgende Schritte durchgeführt wurden: Filtern anhand der Sequenzierungsqualität und der Readlänge, Lokalisation der Reads auf dem Weizengenom (Referenzgenom: IWGSC RefSeq v1.2), Quantifizierung der Transkripte (differenzielle Expression), sowie die Ermittlung von Signalwegen (Gene-ontology Analyse, GO und KEGG), welche durch die zuvor differenziell exprimierten Transkripte charakterisiert werden. Eine Übersicht der Anzahl der differentiell exprimierte Gene (differential expressed genes, DEGs) ist Abbildung 1 zu entnehmen.

Es konnte festgestellt werden, dass die Selbstfolge von Weizen (W3 vs. W1 und WM vs. W1) zu signifikanten Veränderungen der Genexpression und -regulation führte. Im Fahnenblatt (Göttingen, T3) konnten 783 hoch- und 1527 runterregulierte Gene identifiziert werden, während im Wurzelgewebe 1655 hoch- und 601 runterregulierte Gene nachgewiesen wurden. Die differentiell exprimierten Gene konnten zu mehreren molekularen und physiologischen Prozessen assoziiert werden, welche die Ertragsbildung von Weizen beeinflussen können. Dazu zählen vor allem Prozesse in Assoziation zu Pflanzenentwicklung, Wurzelwachstum (Wurzelhaarbildung, Wurzelmorphologie), Wurzelaktivität (Rezeptor, Enzymkinetik, Transporter), Nährstofftransport und -metabolismus, Photosynthese sowie

Pathogenabwehr. Basierend auf den identifizierten DEGs konnten mehrere Marker-Gene selektiert und mittels RT-qPCR erfolgreich validiert werden. Die zugrundeliegenden Mechanismen der Veränderung der Genexpression durch die Weizenselbstfolge stellt ein besonderes Interesse folgender Untersuchungen dar, besonders im Hinblick ihrer Interaktion mit kleinen RNAs (smallRNA - sRNA), sowie epigenetischen Modifikationen.

Identifikation differenziell exprimierter sRNAs

Die Zusammensetzung der Proben, welche zur Ermittlung der Genexpression genutzt wurden, entspricht auch der zur Identifizierung und Expression von sRNA. Die Analyse von smallRNAs und deren assoziierter Ziel-Gene gehört zu sehr umfangreichen bioinformatischen Analysen und befindet sich aufgrund dessen noch in intensiver Bearbeitung. Dennoch konnten bereits genomweite sRNA-Expressionsmuster (Abbildung 33) von sRNAs verschiedener Länge (20nt: 509; 21nt: 1125; 22nt: 785; 23nt: 1054 und 24nt: 4195), hervorgerufen durch die Weizen-Selbstfolge, identifiziert werden. Die zu der Gruppe der miRNA (microRNA) gehörenden sRNA spielen eine wesentliche Rolle in der Genregulation von Genen und stellen daher primäre Kandidaten für anschließende Analysen im Labor dar.

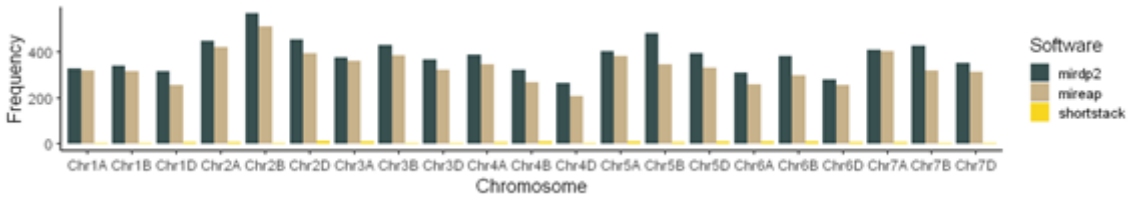
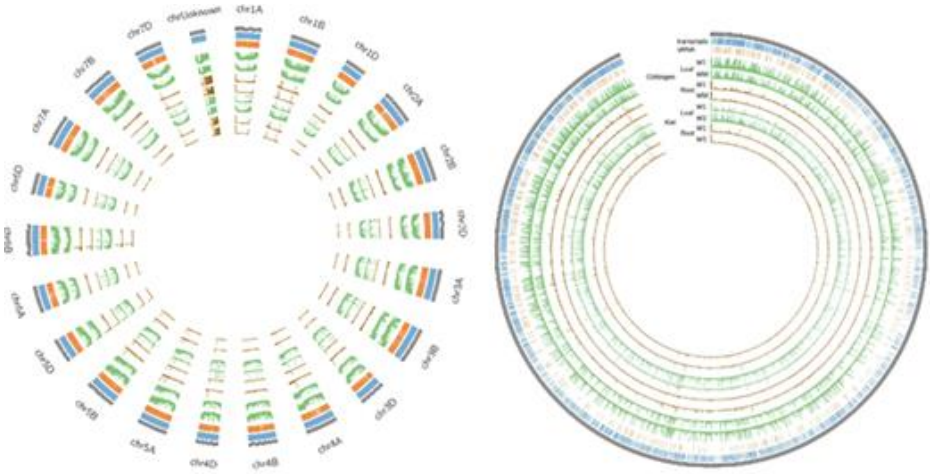


Abbildung 33 Genomweite Verteilung identifizierter smallRNA unter Zuhilfenahme mehrerer Software-Pakete.

Das Vorhandensein/Fehlen von 24nt sRNA-Clustern in Gen-nahen Bereichen wird oft assoziiert mit veränderter Genexpression. Das Identifizieren und Charakterisieren solcher 24nt-Cluster stellt daher einen weiteren wichtigen Mechanismus in der Untersuchung genregulatorischer Mechanismen, begründet durch die Weizen-Selbstfolge, dar. Solche Cluster konnten Genom-weit nachgewiesen werden (Abbildung 34). Deren biologische und funktionelle Bedeutung ist Gegenstand aktueller bioinformatischer Analysen.



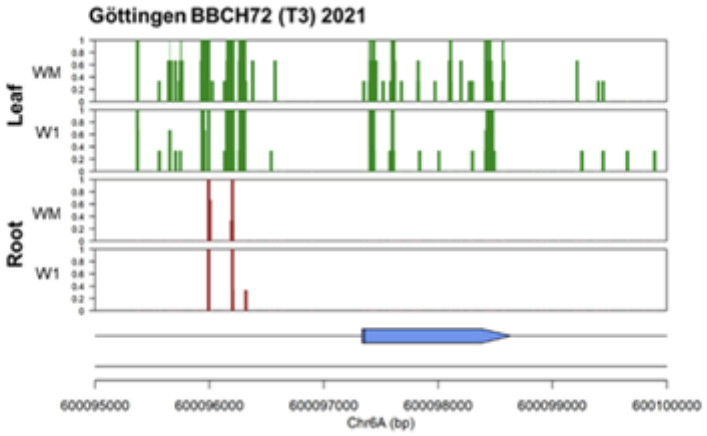


Abbildung 34 Genomweite Verteilung und Abundanz (A) von 24 nt sRNA-Clustern bedingt durch die Weizen-Selbstfolge, ein Detailauszug von Chr1a (B), sowie auf Genebene von Chr6A (C).

Identifikation von 24nt sRNA-vermittelter epigenetischer Modifikationen

Durch whole-genome-bisulfite-sequencing (WGBS) konnten erste Erkenntnisse, von selektierten Proben (Göttingen, T1), bestehend aus Wurzel- und Blattproben, herausgearbeitet werden. Nach einer chemischen Behandlung der isolierten DNA, wurde diese nachfolgend sequenziert und durch Abgleich mit dem Weizenreferenzgenom (IWGSC RefSeq v1.2) genomische Regionen ermittelt, welche den sequenzierten Reads entsprechen, jedoch abweichende komplementäre Basen zu Cytosin (C) aufweisen. Aufgrund ausreichend hoher Abdeckung der gleichen Region können signifikant unterschiedliche Methylierungsmuster (CHG, CHH, MergedCHG) zwischen verschiedenen Proben und genomischen Regionen nachgewiesen werden. Entsprechend diesem methodischen Vorgehen war es möglich genomweite epigenetische Modifikation nachzuweisen, ausgelöst durch die Weizen-Selbstfolge (WM vs. W1, Göttingen, Abbildung 35). Die Arbeiten befinden sich derzeit in intensiver Bearbeitung.

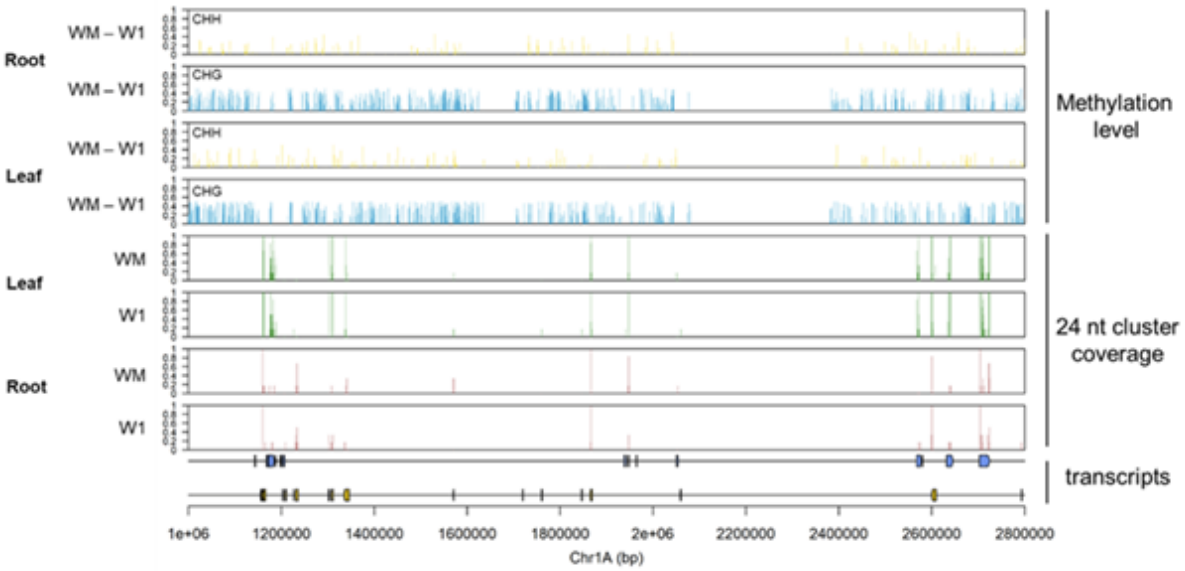


Abbildung 35 Genomweite Lokalisation epigenetischer Modifikationen (Methylierungslevel) und Verteilung von 24nt sRNA-Clustern auf einem Abschnitt von Chr1A.

Identifikation von 24-nt sRNA-Cluster und ihre Rolle während wiederholtem Weizenanbau

Das spezifische Auftreten und die genomweite Verteilung von 24-nt sRNA Clustern wird in Verbindung gebracht mit der *de-novo* Methylierung von Genen und kann dadurch Einfluss auf dessen Expression und Regulation nehmen. Die quantitative Häufigkeit der Cluster, sowie ihre Verteilung waren Gegenstand der durchgeführten Analysen. Als Grundlage wurden die bereits generierten genomischen Sequenzen der sRNAseq verwendet. Diese wurden in Abhängigkeit des Kompartiments (Blatt und Wurzel) gegen das Weizengenom gemappt. Es wurden gemeinsame Cluster identifiziert und vergleichend zwischen der Rotationsfolge und untersuchten Jahre verglichen. Die Verteilung der ermittelten Cluster ist Abbildung 36 zu entnehmen. Auffällig ist die stark erhöhte Anzahl an Cluster in den Blattproben im Vergleich zu den Wurzelproben. In Anbetracht der Größenverteilung aller identifizierter Cluster ist festzuhalten, dass der Großteil zwischen 24 bp und 200 bp lang ist (Blatt und Wurzel). Der erste Weizen (W1) zeigt in den Blatt- aber auch in den Wurzelproben eine erhöhte Anzahl (Abbildung 36A).

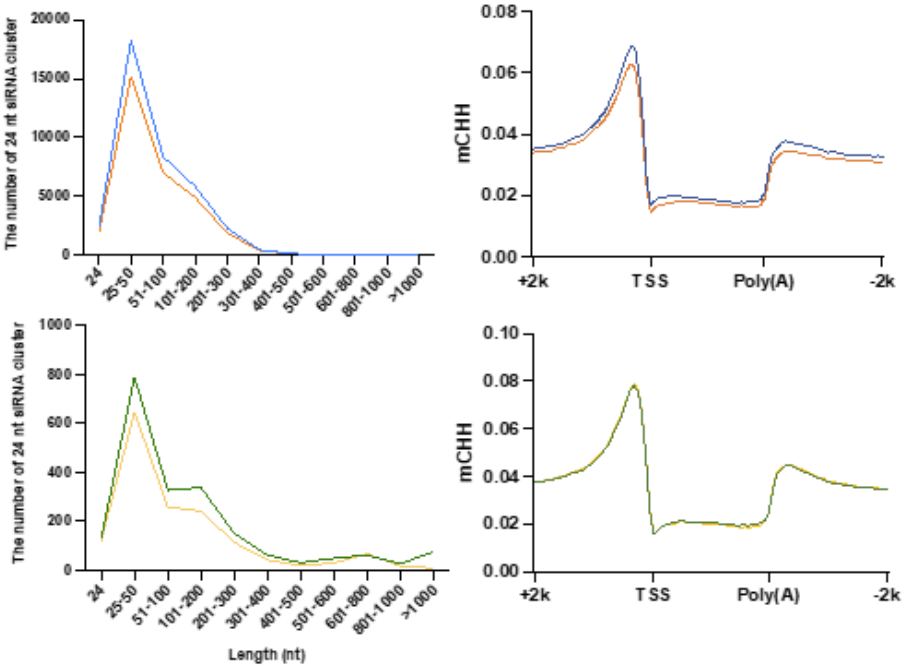


Abbildung 36 Größenverteilung aller identifizierter Cluster in Blatt- und Wurzelproben für die Rotationen W1 und WM aufgeteilt nach Kompartimenten (A). Genomweite mittlere Methylierungsrate (mCHH) in Abhängigkeit des Kompartiments und der Rotationsfolge (B). W1: erster Weizen; WM: Weizen-Monokultur; TSS: Transcription start site; L: Leaf, R: Root.

Die Methylierungsrate (mCHH) zeigt in Abhängigkeit der genomischen Lage (2 kbp upstream, TSS, Poly(A), 2 kbp downstream) hohe Übereinstimmung in den Wurzelproben. Die Methylierungsrate steigt kontinuierlich bin zum TSS an, ist dort jedoch am niedrigsten (Abbildung 37). Ein stark ähnlicher Verlauf konnte auch in den untersuchten Blattproben nachgewiesen werden, jedoch mit einem generell erhöhten Niveau im ersten Weizen. Es konnten Kandidatengene erneut ermittelt werden, die bereits in der Transkriptom-Analyse (RNAseq) durch signifikante Änderung ihrer Expression in Abhängigkeit der Rotationsfolge identifiziert wurden (Abbildung 37).

Abbildung 37 Abdeckung (Coverage) zweier an der Photosynthese beteiligter Gene mit 24 nt Sequenzen.

Weiter wurden differentiell methylierte Gene identifiziert, die mit Stoffwechselprozessen und Signalwegen während der Pathogenabwehr assoziiert sind. Dazu gehören Krankheits-assoziierte Resistenzproteine, aber auch Transkriptionsfaktoren wie ERF1 (Abbildung 38).

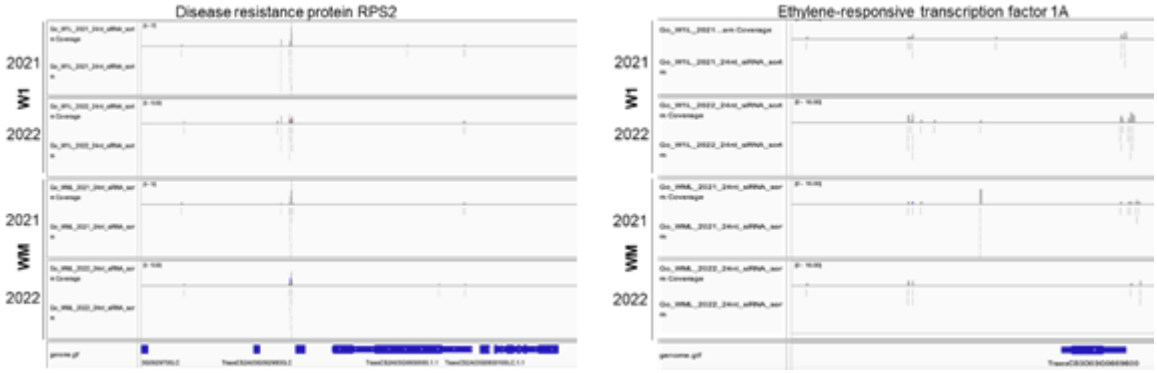


Abbildung 38 Abdeckung (Coverage) zweier an der Resistenzreaktion beteiligter Gene mit 24-nt Sequenzen.

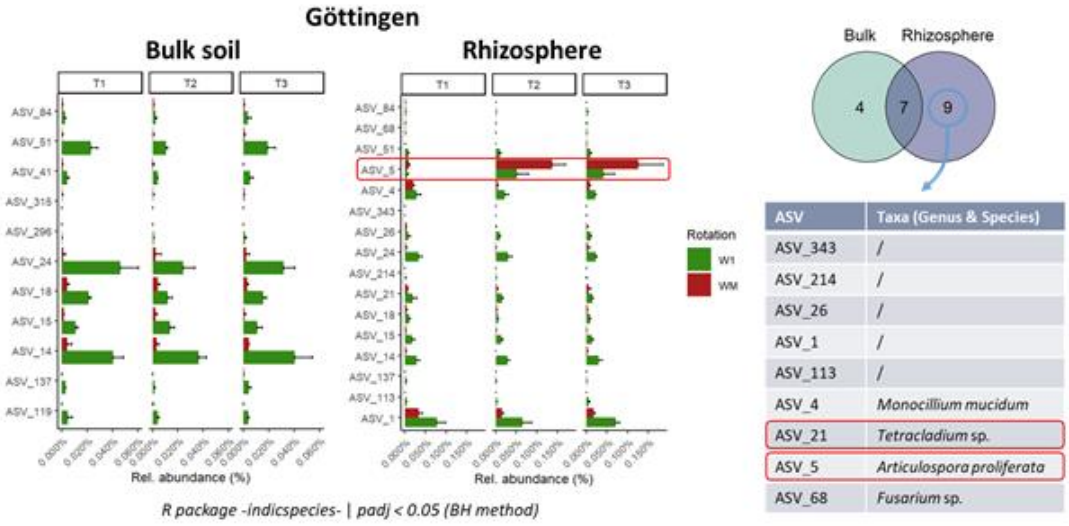
Task 3.3: Identifizierung pflanzennützlicher, sowie -schädlicher Mikroorganismen und ihre potentielle Nutzung für die praktische Landwirtschaft (CAU-Phyt, JKI, FZJ)

Ergebnisse aus den Rhizoboxexperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

Identifizierung von pilzlichen Leitorganismen in Abhängigkeit der Weizen-Selbstfolge

Zur Identifizierung von Leitorganismen wurde eine Spezies-Indikatoranalyse durchgeführt. In dieser konnten mehrere ASVs ermittelt werden, welche als Indikatoren für die strukturelle Zusammensetzung des pilzlichen Bodenmikrobioms der Weizen-Selbstfolge repräsentativ sind (Abbildung 39). Im Vergleich der Indikatoren aus beiden Kompartimenten (Bohrstock und Rhizosphäre) des Untersuchungsstandortes Göttingen konnten insgesamt 9 ASVs identifiziert werden, deren Vorkommen spezifisch für die Rhizosphäre ist, während 7 ASVs in beiden Kompartimenten vorkommen und 4 spezifisch für die untersuchten Bohrstockproben sind.

Aufgrund der höchsten Interaktion mit der Pflanze sind die ermittelten Indikatoren der Rhizosphäre von besonderem Interesse. Unter diesen konnten 4 ASVs taxonomisch annotiert werden: ASV4 *Monocillium mucidum*, ASV21 *Tetracladium* sp., ASV5 *Articulospora proliferata* und ASV68 als *Fusarium* sp. Die funktionelle Bedeutung dieser identifizierten Leitorganismen ist Gegenstand aktueller Arbeiten. In den Bohrstockproben am Standort Kiel konnte ASV41 als *Plectosphaerella* sp. annotiert werden.



ASV	Taxa (Genus & Species)
ASV_343	/
ASV_214	/
ASV_26	/
ASV_1	/
ASV_113	/
ASV_4	*Monocillium mucidum*
ASV_21	*Tetracladium* sp.
ASV_5	*Articulospora proliferata*
ASV_68	*Fusarium* sp.

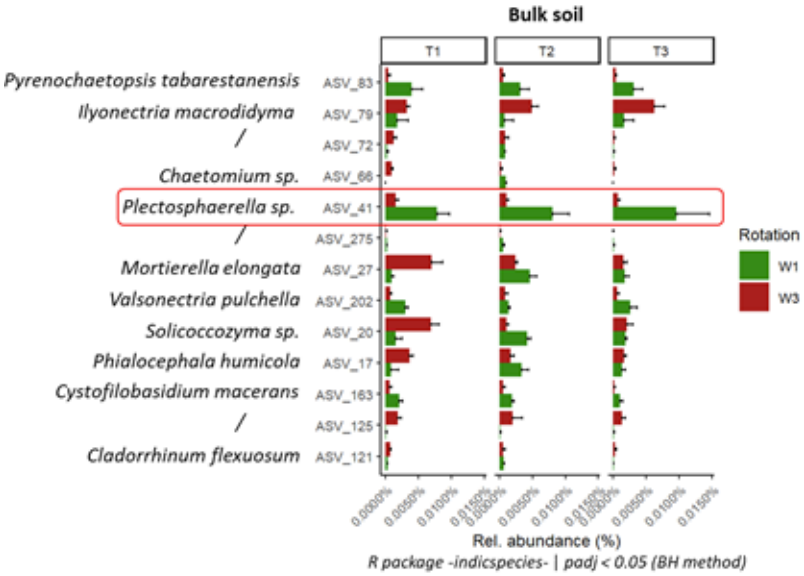


Abbildung 39 Indikator-Spezies Analyse mittels der relativen Abundanzen der ASVs. Durch eine Indikator-Spezies Analyse konnten mehrere ASVs ermittelt werden, welche signifikant durch die Weizen-Selbstfolge beeinflusst sind. Am Standort Göttingen konnte in beiden Kompartimenten (A) Leitorganismen ermittelt werden, während dies in Kiel nur in den Bohrstockproben möglich war. Neben Organismen, welche in beiden Kompartimenten in Göttingen vorkamen, konnten auch Rhizosphären-spezifische Leitorganismen identifiziert werden (B). Die Analyse wurde mit dem R-package „indicspecies" durchgeführt. Nur signifkante ASVs (p_{adj}<0.05) wurden berücksichtigt.

Entwicklung von Mikroben-Cocktails zur gezielten Veränderung des Wurzel-Mikrobioms gegen Ertragsdepressionen

Es wurden Bakterienisolate aus verschiedenen Rotationen und Mikrohabitaten zur Weizenblüte (BBCH 60) in 2020 gewonnen. Die über 700 R2A-Isolate wurden in vitro auf verschiedene pflanzennützliche Eigenschaften getestet (z.B. ihre antagonistische Aktivität gegenüber wichtigen getreidepathogenen Bodenpilzen, die Produktion hydrolytischer Enzyme und Siderophore; Tabelle 4). Davon wurden 428 Isolate (vor allem aus Rhizosphäre und Rhizoplane) mittels Sanger-Sequenzierung eines Fragmentes des 16S rRNA Gens identifiziert, um später einen Vergleich wichtiger Isolate mit den Amplikonsequenzierungsdaten (kultivierungsunabhängiges Verfahren) durchführen zu können.

Tabelle 4 Anzahl der zufällig ausgewählten Bakterienisolate aus verschiedenen Mikrohabitaten und Fruchtfolgepositionen (Weizenrotationen W1, W2, W3, WM) der Standorte Harste (= schluffiger Lehm) und Hohenschulen (= sandiger Lehm) zum Zeitpunkt der Blüte (BBCH60) sowie deren antagonistische Aktivität gegenüber drei Getreidepathogenen Fusarium graminearum (Fg1), Rhizoctonia solani AG-8 (Rs), und Gaeumannomyces tritici (Ggt) und deren enzymatische Aktivität in vitro.

Location	Rotation	Microhabitat	Number of isolates with fungal antagonistic activity			Number of isolates with enzymatic activity					Total number isolates	Number of sequenced isolates
			Fg1	Rs	Ggt	Cellulase	Glucanase	Protease	Chitinase	Siderophore		
Silty loam	W1	BS	3	2	7	3	29	22	3	1	51	
		RH	0	3	0	2	27	21	0	9	52	36
		RP	0	5	7	19	25	32	3	31	50	42
	W2	BS	9	5	14	0	6	16	3	5	50	
		RH	0	5	1	12	24	14	3	20	50	39
		RP	7	7	12	3	18	32	4	14	50	46
	WM	BS	13	14	26	1	7	14	0	14	52	
		RH	0	1	7	17	25	14	2	22	53	38
		RP	1	6	11	0	32	18	0	28	51	47
Sandy loam	W1	BS	2	7	6	14	8	9	6	16	51	
		RH	0	2	5	12	15	12	2	23	51	40
		RP	3	7	5	20	23	24	2	23	54	48
	W3	BS	6	3	12	7	7	6	0	17	44	
		RH	0	2	6	6	7	12	1	17	54	47
		RP	4	1	16	38	40	24	0	28	54	45
Total			**48**	**70**	**135**	**154**	**293**	**270**	**29**	**268**	**767**	**428**

Der höchste Anteil an Bakterien mit antagonistischem Potential gegenüber dem Erreger der Schwarzbeinigkeit (Ggt) wurde im Boden und in der Rhizoplane der mehrjährigen Weizenrotationen gefunden (W2_18% und WM_28% in Harste, W3_22% in Hohenschulen) im Vergleich zur Rotation W1 (9% Harste; 10% Hohenschulen, Tabelle 4). Auf Genus-Ebene konnten die meisten Isolate der Rhizosphäre als *Arthrobacter* spp. und *Bacillus/Peribacillus* spp. identifiziert werden, gefolgt von *Pseudomonas* und *Sphingobacterium*. Die häufigsten Isolate der Rhizoplane waren dagegen

Flavobacterium spp., *Pedobacter* spp., und *Microbacterium* spp., gefolgt von *Pseudomonas* spp., *Stenotrophomonas* spp. und *Variovorax* spp. (Abbildung 40).

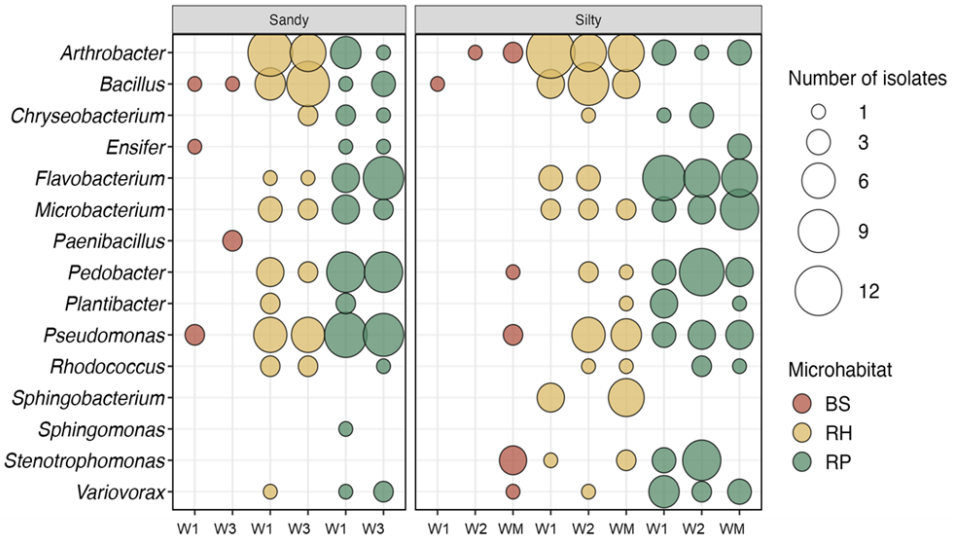


Abbildung 40 Verteilung der am häufigsten identifizierten kultivierbaren Bakterienisolate aus dem wurzelfreien Boden (BS), der Rhizosphäre (RH) und Rhizoplane (RP) verschiedener Weizenfruchtfolgep ositionen der sandigen bzw. schluffigen Böden der beiden Standorte.

Ausgewählte Bakterienisolate mit pflanzenwachstumsfördernden Eigenschaften aus dem sandigen Boden wurden in unabhängigen Gewächshausversuchen zum Zwecke des Wurzelmikrobiom-Managements in dem von Wachstumsdepressionen betroffenen Boden (W3 Boden aus Hohenschulen-Kiel) untersucht. Die Bakterien wurden aufgrund ihrer wachstumsfördernden sowie antagonistischen Eigenschaften gegenüber bodenbürtigen Pilzen selektiert (Abbildung 41). Des Weiteren wurden sie wegen ihrer unterschiedlichen Nährstoffansprüche, d.h. geringem Grad an ökologischer Ähnlichkeit für Konsortien ausgewählt. Darüber hinaus wurden die Konsortien basierend auf hemmenden Eigenschaften einzelner Isolate gegen den Schwarzbeinigkeits-Erreger (Ggt) oder anderen pflanzenwachstumsfördernden Eigenschaften sowie ihrer Dominanz in der Bakteriengemeinschaft selektiert, z. B. das S*phingomonas populi*-Isolat wurde ausgewählt, da diese Bakterien zu den am häufigsten vorkommenden Bakteriengattungen im bakteriellen Mikrobiom gehörten, und deshalb eine wichtige Funktion in der Bakteriengemeinschaft vermutet wurde.

Abbildung 41 Selektion der pflanzennützlichen Rhizobakterien für die Gewächshausversuche basierend auf pilzhemmenden Eigenschaften und phytopathologisch relevanter Funktionen (Phytohormonproduktion (ACC, IAA); Phosphatlösungsvermögen (PO4), Antibiotikaproduktion (DAPG, PCA, PRND). Der Index gibt die Intensität der entsprechenden Funktion an (0 = keine Produktion; 3 = hohe Produktion, gemessen anhand der Hemmzone im Plattentest (in mm)).

Im Detail wurden aus den sandigen Böden erst neun, später vier Bakterienisolate (Abbildung 41, Abbildung 42A&B) ausgewählt und deren Förderung von Pflanzenwachstum und –gesundheit *in vivo* in Gewächshausversuchen überprüft. Dabei wurden sowohl die Einzelisolate also auch verschiedene Konsortien (synthetische Gemeinschaften) als Saatgutapplikation an Weizen getestet. Um zunächst eine reine Pflanzenwachstumsförderung durch die bakteriellen Inokulanzien zu testen, wurden Versuche ohne Zugabe des Pathogens (Ggt) durchgeführt (Abbildung 41A). Um neben der

Wachstumsstimulation auch eine Krankheitsunterdrückung zu testen, wurden in weiteren Versuchen auch das Pathogen (Ggt) als Myzelpuder (1%) dem Boden 48 h vor der Aussaat des Versuches beigemischt.

Die Pflanzenwachstumsförderung wurde anhand der Wurzel- und Sprossgewichte bzw. das Wurzellängenwachstum jeder Einzelpflanze (n=10) nach vier Wochen bestimmt. Eine Krankheitsbonitur an der Wurzel (Take-all disease index anhand von Befallsklassen) wurde an jeder Einzelpflanze nach Abwaschen des anhaftenden Bodens aus jeder Behandlung durchgeführt.

Bei der Untersuchung der reinen Wachstumsförderung zeigte ein *Bacillus pumilus* Isolat sowie das *Sphingomonas populi* Isolat sehr gute Ergebnisse, da sie sowohl die unterirdische Wurzelbiomasse als auch die oberirdische Blattmasse erhöhten (Abbildung 41A). Bei erhöhtem Krankheitsdruck durch Zugabe von Ggt konnten verschiedene zu den Pseudomonaden gehörende Isolate (*Pseudomonas brassicacearum, P. asgharzadehiana*), aber auch die bakteriellen Konsortien 1 und 2 die typischen Krankheitssymptome signifikant reduzieren (Abbildung 41B, unten links) und das Weizenwachstum (Wurzellängenwachstum) fördern (Abbildung 41B, unten rechts). Diese positiven Effekte konnten in unabhängigen Versuchswiederholungen im Gewächshaus bestätigt werden.

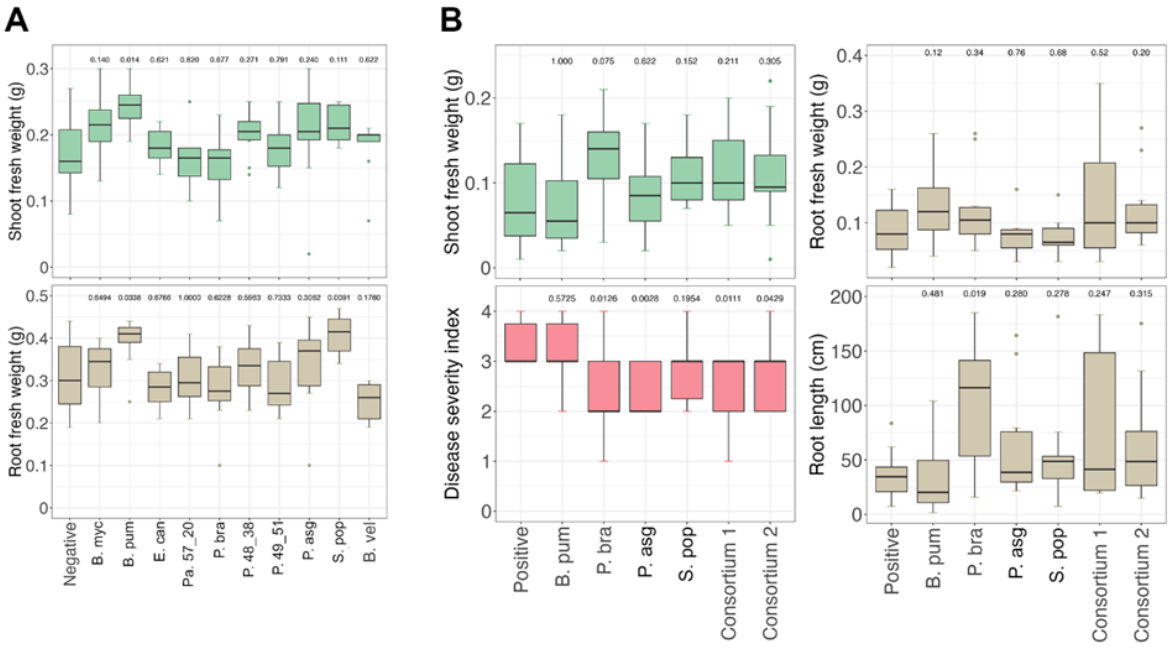


Abbildung 42 (A) Spross- und Wurzelfrischgewichte von Pflanzen vier Wochen nach Saatgutapplikation verschiedener Bakterienisolate, aber ohne Zugabe des phytopathogenen Pilzes Ggt; (B) Frischgewichte der Spross- und Wurzelbiomasse, Wurzellänge und Krankheitsboniturstufen in einem Gewächshausversuch nach Saatgutbehandlung mit Rhizobakterien und Zugabe von Ggt 48 h vor der Aussaat. Verwendete Rhizobakterien: Bacillus mycoides (B. myc), B. pumilus (B. pum), Ensifer canadensis (E. can), Pseudomonas brassicacearum (P. bra), Pseudomonas sp. (P. 49_51), Paenibacillus sp. (Pa. 57_20), Pseudomonas sp. (P. 48_38), Pseudomonas asgharzadehiana (P. asg) und Sphingomonas populi (S. pop); Konsortien: Konsortium 1 = Bacillus pumilus + Pseudomonas brassicacearum + Sphingomonas populi und Konsortium 2 = Bacillus pumilus + Pseudomonas asgharzadehiana + Sphingomonas populi. Vertikale Balken entsprechen Standardfehlern und die statistische Signifikanz (Wilcoxon-Test, p-Werte angepasst mit der Bonferroni-Methode) zwischen den Behandlungsmittelwerten wird als p-Wert über den Balkendiagrammen angezeigt.

Zusammenfassend zeigen unsere Untersuchungen das Vorhandensein nützlicher Bakterien in Weizenselbstfruchtfolgen. Die gezielte Einbringung dieser Rhizobakterien über eine Saatgutbehandlung ermöglichte eine Wachstumsförderung und Krankheitsunterdrückung in der frühen Entwicklungsphase des Weizens. Somit ergibt sich im Zuge eines Mikroben-basierten Pflanzenmanagements die Möglichkeit den Ertragsrückgang in kontinuierlichen Weizenrotationen durch Inokulation mit nützlichen Bakterien zu mildern. Diese Form der gezielten Nutzung von

Mikroorganismen bietet damit eine nachhaltige Möglichkeit, die Pflanzengesundheit in intensiven Weizenrotationen zu verbessern. Die Publikation Braun-Kiewnick et al. ist zur Veröffentlichung in *Phytobiomes* akzeptiert. Die vielversprechendsten Isolate werden in der zweiten Projektphase unter feldnahen Bedingungen getestet.

AP4: Kohlenstoff- und Stickstofftransformationen in der Rhizosphäre

Task 4.1: Kohlenstoffpools, -flüsse und mikrobielle Aktivitäten (CAU-Phyt, CAU-Ag, IfZ)

An den in Arbeitspaket 2 erhobenen Wurzelproben wurde neben der Wurzellänge auch die Biomasse bestimmt, anschließend wurde an parzellenweise gepoolten Proben auch der C- und N-Gehalt der Wurzelbiomasse ermittelt. Durch Verrechnung dieser Parameter kann der C-Eintrag in den Boden durch die Weizenwurzelbiomasse ermittelt werden – unter der Annahme, dass die Biomasse zur Probenahme im Juni näherungsweise den Endzustand des Wurzelsystems darstellt. Da die Wurzelproben im Juni zudem nur für die Tiefen zwischen 15 und 120 cm genommen wurden, fehlt in dieser Betrachtung die oberste Tiefe von 0-15 cm. Im Folgenden wurden die anderen Tiefen aufsummiert auf den Gesamteintrag an Kohlenstoff in 15-120 cm Bodentiefe. Für Harste wurde in der statistischen Auswertung dieses Datensatzes eine Wechselwirkung zwischen Jahr und Fruchtfolgeposition gefunden, während die N-Stufe keine Rolle spielte. In auf die einzelnen Versuchsjahre aufgeteilten Datensätzen wurde ein signifikant höherer Wurzelkohlenstoffeintrag für W1 gegenüber W2 für die Jahre 2020 und 2021 gefunden (133 gegenüber 65 kg C ha^{-1} im Versuchsjahr 2020 bzw. 207 zu 83 kg C ha^{-1} im Versuchsjahr 2021). WM lag mit 71 und 144 kg C ha^{-1} jeweils dazwischen. Im Versuchsjahr 2022 lagen alle Varianten eng beieinander (139 – 157 kg C ha^{-1}). Für den Versuch in Kiel wurden die Jahre als statistische Wiederholungen genutzt, wobei ebenfalls ein höherer C-Eintrag für W1 im Vergleich zu W3 gefunden wurde (119 zu 77 kg C ha^{-1}). Unabhängig von der Fruchtfolgeposition hatte hier zudem die N-Düngung einen Einfluss: bei optimaler N-Versorgung gab es einen höheren Eintrag als ohne N-Düngung (138 zu 59 kg C ha^{-1}).

Ergebnisse der Enzymkinetik in einem sandigen Lehmboden auf dem Versuchsfeld Hohenschulen zeigten, dass die Rotationspositionen der Weizenpflanzen einen starken Einfluss auf die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (Vmax) von extrazellulären Enzymen in der Rhizosphäre, im wurzelbeeinflussten und im ungestörten Boden hatten ($p<0{,}01$; Abbildung 43). Für die β-Glucosidase-Aktivität zeigten Bodenproben von W1 eine höhere Vmax im Vergleich zu W3-Proben mit Werten von 145,5, 148,5 und 74,6 nmol MUF $g^{-1}h^{-1}$ in der Rhizosphäre, im wurzelbeeinflussten und im ungestörten Boden, jeweils. W3 führte zu einer Reduktion der Vmax-Werte um 23,7 % und 45 % im Vergleich zu W1 in der Rhizosphäre und im ungestörten Boden, jeweils (Abbildung 43a). Trotz fehlender Unterschiede zwischen den Bodenkompartimenten hinsichtlich der α-Glucosidase-Aktivität in W1 zeigte der Rhizosphärenboden in W3 den niedrigsten Vmax-Wert mit 49,6 nmol MUF $g^{-1}h^{-1}$, was einem Rückgang von 47 % im Vergleich zu W1 entspricht (Abbildung 43b). Leucin-Aminopeptidase zeigte unterschiedliche Trends in den Bodenkompartimenten bei W1 und W3. Während der höchste Vmax-Wert im Rhizosphärenboden bei W1 mit 128,8 nmol AMC $g^{-1}h^{-1}$ beobachtet wurde, sank der Vmax-Wert in diesem Kompartiment um 44,8 % und erreichte den niedrigsten Wert in W3 mit 71,1 nmol AMC $g^{-1}h^{-1}$. Der höchste Wert wurde im ungestörten Boden mit 97,7 nmol AMC $g^{-1}h^{-1}$ beobachtet (Abbildung 43c). Im Gegensatz zur Leucin-Aminopeptidase gab es keinen statistischen Unterschied zwischen Rhizosphäre und ungestörtem Boden bei W1 bezüglich des Vmax-Wertes der sauren Phosphatase. W3 verringerte den Vmax-Wert der sauren Phosphatase in diesen beiden Kompartimenten um 8,6 % bzw. 15,7 %. Der wurzelbeeinflusste Boden wies in beiden Fruchtfolgestellungen die niedrigsten Vmax-Werte auf, mit 315,8 und 275,3 nmol MUF $g^{-1}h^{-1}$, was einen Rückgang um 12,8 % in W3 im Vergleich zu W1 bedeutet (Abbildung 43d).

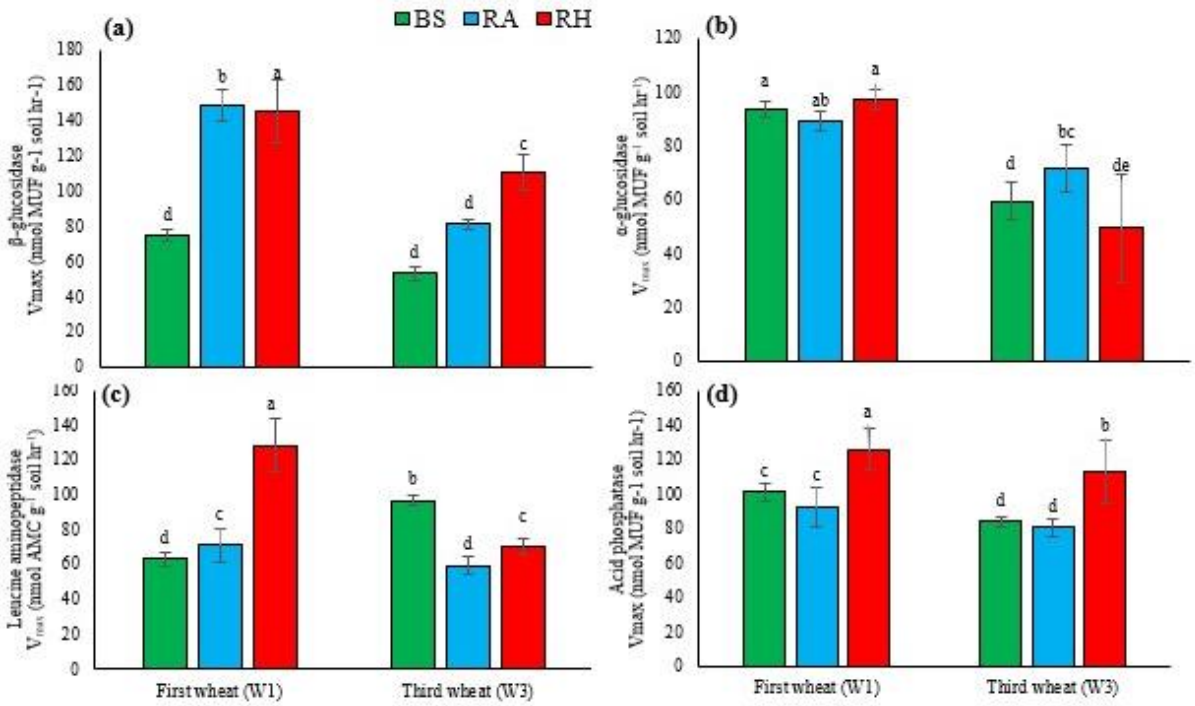
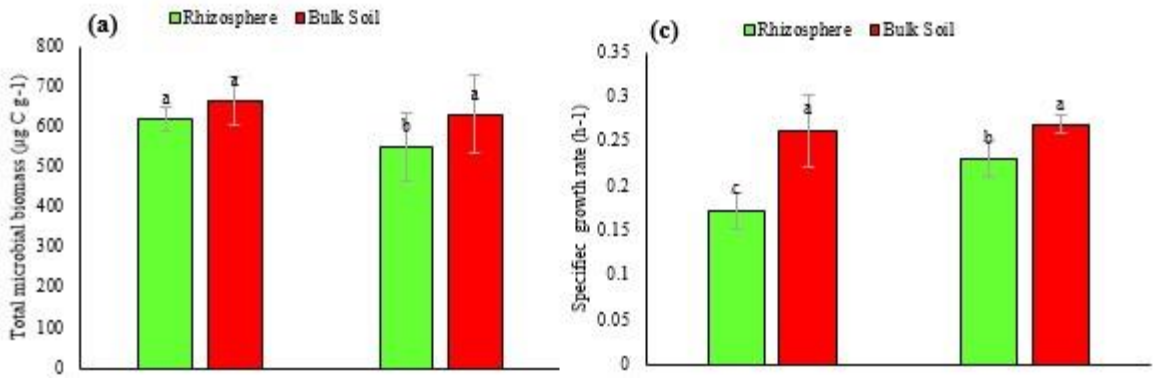


Abbildung 43 Vmax-Werte der β-Glucosidase (a), α-Glucosidase (b), Leucin-Aminopeptidase (c) und sauren Phosphatase (d) in verschiedenen Bodenkompartimenten von Weizen (BS: ungestörter Boden, RA: wurzelbeeinflusster Boden, RH: Rhizosphäre) im ersten (W1) und dritten Weizen nach der Zwischenfrucht (W3) in einem sandigen Lehmboden auf dem Versuchsfeld Hohenschulen. Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen gemäß ANOVA bei p<0,05.

Die gesamtmikrobielle Biomasse sank in W3 um 11,8 % bzw. 4,8 % in der Rhizosphäre und im ungestörten Boden im Vergleich zu W1 (Abbildung 44). Die wachsende mikrobielle Biomasse im Rhizosphärenboden von W1 war etwa fünfmal höher als in W3, und unterschiedliche Fruchtfolgen hatten keinen Einfluss auf die wachsende mikrobielle Biomasse im ungestörten Boden (Abbildung 44b). Die spezifischen Wachstumsraten (μ) stiegen in W3 im Rhizosphärenkompartiment erheblich im Vergleich zu W1 an (0,17 und 0,23 h-1) und sowohl W1 als auch W3 wiesen ähnliche spezifische Wachstumsraten in den ungestörten Bodenproben auf (etwa 0,26 h-1; Abbildung 44c). Trotz einer langsameren spezifischen Wachstumsrate wurde eine siebenmal kürzere Lag-Phase im Rhizosphärenboden von W1 im Vergleich zu W3 beobachtet. Ähnliche Lag-Phasen wurden in den ungestörten Bodenproben von W1 und W3 beobachtet (15,49 und 15,64 h, jeweils). Die Generationszeit der aktiv wachsenden mikrobiellen Gemeinschaft, die Substrat während der Inkubation der Böden mit Glukose und Nährstoffen konsumiert, sank in W3 um 24,2 % im Vergleich zu W1 im Rhizosphärenboden, und der Unterschied in der Generationszeit im ungestörten Boden zwischen W1 und W3 war vernachlässigbar (2,66 und 2,58 h, jeweils; Abbildung 44d).



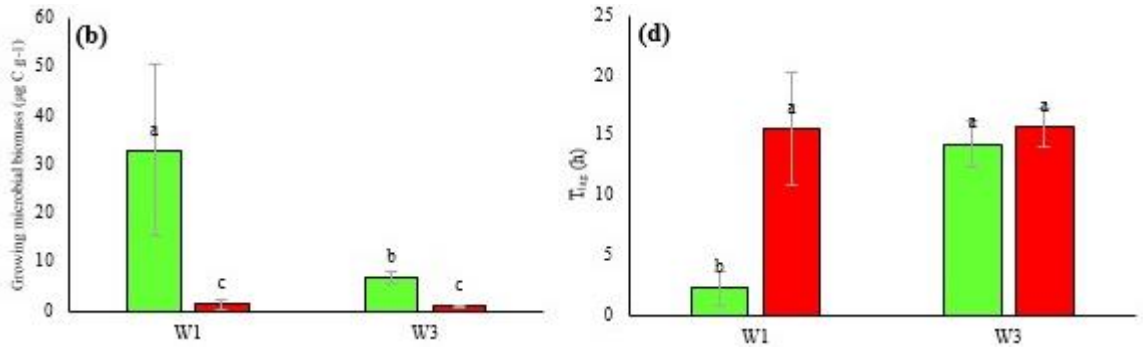
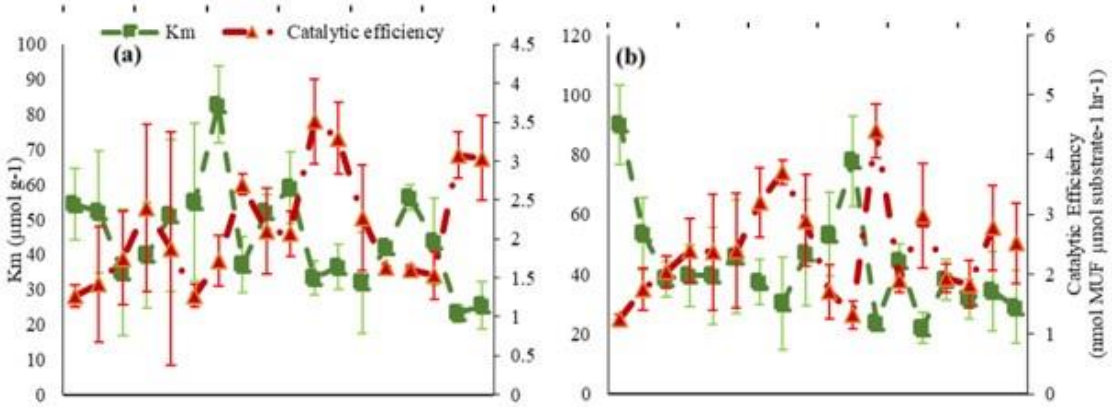


Abbildung 44 Gesamtmikrobielle Biomasse (TMB) (a), aktiv wachsende mikrobielle Biomasse (GMB) (b), spezifische Wachstumsraten (µ) von Bodenmikroorganismen (d), ihre Verzögerungszeit (Tlag) (e) und Generationszeit (Tg) (f) in Rhizosphären- und ungestörten Bodenproben des ersten (W1) und dritten (W3) Weizens nach Zwischenfrucht während der Inkubation bei 25 °C in einem sandigen Lehmboden auf dem Versuchsfeld Hohenschulen. Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Mittelwerte dar (n = 3).

Ebenfalls in einem schluffigen Lehmboden auf dem Harste-Versuchsfeld in Göttingen zeigte die Rhizosphäre (RH) zum zweiten Probenahmezeitpunkt (t2) die effizienteste α-Glucosidase mit niedriger Substrataffinität in sowohl W1 als auch WM. Zudem wies der ungestörte Boden in WM die geringste katalytische Effizienz auf. Über beide Probenahmezeitpunkte hinweg führte W2 zur insgesamt niedrigsten katalytischen Effizienz (Abbildung 45). Für die β-Glucosidase zeigte sich ein abnehmender Trend der Km-Werte vom ungestörten Boden hin zur Rhizosphäre in allen Weizenfruchtfolgen. Bei t1 wies WM den niedrigsten Km-Wert und die höchste katalytische Effizienz auf, wobei die Weizenmonokultur effizientere β-Glucosidase-Enzyme zeigte als WM. Bei t2 zeigte das RH-Kompartiment in W1 jedoch die höchste katalytische Effizienz mit 4,4 nmol MUF µmol Substrat^{-1}h^{-1}. Mit dem Pflanzenwachstum führte die Weizenmonokultur zu einer geringeren Enzym-Effizienz, und es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen W2 und WM (Abbildung 45). Der gleiche Trend wurde bei den katalytischen Effizienzwerten für die Leucin-Aminopeptidase beim zweiten Probenahmezeitpunkt beobachtet. W1 im RH-Kompartiment zeigte die höchste katalytische Effizienz, und der kontinuierliche Weizenanbau führte zu einem Rückgang der Enzym-Effizienz. Bei t1 wies W2 effizientere Enzyme auf, und der ungestörte Boden in WM hatte den höchsten Km-Wert und die niedrigste Effizienz (Abbildung 45c). Ein anderes Muster wurde bei den katalytischen Effizienzen und Km-Werten der sauren Phosphatase beobachtet, wobei die Weizenmonokultur zu beiden Probenahmezeitpunkten zu effizienteren Enzymen führte. Bei t2 erreichte der RH-Boden in WM die höchsten katalytischen Effizienzen mit 2,9 nmol MUF µmol Substrat^{-1}h^{-1}, was einem Anstieg von 38,6 % und 6,2 % im Vergleich zu W1 bzw. W2 entspricht (Abbildung 45d).



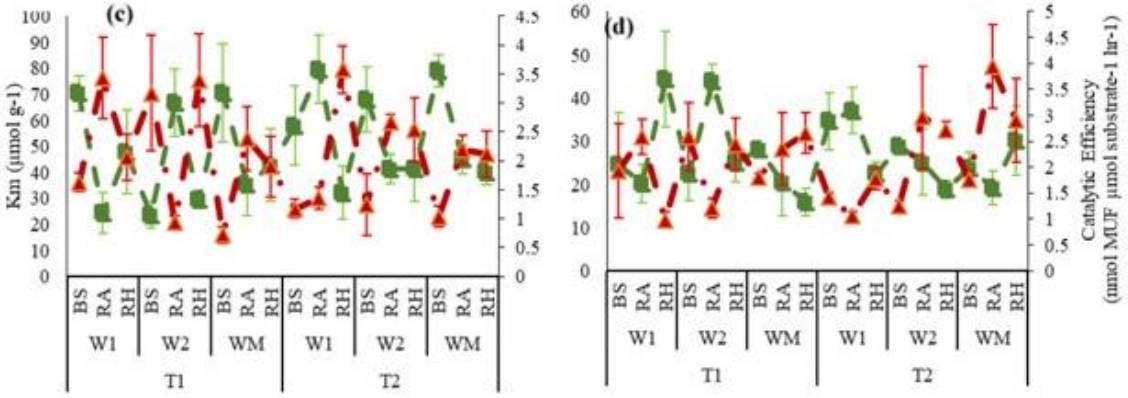
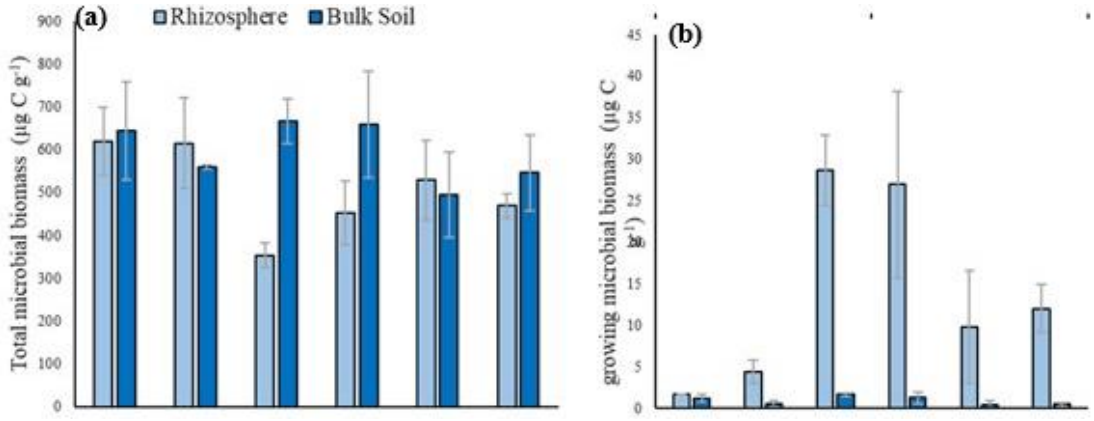


Abbildung 45 Km-Werte und katalytische Effizienz von α-Glucosidase (a), β-Glucosidase (b), Leucin-Aminopeptidase (c) und saurer Phosphatase (d) in verschiedenen Bodenkompartimenten von Weizen (BS: ungestörter Boden, RH: Rhizosphäre) im ersten (W1), zweiten (W2) Winterweizen nach Winterraps-Zwischenfrucht und langjähriger Weizenmonokultur (WM) zu zwei Probenahmezeitpunkten, T1 (BBCH 29) und T2 (BBCH 59), in einem schluffigen Lehmboden auf dem Harste-Versuchsfeld in Göttingen. Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Mittelwerte dar (n = 3) gemäß ANOVA bei p<0,05.

Bei t1 hatten die verschiedenen Weizenfruchtfolgen einen erheblichen Einfluss auf die Gesamtmikrobielle Biomasse im Rhizosphärenkompartiment, wobei in WM ein Rückgang von 42,5 % bzw. 42,8 % im Vergleich zu W2 und W1 beobachtet wurde. Bemerkenswerterweise wies der ungestörte Boden eine höhere Gesamtmikrobielle Biomasse als der Rhizosphärenboden bei t1 in WM und t2 in W1 und WM auf (Abbildung 46a). Der Trend bei der wachsenden mikrobiellen Biomasse variierte bei t1 und t2. In beiden Probenahmezeiten zeigte der Rhizosphärenboden signifikant höhere Werte der wachsenden mikrobiellen Biomasse im Vergleich zum ungestörten Boden. Während die Weizenmonokultur bei t1 die wachsende mikrobielle Biomasse signifikant erhöhte, zeigte der Rhizosphärenboden von W1 bei t2 etwa 2,5-mal höheres Wachstum im Vergleich zu WM. Fruchtfolgen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die wachsende mikrobielle Biomasse im ungestörten Bodenkompartiment (Abbildung 46b). Das Verhältnis von GMB/TMB wurde bei t1 stark durch die Fruchtfolge beeinflusst, wobei WM höhere Verhältnisse sowohl im Rhizosphären- als auch im ungestörten Boden aufwies (0,08 bzw. 0,002). Obwohl W1 bei t2 das höchste Verhältnis in beiden Bodenkompartimenten hatte, gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Weizenfruchtfolgen (Abbildung 46c). Die spezifischen Wachstumsraten (µ) nahmen in WM im Rhizosphärenkompartiment bei t1 im Vergleich zu W1 deutlich ab (0,22 und 0,27 h^{-1}). Es gab keine signifikanten Unterschiede in den spezifischen Wachstumsraten zwischen den Weizenfruchtfolgen in den Proben des ungestörten Bodens bei t1. Der abnehmende Trend im Rhizosphärenboden setzte sich bei t2 fort, ohne starke Unterschiede zwischen den Weizenfruchtfolgen. Bei t2 hatten jedoch W2 und WM signifikant höhere µ-Werte im Vergleich zu W1 im ungestörten Boden (eine Zunahme von 21,6 % bzw. 14,7 %; Abbildung 46d).



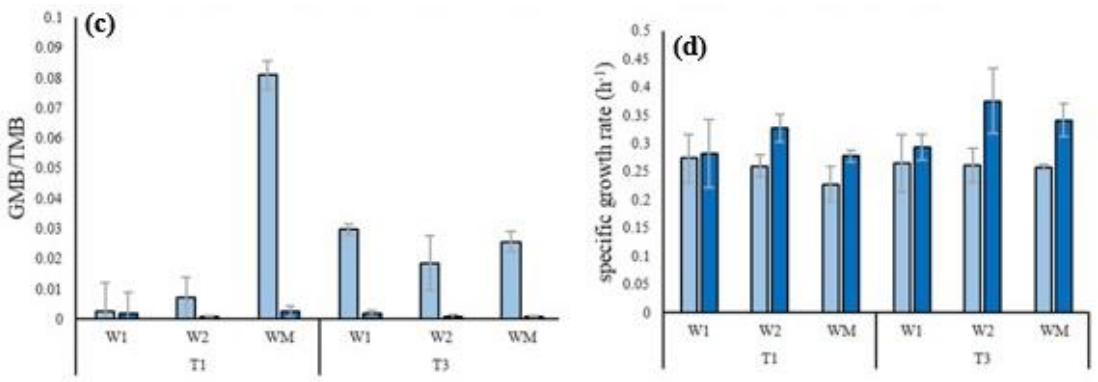


Abbildung 46 Gesamtmikrobielle Biomasse (TMB) (a), aktiv wachsende mikrobielle Biomasse (GMB) (b), Verhältnis von GMB/TMB (c) und spezifische Wachstumsraten (μ) von Bodenmikroorganismen (d) in verschiedenen Bodenkompartimenten von Weizen (BS: ungestörter Boden, RH: Rhizosphäre) im ersten (W1), zweiten (W2) Winterweizen nach Winterraps-Zwischenfrucht und langjähriger Weizenmonokultur (WM) zu zwei Probenahmezeitpunkten, T1 (BBCH 29) und T2 (BBCH 59), in einem schluffigen Lehmboden auf dem Harste-Versuchsfeld in Göttingen. Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Mittelwerte dar (n = 3) gemäß ANOVA bei p<0,05.

Diese Studie offenbarte komplexe Zusammenhänge zwischen der mikrobiellen Dynamik des Bodens und den Fruchtfolgepraktiken. Die Weizenmonokultur (WM) beeinflusste signifikant die mikrobielle Biomasse, das Wachstum und die Enzymaktivität in verschiedenen Kompartimenten und zu unterschiedlichen Probenahmezeiten, was die komplexe und dynamische Natur dieser Wechselwirkungen unterstreicht. WM verringerte zunächst die Biomasse in der Rhizosphäre, förderte jedoch schließlich das mikrobielle Wachstum im Vergleich zu anderen Fruchtfolgen, was auf sowohl Unterdrückung als auch Anpassung innerhalb des Mikrobioms hinweist. Zudem zeigte WM höhere Wachstums-zu-Wartungs-Verhältnisse, was möglicherweise darauf hindeutet, dass Wachstum über die Ressourcennutzung priorisiert wird. Die Unterschiede in der Effizienz zwischen den Fruchtfolgen konvergierten jedoch über die Zeit, was auf Anpassungen der Gemeinschaft hinweist. Diese Ergebnisse betonen die Bedeutung des Verständnisses der zeitlichen Dynamik und der komplexen Beziehungen zwischen Fruchtfolge und mikrobiellen Reaktionen im Boden für nachhaltige landwirtschaftliche Praktiken. Weitere Forschung, die die zugrundeliegenden Mechanismen und langfristigen Auswirkungen unterschiedlicher Anbausysteme auf die mikrobielle Gemeinschaft im Boden untersucht, ist entscheidend.

Task 4.2: Räumlich-zeitliche Muster von Wurzelexsudaten und damit verbundener mikrobieller Aktivität (CAU-Phyt, FZJ)

Bodenmikrobielle Gemeinschaften sind die Hauptregulatoren von Ökosystemdienstleistungen und entscheidend für den Kohlenstoff- und Nährstoffkreislauf. Wurzelausscheidungen spielen eine wesentliche Rolle bei der Gestaltung der mikrobiellen Zusammensetzung des Bodens und beeinflussen somit biogeochemische Prozesse, die das Pflanzenwachstum beeinflussen. Wir haben die Hypothese aufgestellt, dass eine kontinuierliche Weizenbewirtschaftung zu einer geringeren Glukosefreisetzung führen würde, was in der Folge zu niedrigerem mikrobiellem Wachstum, Aktivität und Biomasse führt. Zum ersten Mal wurde vor Ort eine Glukose-Bildgebung optimiert, um diese Wechselwirkungen zu untersuchen und mit Boden-Zymographie in Rhizobox- und Feldexperimenten (unter Verwendung installierter Wurzelfenster) in den ersten (W1) und dritten (W3) Weizen nach Zwischenfruchtparzellen kombiniert.

Im Rhizobox-Experiment zeigten die Ergebnisse, dass die räumliche Verteilung der Glukosefreisetzung und der β-Glucosidase-Aktivität durch aufeinanderfolgenden Weizenanbau beeinflusst wurde, insbesondere bei t2, wie in Abbildung 47 dargestellt. Bei t1 gab es keinen signifikanten Unterschied in der Gesamtfläche der β-Glucosidase-Aktivitätshotspots in der Rhizosphäre der W3- und W1-

Bodenproben. Bei t2 zeigten jedoch die W3-Proben eine um 25,2 % geringere Anteil an Hotspots (4,26 % vs. 5,70 %, jeweils; p<0,01) im Vergleich zu W1. Darüber hinaus zeigte W3 bei t2 den niedrigsten Anteil an Glukosefreisetzungshotspots, die 1,83 % der gesamten Bodenoberfläche abdeckten. Dies stellt einen Rückgang von 31,7 % im Vergleich zu W1 dar (p<0,05) (Abbildung 48a).

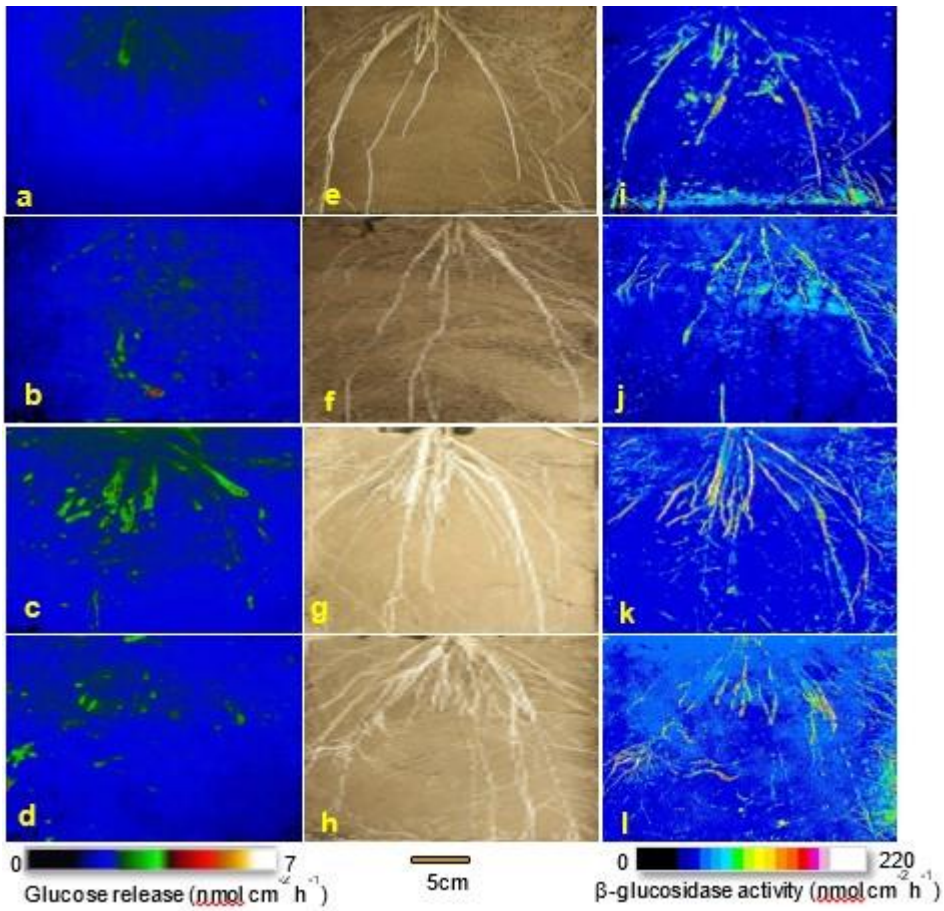


Abbildung 47 Räumliche Verteilung der Glukosefreisetzung (a-d); β-Glucosidase-Aktivität (i-l) und Originalbilder der Weizenwurzel (e-h) zu T1W1 (obere Reihe), T1W3 (zweite Reihe), T2W1 (dritte Reihe), T2W3 (untere Reihe) (T1: vier Wochen nach Aussaat (BBCH 13), und T2: acht Wochen nach Aussaat (BBCH 29); W1: erster und W3: dritter Weizen).

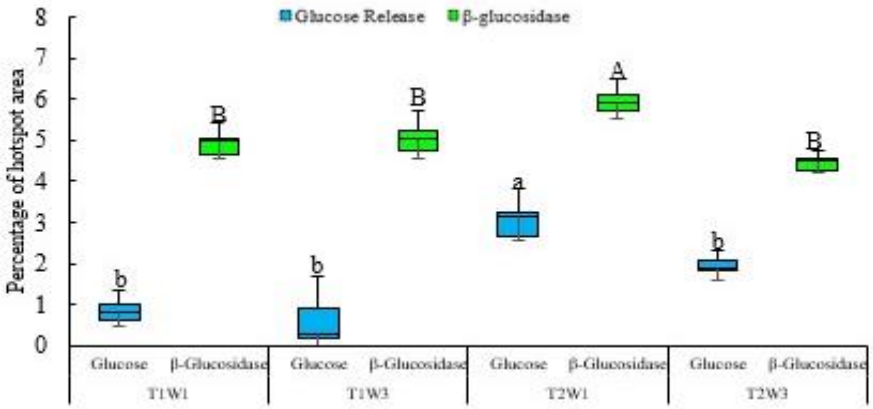


Abbildung 48 Vergleich des Prozentsatzes der Hotspot-Fläche für Glukosefreisetzung und β-Glucosidase-Aktivität im ersten (W1) und dritten (W3) Weizen nach der Zwischenfrucht zu zwei Probenahmezeitpunkten (T1: vier Wochen nach Aussaat (BBCH 13) und T2: acht Wochen nach Aussaat (BBCH 29)). Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen hinsichtlich der Glukosefreisetzung und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen hinsichtlich der β-Glucosidase-Aktivität gemäß der Zwei-Wege-ANOVA bei p<0,05.

Das räumliche Muster der Glukosefreisetzung wurde durch die Weizenselbstfolge beeinflusst (Abbildung 49). W3 wies den niedrigsten Anteil an Hotspots für die Glukosefreisetzung auf, mit 1,35 %

der gesamten Bodenoberfläche, was einen Rückgang von 17,7 % im Vergleich zu W1 darstellt ($p<0,05$) (Abbildung 50a). Die Glukosefreisetzungsrate an den Wurzelspitzen und reifen Wurzeln zeigte, dass W3 in beiden Kompartimenten einen konsistenten Rückgang im Vergleich zu W1 aufwies, wobei die höchste Glukosefreisetzung an den Wurzelspitzen in W1 mit 593,5 nmol cm^{-2} erreicht wurde ($p<0,05$). Wie in Abbildung 50b gezeigt, nahm die Glukosefreisetzung an den Wurzelspitzen im Vergleich zu den reifen Wurzeln in W1 und W3 erheblich zu. In W1 erhöhte sich die Glukosefreisetzung an den Wurzelspitzen um 30,2 % im Vergleich zu den reifen Wurzeln, während in W3 die Wurzelspitzen eine um 35,6 % höhere Glukosefreisetzung aufwiesen als die reifen Wurzeln (Abbildung 50b).

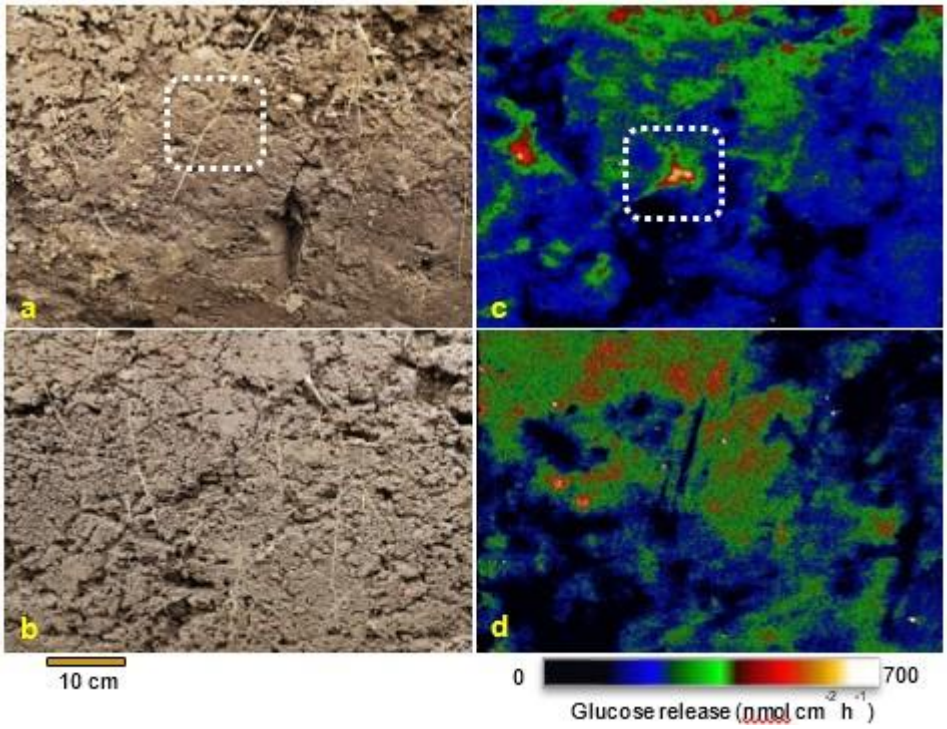


Abbildung 49 Originalbilder der Weizenwurzel (a, b) und räumliche Verteilung der Glukosefreisetzung (c, d) bei W1 (obere Reihe) und W3 (untere Reihe) (W1: erster und W3: dritter Weizen nach der Blattfrucht) auf dem Versuchsfeld Hohenschulen.

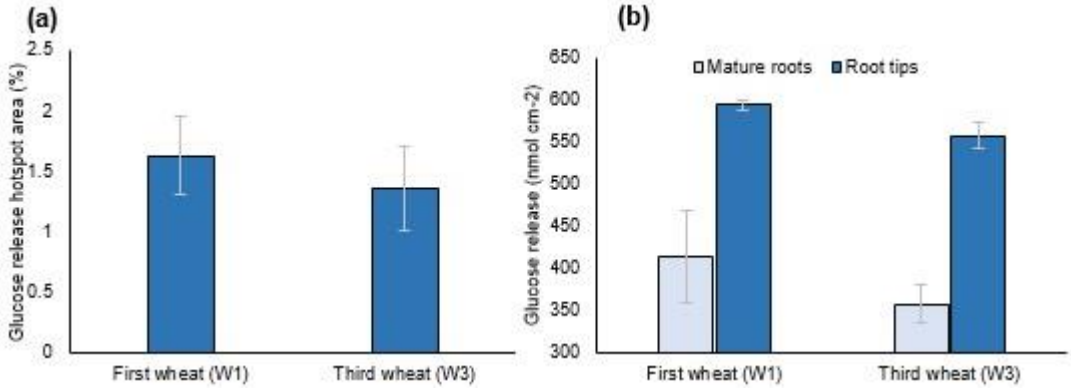


Abbildung 50 Vergleich des Prozentsatzes der Hotspot-Fläche und (b) der durchschnittlichen Glukosefreisetzungsrate in der gesamten Fläche und im Interessengebiet (ROI) im ersten (W1) und dritten (W3) Weizen nach der Zwischenfrucht. Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Mittelwerte dar (n = 4).

Zusammenfassend bietet unsere Studie neuartige Einblicke in das komplexe Zusammenspiel zwischen kontinuierlicher Weizenbewirtschaftung, Wurzelausscheidungsmustern, mikrobiellen Dynamiken, Genexpression und enzymatischen Aktivitäten innerhalb der Rhizosphäre und der ungestörten Bodenkompartimente. Besonders hervorzuheben ist, dass unsere Forschung erstmals eine innovative Methode zur Glukosebildgebung im Feld einführte, die Aufschluss über die Dynamik der Glukosefreisetzung von Weizenwurzeln gibt. Der Rückgang der Glukosefreisetzung unter

kontinuierlicher Weizenbewirtschaftung (W3) im Vergleich zum ersten Weizen nach einer Zwischenfrucht (W1) unterstreicht die Bedeutung von Wurzelausscheidungen für die Gestaltung der Rhizosphäreninteraktionen. Diese Veränderung in der Glukosefreisetzung könnte mit veränderter Wurzelphysiologie und -ausscheidung zusammenhängen und möglicherweise die Strategie der Pflanze widerspiegeln, eine weniger günstige Umgebung für potenzielle Pathogene zu schaffen. Die beobachteten mikrobiellen Reaktionen, einschließlich Veränderungen in der mikrobiellen Biomasse, Wachstumsraten und Substratnutzungsmustern, verdeutlichen die komplexen mikrobiellen Gemeinschaftsdynamiken, die durch kontinuierliche Weizenbewirtschaftung beeinflusst werden. Diese Verschiebungen in der mikrobiellen Zusammensetzung spiegeln sich in den veränderten enzymatischen Aktivitäten wider, die in den verschiedenen Kompartimenten beobachtet wurden.

Unsere Studie trägt nicht nur zum Verständnis bei, wie kontinuierliche Weizenbewirtschaftung die Pflanzen-Boden-Mikroben-Interaktionen gestaltet, sondern führt auch neuartige Techniken wie die *in situ* Glukosebildgebung ein, um diese Interaktionen im Feld zu bewerten. Diese Erkenntnisse haben Implikationen für nachhaltige landwirtschaftliche Praktiken, Nährstoffkreisläufe und die Gesundheit von Ökosystemen. Indem wir die komplexe Kaskade von Effekten aufzeigen, die durch kontinuierliche Bewirtschaftung ausgelöst wird, bieten wir wertvolle Perspektiven zur Optimierung von Managementstrategien und zur Erhaltung produktiver Ökosysteme im Angesicht sich entwickelnder landwirtschaftlicher Praktiken.

Task 4.3: Quantifizierung des Kohlenstoff- und Stickstoffumsatzes in der Rhizosphäre unter kontrollierten Bedingungen (FZJ)

Ergebnisse aus den Rhizoboxexperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

Task 4.4: Modelling spatio-temporal pattern of root exudates and enzyme activities (FZJ, CAU-Phyt)

Ergebnisse aus den Rhizoboxexperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

In Zusammenarbeit zwischen CAU-Phyt und dem FZJ haben wir in einem Rhizobox-Experiment unter Verwendung von Boden von der Versuchsfarm Hohenschulen in Kiel, Deutschland, die Freisetzung von Glukose sowie die Aktivitäten der Enzyme Beta-Glucosidase und Leucin-Aminopeptidase mittels Zymographie lokalisiert und visualisiert (siehe Abbildung 51). Die Ergebnisse zeigten, dass der kontinuierliche Weizenanbau zu einer signifikanten Abnahme der Glukosefreisetzung und folglich der Enzymaktivität führte. Wir beobachteten auch einen abnehmenden Trend im Rhizosphärenbereich der Aktivität von Beta-Glucosidase und Leucin-Aminopeptidase von KW1 bis KW4 sowie mit zunehmender Bodentiefe. Ein entgegengesetzter Trend wurde jedoch bei der Glukosefreisetzung festgestellt, die von KW1 bis KW4 sowie mit zunehmender Bodentiefe für KW1 und KW2 zunahm (Abbildung 52). Diese Daten werden verwendet, um das raumzeitliche Muster von Wurzelexsudaten und Enzymaktivitäten zu modellieren.

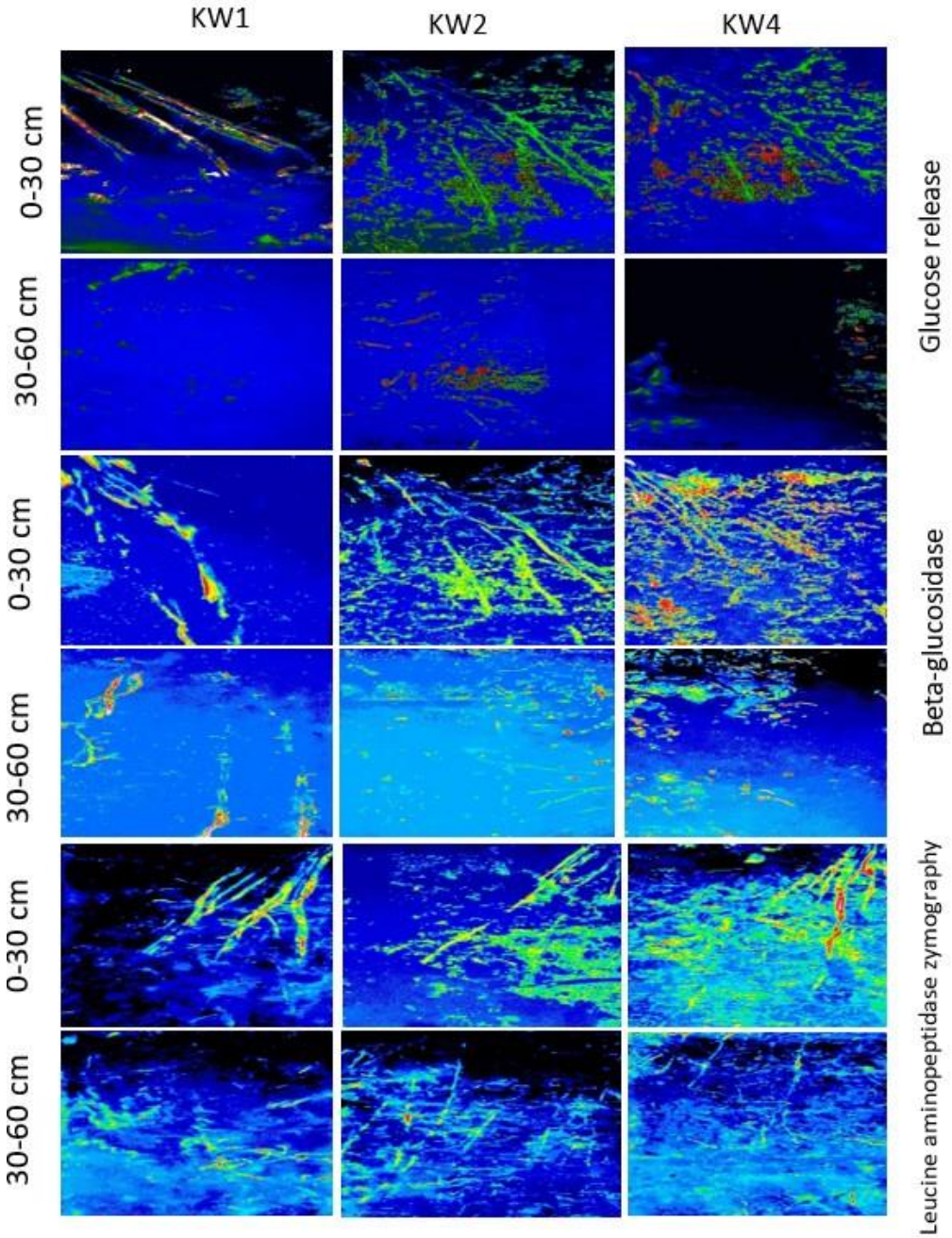


Abbildung 51 Einfluss der Fruchtfolgepositionen auf die Glukosefreisetzung sowie die Aktivitäten von Beta-Glucosidase und Leucin-Aminopeptidase des nachfolgenden Winterweizens zu Beginn des Schossens (BBCH 30) in Bodentiefen von 0-30 cm und 30-60 cm. KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps in Boden von der Versuchsfarm Hohenschulen in Kiel, Deutschland.

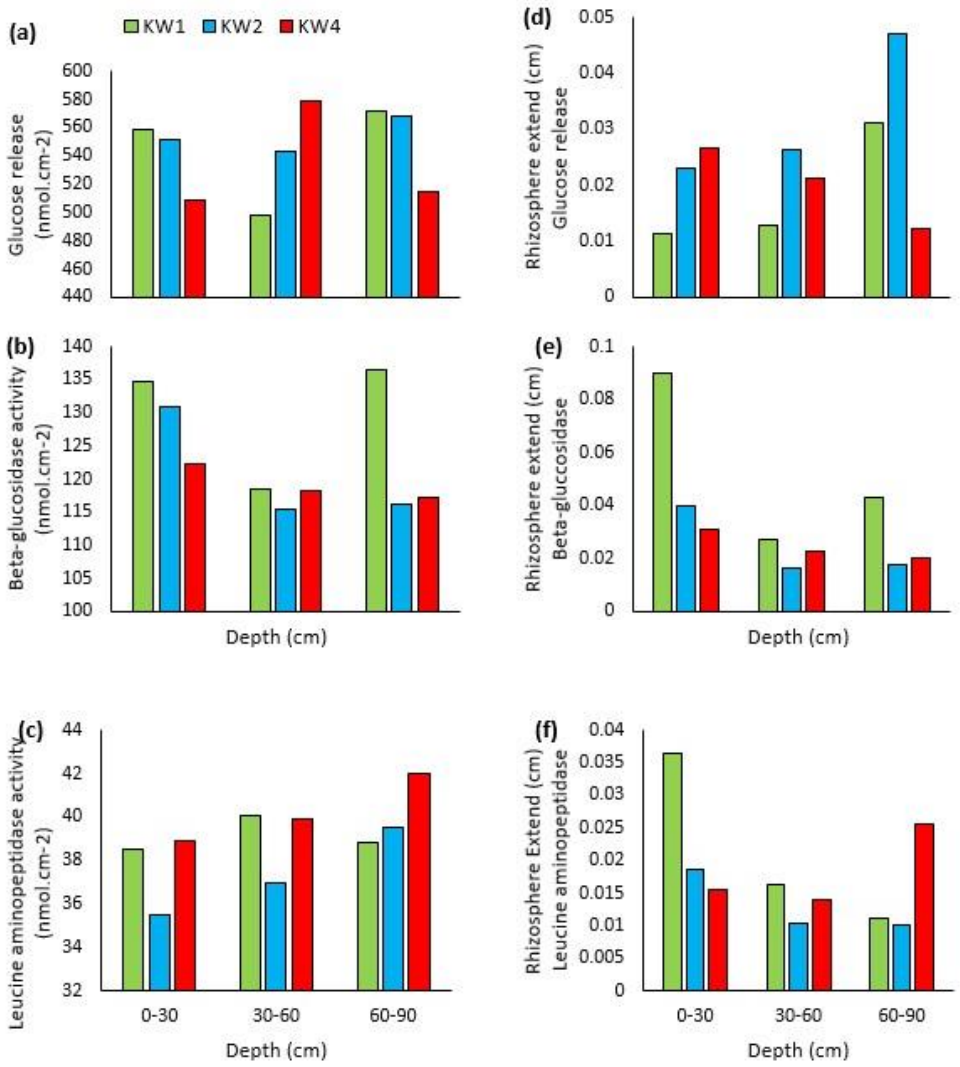


Abbildung 52 Einfluss der Fruchtfolgepositionen auf die Glukosefreisetzung sowie die Aktivitäten von Beta-Glucosidase und Leucin-Aminopeptidase (a, b, c) und das Ausmaß der Rhizosphäre für die Glukosefreisetzung, Beta-Glucosidase- und Leucin-Aminopeptidase-Aktivitäten (d, e, f) des nachfolgenden Winterweizens zu Beginn des Schossens (BBCH 30) in Bodentiefen von 0-30 cm, 30-60 cm und 60-100 cm. KW1 = erster Weizen, KW2 = zweiter Weizen und KW4 = vierter Weizen nach Raps in Boden von der Versuchsfarm Hohenschulen in Kiel, Deutschland.

AP5: Wasseraufnahme durch das Wurzelsystem

Task 5.1: Stabile-Isotopen-basierte Quantifizierung der Wurzelwasseraufnahmeaktivität während Wurzelwachstum und Seneszenz (FZJ, CAU-Phyt)

Ergebnisse aus den Rhizoboxexperimenten des FZJ: siehe Task 1.2.

Task 5.2: Messung der Wasseraufnahme im Feldversuch (CAU-Ag, IfZ)

An beiden Feldversuchsstandorten wurden Bodenwassergehalte in 10 cm vertikaler Auflösung bis zu einer Tiefe von 1,6 m mit FDR Röhrensonden gemessen. Die Messungen erfolgten in denselben Varianten, in denen auch die Minirhizotrontechnik eingesetzt wurde (Task 2.1). Die Daten des IfZ-Feldversuchs wurden der CAU-Ag über den CAU-Austauschserver zur Verfügung gestellt. Die

Wasseraufnahmedaten wurden von der CAU-Ag mit ihren eigenen Daten zusammengeführt und ausgewertet. Eine Zusammenführung der Ergebnisse mit den Wurzelauswertungen aus AP2 steht noch aus, da sich die Auswertung der Minirhizotronen-Aufnahmen verzögert hat.

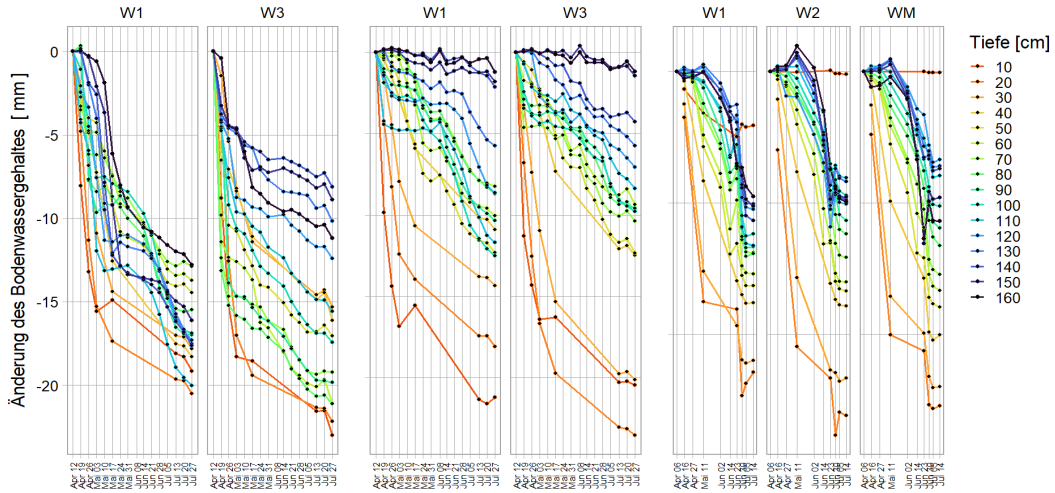


Abbildung 53 Unterschiede in der Änderung des Bodenwassergehaltes zwischen Parzellen unterschiedlicher Fruchtfolgepositionen in verschiedenen Bodentiefen in Feldversuch 1 (links) und 2 (Mitte) in Hohenschulen und im Fruchtfolgeversuch in Harste (rechts), exemplarisch anhand der optimal gedüngten Variante im Versuchsjahr 2022.

Über alle Jahre zeigte sich an beiden Standorten, dass die Parzellen mit erstem Weizen im relevanten Messzeitraum eine höhere Änderung im Bodenwassergehalt aufwiesen als Parzellen mit Weizen in Selbstfolge (Abbildung 53). Der Unterschied war in größeren Bodentiefen deutlicher ausgeprägt. Dies passt zu der Annahme, dass das Wurzelsystem von Weizen in Selbstfolge weniger stark ausgeprägt ist und die Pflanzen daher Bodenwasser in tieferen Schichten schlechter ausnutzen können. In den oberen Bodenschichten zeigte wiederum der Weizen in Selbstfolge eine höhere Änderungsrate, woraus sich auf eine Kompensation der Pflanzen in weniger beschädigten Wurzelbereichen schließen lässt.

Task 5.3: Messung und Analyse von Bestandestemperaturen zur Quantifizierung des Trockenstresses im Feld (CAU-Ag, IfZ)

In den Feldversuchen der CAU und des IfZ war eine Befliegung mit drohnengestützter Thermal- und Multispektraltechnik bei länger anhaltendem Trockenstress vorgesehen. Es sollte untersucht werden, inwiefern die Thermaldaten zur Quantifizierung der Evapotranspiration, der Bodenwasseraufnahme und des relativen Trockenstresses genutzt werden können. Die parallele Befliegung mit dem Multispektralsensor war dabei für eine Korrektur der Temperaturunterschiede auf Grund unterschiedlicher Bedeckungsgrade notwendig.

In den Versuchsjahren 2020-2022 boten sich jedoch auf Grund regelmäßiger Niederschläge nur wenige Termine an. Daher wurde durch die CAU-Ag zusätzlich in 2021, 2022 und 2023 ein dritter Feldversuch beflogen, in dem durch ein verschiebbares Dach künstlich Trockenstress erzeugt werden kann. Die durch das IfZ durchgeführten Thermalbefliegungen waren aufgrund problematischer Sensoreinstellungen nicht auswertbar.

Die durch die CAU-Ag erhobenen Thermaldaten zeigten deutliche Unterschiede der Bestandestemperatur in Abhängigkeit der Fruchtfolgestellung des Winterweizens (Abbildung 54): Bei gleicher Bodenbedeckung waren die Parzellen im ersten Weizen deutlich kälter als die im dritten Weizen. Dies passt zu der Annahme, dass das Wurzelsystem von Weizen in Selbstfolge weniger stark ausgeprägt ist und die Pflanzen daher das Bodenwasser schlechter zur Transpiration und daher Selbstkühlung ausnutzen können. Der Effekt wird bei einer N-Düngung unter dem Optimum deutlicher, da das Wurzelwachstum des Weizens zusätzlich in der Saison durch die Nährstoffverfügbarkeit limitiert wird.

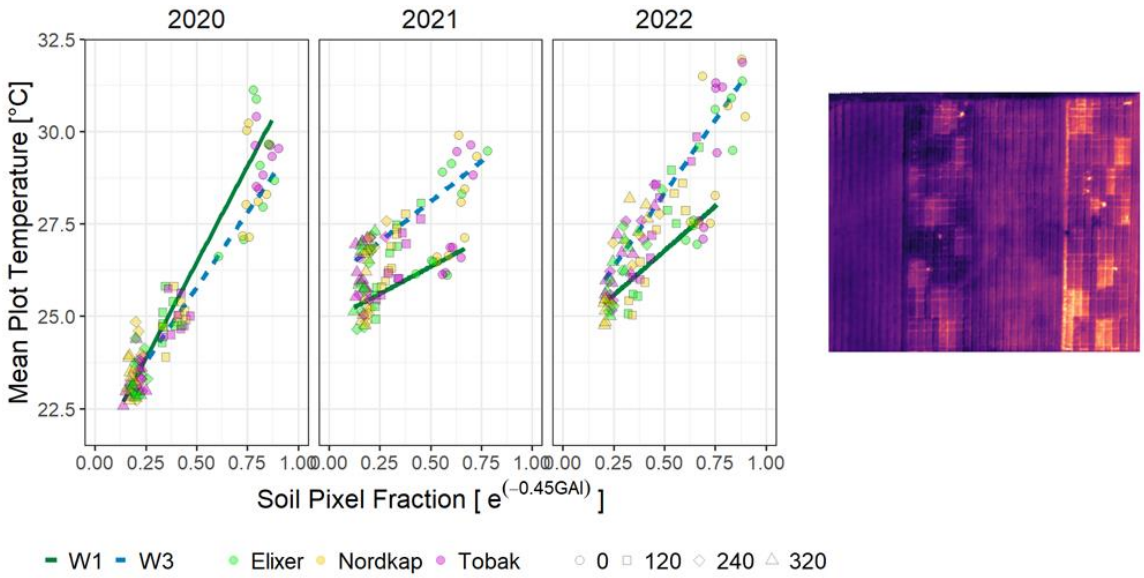


Abbildung 54: Versuchsergebnisse aus Versuch 1 in Hohenschulen über alle drei Versuchsjahre. Mittlere Parzellentemperatur abgeleitet aus den jeweiligen Thermalaufnahmen aufgetragen gegen den relativen Bodenanteil abgeleitet aus den Multispektralaufnahmen (linke Abbildung). Die rechte Abbildung zeigt ein Thermalbild, in dem die Fruchtfolge Winterraps-Winterweizen-Winterweizen-Winterweizen zu sehen ist. Die Parzellen im ersten und dritten Weizen zeigen deutliche Temperaturunterschiede.

Task 5.4: Modellierung von Bodenwasserhaushalt und Wassernutzungseffizienz (FZJ, CAU-Ag)

Aus den Bodenwassergehaltsdaten, die mit dem Sentek Diviner System an beiden Standorten gemessen wurden, wurde der Wasserverbrauch der unterschiedlichen Varianten im relevanten Messzeitraum von April bis Ende Juli errechnet. Daraus konnte mit Hilfe der Ertragsdaten für diesen Zeitraum eine Wassernutzungseffizienz (WUE) errechnet werden. Die Daten zeigen für Feldversuch 1 und 2 in Hohenschulen eine höhere WUE für W1 in diesem Zeitraum. In Harste hatte ebenfalls W1 die höchste WUE (Abbildung 55). Hier zeigte sich außerdem eine weitere Abstufung zwischen W2 und WM. Die verringerte WUE bei mehrjährigem Weizenanbau in Selbstfolge zeigte eine geringere Ausnutzung des Bodenwassers zur Umwandlung in Biomasse und Kornbildung. Dies passt zum einen zu der Änderung des Bodenwassergehaltes über die Zeit (Abbildung 53), der eine geringere Wasseraufnahme von W2, W3 und WM über den gesamten Messzeitraum annehmen lässt. Zum anderen lassen die höhere Parzellentemperaturen in W3 aus den Thermalaufnahmen auf eine eingeschränkte Transpiration schließen (Abbildung 54).

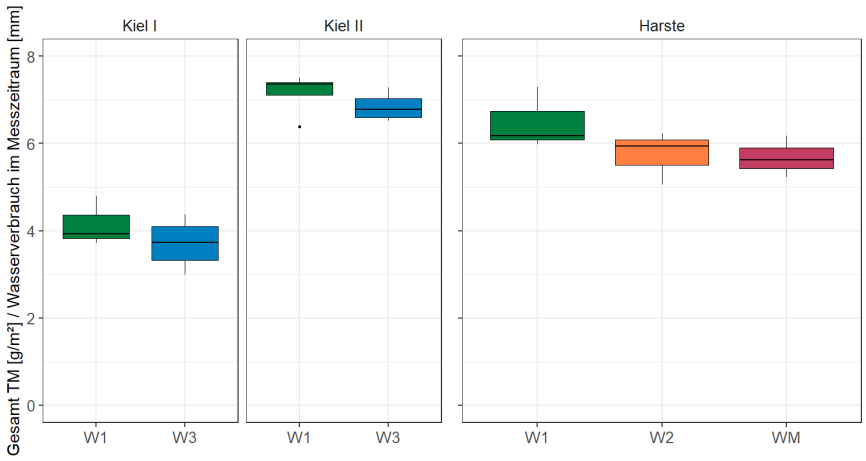


Abbildung 55 Errechnete Wassernutzungseffizienz [g/l] für Weizen in unterschiedlicher Fruchtfolgestellung an zwei Standorten für den Messzeitraum von April bis Juli 2022.

Ein wichtiger Parameter für die Wurzelwasseraufnahme unter Berücksichtigung des Rhizosphärenwiderstands ist der äußere Radius des 1D radialsymmetrischen Wasserflussmodells. Er

bestimmt, wieviel Bodenvolumen jeder einzelnen Wurzel zur Verfügung steht, um daraus Wasser aufzunehmen. Um den Begriff gegenüber allgemeinen Rhizosphärenprozessen abzugrenzen, verwenden wir seit Vanderborght et al. (2023) den Begriff „perirhizal zone“, wenn wir das Bodenvolumen meinen, das einer einzelnen Wurzel in Abhängigkeit vom Abstand zu anderen Wurzeln zur Verfügung steht. Im einfachsten Fall ist der äußere („perirhizal“) Radius rprhiz (L) eine Funktion der Wurzellängendichte, RLD (L L-3), $r_{prhiz} = \sqrt{\frac{1}{RLD\ \pi}}$. Diese oft verwendete Funktion beruht jedoch auf der Annahme, dass alle Wurzeln in dem betrachteten Bodenvolumen gleich verteilt sind. Dies kann in einer größeren Bodenschicht eine zu grobe Annahme sein. Eine Möglichkeit, die Heterogenität der Wurzelverteilung zu berücksichtigen, ist die Verwendung von Voronoi Diagrammen (Kohl et al. 2007). Abbildung 56 zeigt die Aufteilung des Bodenvolumes zu jeden Wurzelsegment einer 3D Wurzelarchitektur anhand von Voronoi Diagrammen.

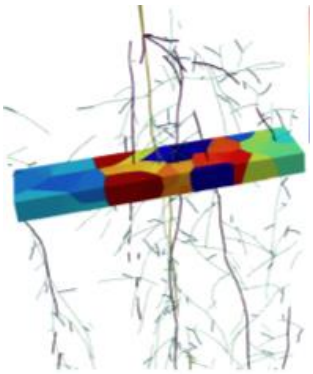


Abbildung 56 3D-Voronoi-Diagramm einer Bodenschicht. Jedes Element hat einen Wurzelknoten als Zentrum und die Grenzflächen befinden sich in der Mitte des Abstands zwischen den benachbarten Knoten.

Auf Basis des Volumens jedes 3D-Voronoi-Diagrammelements wird der Radius des entsprechenden Zylinders als äußerer („perirhizal“) Radius angenommen. Angewandt auf die Wurzelsysteme des Winterweizens am Standorts Ruthe (siehe Task 2.3) in den Jahren 1995, 1996 und 1997 wurden die entsprechenden Histogramme der äußeren Radien für verschiedene Bodenschichten und deren dynamische Entwicklung über die Zeit analysiert (Abbildung 57 - Abbildung 59). Aufgrund unterschiedlicher Klimaverhältnisse haben sich die Pflanzen in den drei Jahren unterschiedlich und unterschiedlich schnell entwickelt und damit auch das Bodenvolumen unterschiedlich schnell erschlossen. Die Histogramme der äußeren Radien innerhalb der Bodenschichten zeigen alle eine rechtsschiefe Form. Die meisten Wurzelsegmente haben also ein kleines Bodenvolumen (ausgedrückt durch einen kleinen äußeren Radius) zur Verfügung, aber wenige Wurzelsegmente, die vorwiegend am Rand des Wurzelsystems positioniert sind, haben ein großes Bodenvolumen zur Verfügung.

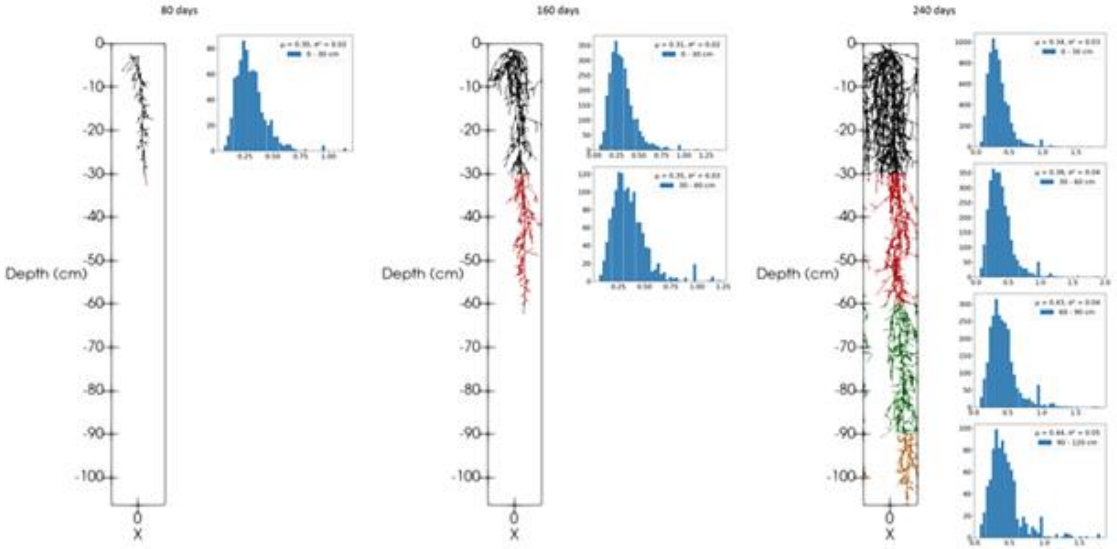


Abbildung 57 Äußere ("perirhizal") Radien des Winterweizenwurzelsystems in 30 cm tiefen Bodenschichten des Standort Ruthe im Jahr 1995.

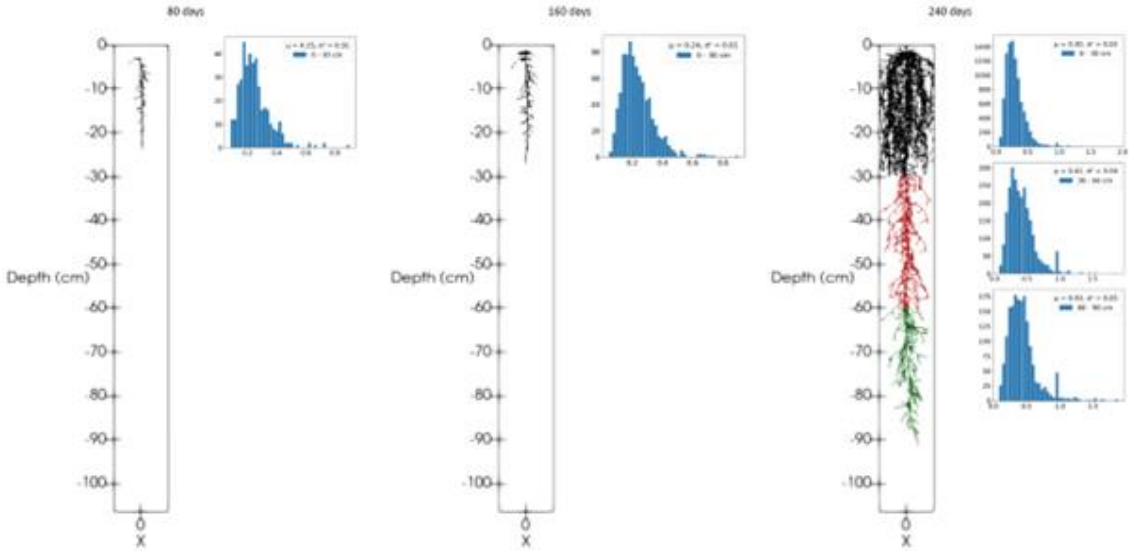


Abbildung 58 Äußere ("perirhizal") Radien des Winterweizenwurzelsystems in 30 cm tiefen Bodenschichten des Standort Ruthe im Jahr 1996.

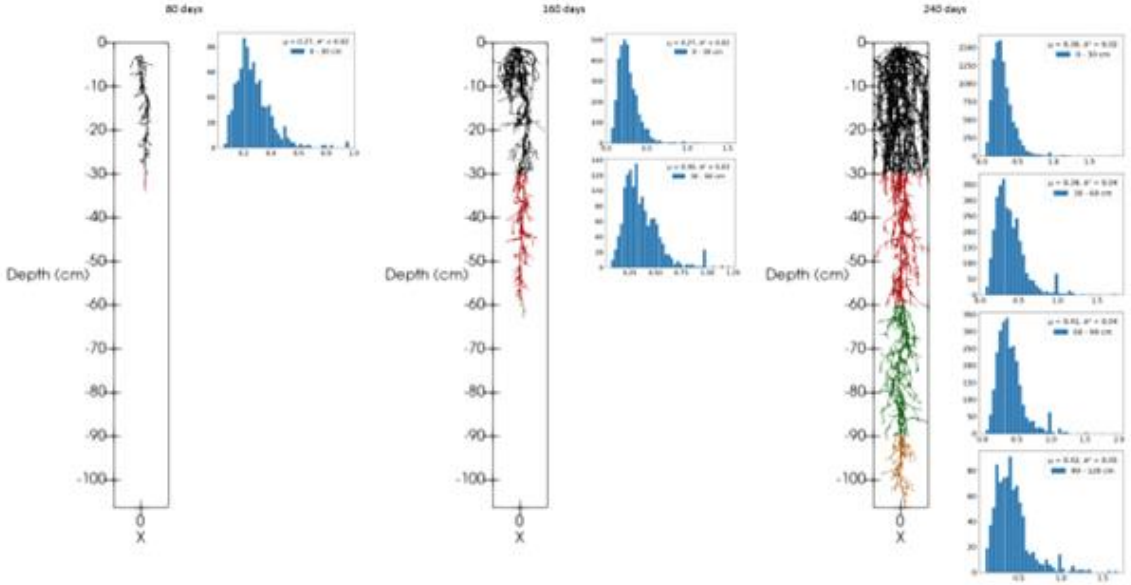


Abbildung 59 Äußere ("perirhizal") Radien des Winterweizenwurzelsystems in 30 cm tiefen Bodenschichten des Standort Ruthe im Jahr 1997.

Auf Grundlage des mit Altdaten erweiterten 1D-Wurzelmodells durch die CAU-Ag durchgeführte Sensitivitätsanalysen wiesen auf einen potentiell hohen Effekt der heterogenen Wurzelverteilung auf die maximalen Wasseraufnahmeraten aus einer Bodenschicht hin. Dieser Effekt ist momentan in den in der CAU-Ag verwendeten Bodenwasserhaushaltsmodellen nicht abgebildet. Das könnte erklären, wieso die momentan berechneten Bestandestemperaturunterschiede deutlich geringer ausfallen als die in den Feldversuchen gemessenen Unterschiede. Diese Entdeckung wurde in den Weiterentwicklungsarbeiten am prozessbasierten Weizenwachstumsmodell (AP6) aufgegriffen um in einem nächsten Schritt die in AP2 festgestellten Fruchtfolge-induzierten Wurzelparameterunterschiede

abbilden bzw. modellieren zu können. Mit Letzterem konnte wegen der Verzögerung in der Auswertung der in den Feldversuchen erhobenen Wurzeldaten noch nicht begonnen werden.

AP6: Ertragseffekte Vorfrucht/Umwelt-Interaktion

Task 6.1: Analyse historischer Ertragsdaten von Feldversuchen und statistischen Datenquellen auf Ertragsunterschiede zwischen Blatt- und Stoppelweizen in unterschiedlichen Regionen (CAU-Ag, IfZ)

Die historischen Ertragsdaten von Weizen nach vier verschiedenen Vorfrüchten (Weizen, Raps, Zuckerrübe, Silomais) im Systemversuch Fruchtfolge in Harste wurden für die Versuchsjahre 2008 bis 2018 zusammengestellt und ausgewertet (veröffentlicht in Groeneveld et al. 2024). Dabei zeigten sich die klar höchsten Erträge nach Raps (9.3 t ha^{-1}) und die niedrigsten in der Weizenselbstfolge (8.3 t ha^{-1}). Weizen nach Zuckerrübe und nach Silomais erreichte jeweils 8.7 t ha^{-1} Kornertrag. Weiter wurde der Weizenertrag nach Weizen, Zuckerrübe und Silomais vom Aussaattermin beeinflusst, wobei nach spätem Termin höhere Erträge gefunden wurden. Nach Raps gab es keinen solchen Effekt, nach später und früher Aussaat war der Weizenertrag hier sehr ähnlich. Die Ergebnisse dieser Auswertung bilden den Hintergrund für die erweiterte Vorfruchtfragestellung in der zweiten Projektphase.

Task 6.2: Simulation der Ertragsbildung von Winterweizen als Funktion der Vorfrucht (CAU-Ag)

Ziel dieses Task war die Weiterentwicklung eines in der CAU-Ag entwickelten Weizenwachstumsmodell auf Grundlage des im Laufe dieses Projektes verbesserten, die Vorfruchtwirkungen abbildenden Wurzelwachstumsmodells. Aufgrund der Verzögerungen bei der Auswertung der in den Feldversuchen erhobenen Wurzeldaten und der darauf basierenden Weiterentwicklung des Wurzelmodells war dies nicht möglich. Dies verhinderte die in Task 6.2 vorgesehene Szenarioberechnung für verschiedene Regionen mit differierenden Boden- und Klimabedingungen. Es wurden jedoch alle zu diesem Zeitpunkt möglichen, vorbereitenden Schritte durchgeführt und die Daten weitestgehend empirisch ausgewertet.

So wurde damit begonnen, in das bestehende Boden-Pflanze-Modell für Winterweizen als Alternative für den zurzeit genutzten funktionalen Ansatz nach Feddes et al. einen stärker mechanistischen Ansatz zu integrieren. Bei diesem fließt sowohl die Heterogenität der Wurzelverteilung als auch eine explizite Modellierung des Wassertransports zur Wurzel ein, basierend auf den Erkenntnissen aus AP2 & 5. Hierbei wurde auf älteren Arbeiten des AG-Leiters aufgebaut und aktuelle, analytische Lösungen für das radiale Wassertransportproblem basierend auf dem Matrix-Flux-Potential-Ansatz verwendet.

Am Beginn der empirischen Datenauswertung stand die Verwertung der Drohnen-basiert erstellten Multispektralaufnahmen. Diese wurden in einem ersten Schritt mittels der Photogrammetriesoftware pix4D zu Orthokarten verrechnet. Im Anschluss wurden in einem Geoinformationssystem Parzellenpläne erstellt und Reflexionswerte der verschiedenen von der Kamera erfassten Bänder (Rot, Grün, Red Edge, Nahes Infrarot) auf Parzellenebene extrahiert. Mittels einer in der CAU-Ag entwickelten, ganzsaisonal gültigen, Kalibration wurde auf deren Grundlage der *Green Area Index* (GAI, photosynthetisch aktive Fläche des Bestandes als Summe von Blattfläche, Stängelfläche und Ährenfläche) berechnet.

Bereits hier zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Fruchtfolgestellungen, N-Stufen und Weizensorten. Hierbei war der GAI im ersten Weizen zumeist höher als im dritten Weizen, wobei die Unterschiede in den höher gedüngten Varianten tendenziell zunahmen (Abbildung 60).

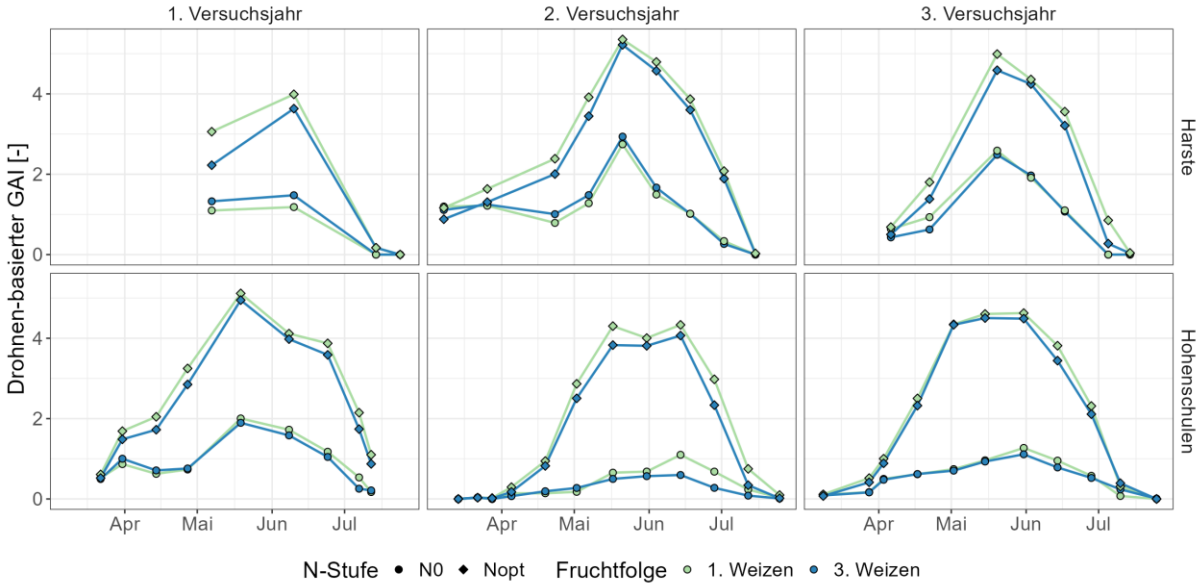
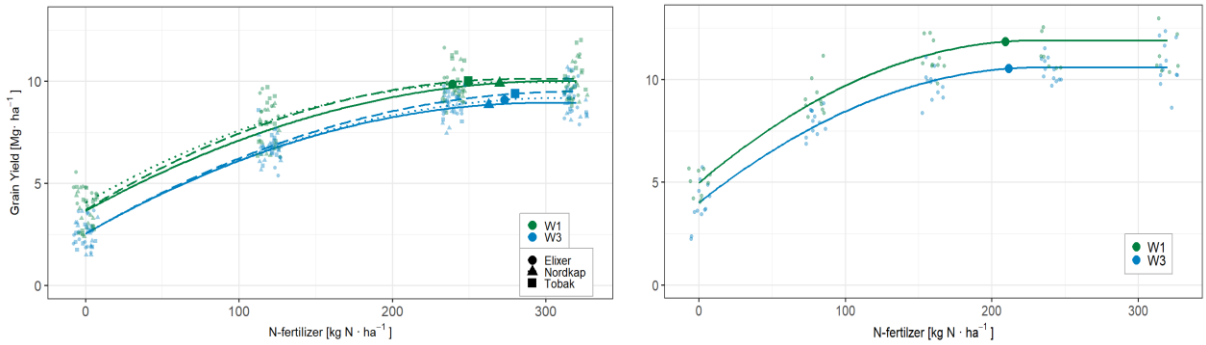


Abbildung 60 GAI-Unterschiede zwischen erstem und drittem Weizen in den N-Stufen N0 und Nopt in den drei jeweiligen Versuchsjahren in Harste und im Versuch 2 auf Hohenschulen. Die Werte von Parzellen gleicher Varianten wurden als Mittelwert zusammengefasst.

Auf Grundlage der GAI-Kurven wurde die Menge der aufgenommenen photosynthetisch aktiven Strahlung durch die Pflanzenbestände berechnet. Weizen nach Blattfrucht konnte in allen N-Stufen die meiste Strahlung aufnehmen. Diese Unterschiede in der Strahlungsaufnahme finden sich auch im



mittels Parzellendrusch ermittelten Kornertrag wieder (Abbildung 61). So wurden in den Feldversuchen der CAU-Ag im ersten Weizen bei gleicher Düngung im Mittel der Jahre etwa 1 t/ha mehr Ertrag erzielt (Abbildung 61). Zudem erzielte der dritte Weizen eine niedrigere Anzahl gebildeter Körner als auch ein geringeres Korngewicht (TKW).

Abbildung 61 Ertragsunterschiede zwischen Weizenparzellen unterschiedlicher Fruchtfolgestellung (grün: 1. Weizen, blau: 3. Weizen) auf dem Versuchsgut Hohenschulen, links: Versuch 1, rechts: Versuch 2.

Der Versuch 1 der CAU-Ag lieferte zusätzlich Hinweise darauf, dass der Effekt der Fruchtfolgestellung von der angebauten Weizensorte abhängt: Es konnten Unterschiede zwischen den Sorten sowie für die Interaktion zwischen Vorfrucht und Sorte in der Strahlungsaufnahme vor und nach der Blüte festgestellt werden. Hierbei zeigte sich, dass ‚Elixer' durch eine hohe Blattmasse vor der Blüte die höchste Menge Strahlung aufnehmen konnte. Der Unterschied in den ungedüngten und niedrig gedüngten Varianten war hier besonders deutlich, was ein Erklärungsansatz für die höheren Erträge, die ‚Elixer' im ersten Weizen in den niedriger gedüngten Varianten erzielen konnte (Abbildung 61), sein kann. Im dritten Weizen konnte ‚Elixer' die höhere Strahlungsaufnahme in den ungedüngten und niedrig gedüngten Varianten nach der Blüte aufrechterhalten. In den höher gedüngten Varianten im dritten Weizen zeigte ‚Tobak' die höchste Strahlungsaufnahme. Da ‚Tobak' in diesen Varianten die höchsten Erträge im

Vergleich mit den anderen beiden Sorten erzielen konnte (Abbildung 61), ist davon auszugehen, dass eine höhere Strahlungsaufnahme nach der Blüte dem Ertragsabfall im dritten Weizen entgegenwirken kann.

Tabelle 5 ANOVA Ergebnisse für ausgewählte Effekte und Interaktionen in Versuch 1 auf dem Versuchsgut Hohenschulen (CRP = crop rotational position, N = N-level, G = genotype, p<0.05).

	CRP	N	G	CRPxN	CRPxG	NxG
Grain Yield	0.019	<0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
TKW	0.039	<0.001	<0.001	0.002	n.s.	n.s.
Kernels/m²	0.016	<0.001	0.001	0.016	n.s.	n.s.
Q pre-anthesis	<0.001	<0.001	<0.001	0.023	n.s.	n.s.
Q post-anthesis	0.025	<0.001	<0.001	n.s.	0.024	n.s.
Q total	<0.001	<0.001	<0.001	n.s.	n.s.	n.s.
RUE	0.005	<0.001	<0.001	0.024	n.s.	n.s.

Mit Hilfe des aus Handernten ermittelten Harvest Index (HI) wurde die Gesamtbiomasse der Parzellen zur Ernte errechnet. Aus der Gesamtbiomasse und der Gesamtmenge an aufgenommener Strahlung wurde die Strahlungsnutzungseffizienz (RUE) errechnet. Mit Hilfe der RUE kann eine Aussage darüber getroffen werden, wie effizient Pflanzenbestände die aufgenommene Strahlung in Biomasse umwandeln konnten. Die RUE stieg mit der Stickstoffdüngung an und war im ersten Weizen signifikant höher als im dritten Weizen (Tabelle 5). Zudem konnten auch hier deutliche und signifikante Sortenunterschiede festgestellt werden, wobei die Sorte ‚Elixer' die höchste Menge an photosynthetisch aktiver Strahlung aufnehmen konnte. Die Sorte ‚Tobak' erreichte hingegen die höchste RUE. Diese Ergebnisse befinden sich derzeit in der Vorbereitung für eine Publikation (Pronkow et al. 2024, in preparation). Deutliche Jahres- und Standortunterschiede in den Ergebnissen zeigen jedoch die Notwendigkeit einer weitergehenden Interpretation der Daten mittels prozessbasierter Modellierung auf.

Task 6.3: Parameterisierung des Weizenwachstumsmodells auf Basis der detaillierten 3D Modellsimulationen (FZJ)

Im Berichtszeitraum erfolgte die Aggregierung der 3D-Modellanalysen für Ertragsmodelle. Der Link ist ein neuer Senkenterm für Wurzelwasseraufnahme aus dem Boden, der in 1D-Ertragsmodellen eingebaut werden kann und auf der Basis der 3D-hydraulischen Wurzelarchitektur sowie des Rhizosphärenwiderstandes zum Wasserfluss hergeleitet wurde. Das Konzept ist in Abbildung 62 dargestellt.

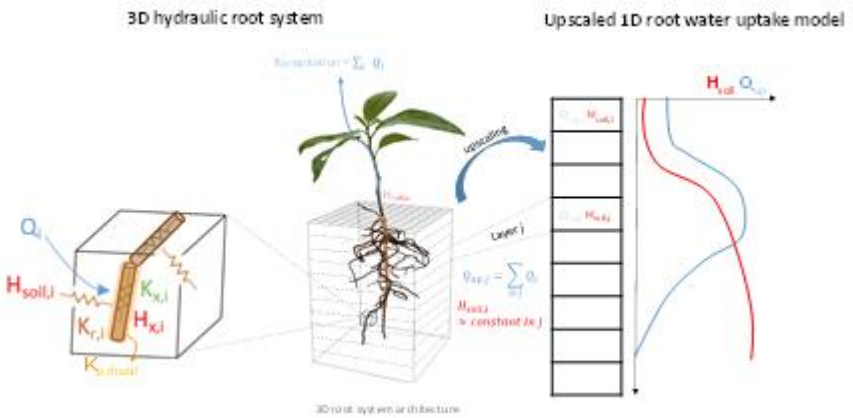


Abbildung 62 Durch Upscaling wurde aus der komplexen 3D-Modellierung, die die 3D-Wurzelarchitektur, deren hydraulische Eigenschaften, sowie den zusätzlichen Widerstand zum Wasserfluss in der Rhizosphäre berücksichtigt, ein 1D-Senkenterm für Ertragsmodelle entwickelt.

Die Formulierung ist vergleichbar mit gängigen Senkentermen für Wurzelwasseraufnahme, wie der von Feddes (Feddes et al., 1978) oder Feddes-Jarvis (Šimůnek und Hopmans, 2009). Die Parameter des neuen Senkenterms haben eine physikalische bzw. biologische Bedeutung und können auf Basis der 3D-hydraulischen Wurzelarchitektur und der hydraulischen Eigenschaften des Bodens berechnet

werden. Phänomene wie „hydraulic redistribution“ und „root water uptake compensation“ ergeben sich nun automatisch aus der Formulierung.

Der neue Senkenterm, der die Wurzelwasseraufnahme Q_i (L T^{-1}) aus Bodenschicht *i* beschreibt, ist in Gleichung 1 dargestellt.

$$(1) \qquad Q_i = \begin{cases} \alpha_i(H_{bs,i}) SUF_i \frac{T_p}{\omega_c} & \omega < \omega_c \\ \alpha_i SUF_i \frac{T_p}{\omega_c} - \frac{\alpha_i SUF_i}{[H_{bs,i} - H_c] - \left[\sum \frac{\alpha_i SUF_i}{H_{bs,i} - H_c}\right]} \left[\frac{\omega}{\omega_c} - 1\right] T_p & \omega \geq \omega_c \end{cases}$$

T_p (L T^{-1}) ist die potenzielle Transpiration, H_{bs} (cm) das bulk soil-Bodenwasserpotential, H_c (cm) das kritische Bodenwasserpotential (permanenter Welkepunkt). *SUF* (-) stellt den Anteil der gesamten Wurzelwasseraufnahme durch das Wurzelsystem aus der *i*-ten Schicht dar, wenn die Wasserpotenziale an der Boden-Wurzel-Grenzfläche in der Wurzelzone einheitlich sind, und kann aus der 3D hydraulischen Wurzelarchitektur berechnet werden. *a*, *w* und w_c sind die neuen Modellparameter, die aus der 3D hydraulischen Wurzelarchitektur sowie der bodenhydraulischen Parameter und der Kenntnis der analytischen Lösung der 1D radialsymmetrischen numerischen Lösung des Wasserflussmodells in der Rhizosphäre berechnet werden. $\alpha_i = \frac{K_{srs,i}[H_{bs,i} - H_c]}{K_{rs}[-H_c]}$, , ,$\omega = \sum SUF_i \alpha_i$ $\omega_c = \frac{T_p}{K_{rs}[-H_c]}$

a_i ist das Verhältnis aus der maximal mögliche Wasseraufnahme aus Schicht *i* (H_{collar}=H_c) bei gegebenem Bodenwasserpotential $H_{bs,i}$ und der potentiell möglichen Wasseraufnahme aus dieser Schicht (bei gesättigtem Boden, $H_{bs,i}$=0). *w* ist das Verhältnis der maximal möglichen Wasseraufnahme über alle Bodenschichten bei gegebenen Wasserpotentialen und der potenziell möglichen Wasseraufnahme bei gesättigtem Boden. w_c ist das Verhältnis der potenziellen Transpiration und der potenziell möglichen Wasseraufnahme bei gesättigtem Boden. K_{rs} ist die effektive Wasserleitfähigkeit des Wurzelsystems und kann aus der 3D-hydraulischen Wurzelarchitektur berechnet werden (Vanderborght et al. 2022). In der effektiven Boden-Wurzel-Wasserleitfähigkeit K_{srs} steckt der zusätzliche Widerstand zum Wasserfluss in der Rhizosphäre bei austrocknendem Boden (Schröder et al. 2008), berechnet auf Basis der 1D-radialsymmetrischen Wasserflussgleichung in der Rhizosphäre.

Mit dieser Formulierung ist es gelungen, gängige bekannte Senkenterme für die Wurzelwasseraufnahme, wie sie in Ertragsmodellen verwendet werden, neu zu formulieren. Die Form ähnelt den bisher genutzten Senkentermen und ist deshalb einfach in Ertragsmodelle einzubauen. Die Herleitung ist jedoch mechanistisch (prozessbasiert) hergeleitet und ermöglicht automatisch die Beschreibung von Phänomenen wie „hydraulic redistribution“ und „root water uptake compensation“. Die Herleitung und Evaluierung ist in Vanderborght et al. (2024) beschrieben.

Eine wichtige Eigenschaft der neuen Formulierung ist, dass der Stressfaktor a nicht nur von den Pflanzeneigenschaften, sondern auch von den Bodeneigenschaften abhängt. Wie beispielhaft in Abbildung 62a dargestellt, hat dieselbe Pflanze in einem grobkörnigen Boden früher Stress als in einem feinen Boden. Der Faktor w_c hängt nicht nur von den Bodeneigenschaften ab, sondern auch vom „atmospheric demand“, der potentiellen Transpiration (siehe Abbildung 63).

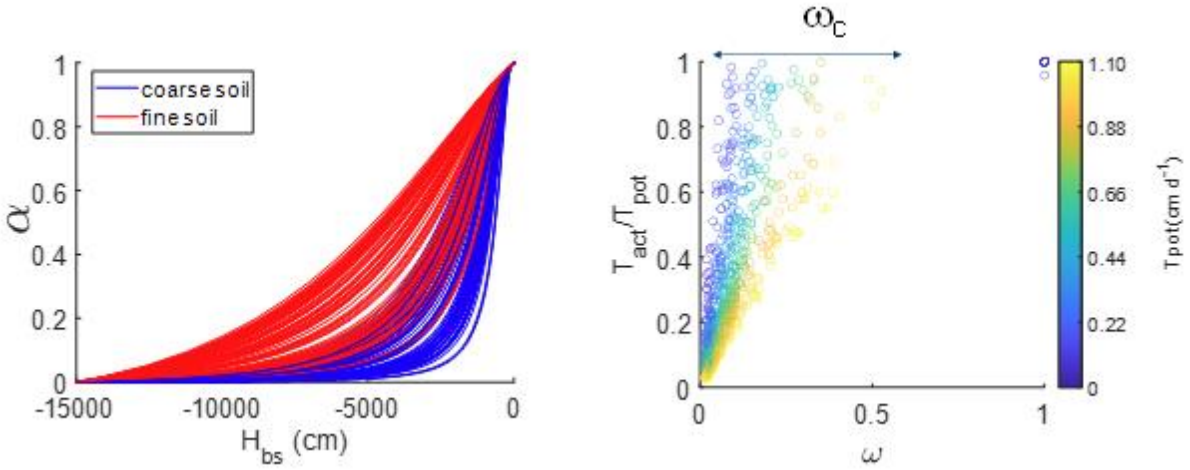


Abbildung 63 ***(a)*** *α als Funktion des Bodenwasserpotentials für einen groben und einen feinen Boden.* ***(b)*** *Je größer der „atmospheric demand“, desto größer ist der Faktor w_c.*

Die Einbußen an Genauigkeit sowie der Gewinn an Rechengeschwindigkeit bei jedem Vereinfachungsschritt wurde systematisch von Leitner et al. (2024) evaluiert.

II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Neben dem großen Posten der Personalmittel für die wie beantragt besetzten Stellen einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin (Doktorandin), einer Technischen Assistentin sowie studentischer Hilfskräfte, wurden größere Ausgaben für verschiedene Gerätschaften getätigt.

Hier sind primär das eigens für das Projekt hergestellte Probenahmegerät (Nordmeyer Geotool) inkl. einiger Zusatzgerätschaften wie Anbauheckbagger und Sonden, der Wurzelscanner CI-600 inkl. der für den Einsatz im Feld benötigten Plexiglasröhren sowie eine Bodenfeuchtemesslanze (Sentek Diviner), ebenfalls inkl. passender Röhren für den Einsatz im Feld, zu nennen. Um bei den durchgeführten Drohnenaufnahmen arbeitsgruppenübergreifend dieselbe Technik zu verwenden, wurde weiter eine Multispektralkamera und die Software Pix4Dmapper zur Verarbeitung der Bilder angeschafft.

Über die Projektlaufzeit sind weiter zahlreiche Bodenproben angefallen, die auf ihren Gehalt an mineralischem Stickstoff untersucht wurden, was in der Gesamtsumme ebenfalls einen großen Posten darstellte. Auch die µ-CT-Scans einiger Bodenproben, die als Auftrag an der Uni Kassel durchgeführt wurden, sind hier zu nennen, auch wenn diese Analysen nur in zwei von drei Jahren angefallen sind (siehe III.4). Schließlich ist noch die anteilige Nutzungsentschädigung für die Fläche des Langzeitfeldversuchs zu erwähnen, die jährlich ein fester, größerer Posten im Budget war.

Der relativ hohe Posten der Reisekosten im Projekt erklärt sich u.a. durch die regelmäßig notwendigen mehrtägigen Fahrten der Projektmitarbeiterinnen und Hilfskräfte von Göttingen zum Versuchsfeld Hohenschulen bei Kiel.

II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Eine Bearbeitung der geplanten Aufgabenstellungen mit Erreichen der Zielsetzung war ohne staatliche Förderung für die beteiligten Projektpartner nicht möglich, denn die umfangreichen durchzuführenden Arbeiten (siehe II.1) konnten ohne zusätzlich eingestelltes wissenschaftliches und technisches Personal nicht vom Stammpersonal der beteiligten Einrichtungen geleistet werden. Die Projektpartner nutzten darüber hinaus verfügbare eigene Ressourcen, vor allem die Forschungsinfrastruktur (Büroräume und Ausstattung, IT-Systeme, Versuchstechnik, Labore) und unterstützten anteilig durch grundfinanzierte Mitarbeitende (vor Allem bei der Durchführung der Versuche und Projektleitung/-koordination). Die

erhaltenen Zuwendungen stehen in angemessenem Verhältnis zu den umfangreichen erzielten Ergebnissen.

II.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

II.4.1 Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

- Im Rahmen des Projektes wurde wie geplant keine patentrechtlich geschützte Technik oder Erfindung realisiert.

II.4.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

- Die im Projekt gewonnen Erkenntnisse zu den Mechanismen des negativen Einflusses einer Weizenselbstfolge auf die Vitalität und Funktionalität von Weizenwurzeln und somit auf den Ertrag können nach Projektende genutzt werden, um Ertragsverluste im Weizen bspw. durch Fruchtfolgenumstellung zu vermindern bzw. zu vermeiden. Über die durch insgesamt drei Versuchsjahre und zwei Standorte eingebrachte Variation der Umweltbedingungen können zudem spezifischere Aussagen zu Einflüssen veränderter Wetterverhältnisse infolge des Klimawandels getroffen werden. Somit können die erzielten Ergebnisse eine erste Grundlage für eine regional differenzierte Beratung mit dem Ziel einer höheren Wirtschaftlichkeit des Weizenanbaus für landwirtschaftliche Betriebe liefern.

II.4.3 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende

- Erfolgreich veröffentlichte und eingereichte/geplante peer-review Publikationen in internationalen Fachzeitschriften und nationalen Praxisjournalen sowie zahlreiche Präsentationen der Ergebnisse auf nationalen und internationalen Konferenzen.
- Der in den Feldversuchen zusammengestellte Datensatz ist essentiell für die Weiterentwicklung und Evaluierung von prozessbasierten Modellen zur Beschreibung Standort-, Fruchtfolge- und Sorten-differenzierter Ertragsunterschiede. Die verschiedenen erfassten Boden-, Pflanzen- und Wasserhaushaltsparameter wurden auf ihre Qualität überprüft, in ein einheitliches Format gebracht und z.T. zur Berechnung anderer relevanter Größen genutzt (z.B. Strahlungsaufnahme, Transpirationsnutzungseffizienz). Hierdurch liegt ein idealer Ausgangspunkt für weitere Entwicklungen des Weizenwachstumsmodells HUME vor, insbesondere im Hinblick auf die Rhizosphäre für die bislang vergleichsweise wenig Daten vorlagen. Der Datensatz wurde zur weiteren Verwendung, auch durch Dritte, in die BonaRes-Datenbank eingepflegt. Mikrobielle Sequenzdaten wurden über öffentlich zugängliche Datenbanken (z.B. NCBI-SRA) zugänglich gemacht und mit der BonaRes-Datenbank verknüpft.
- Der zusammengestellte Datensatz zur Wurzelleistung von Weizen unter verschiedenen Bedingungen ist darüber hinaus von großer Bedeutung für die Abschätzung des Kohlenstoffeintrags im Ackerbau, da es derart umfangreiche und aufwändige Untersuchungen zur Wurzelbiomasse bislang deutlich zu wenig gibt.
- Der zusammengetragene Datensatz historischer Feldversuche unterschiedlicher Weizensorten und Vorfrüchte zu Weizen bietet zahlreiche Nachnutzungsmöglichkeiten für Fragestellungen, insbesondere zur Evaluierung des Prozessmodells, aber auch zur Bewertung und Optimierung aktueller und zukünftiger ackerbaulicher Anbausysteme.
- Bereits erzielte und noch zu erwartende Fortschritte bei der Abbildung der Wurzelwasseraufnahme im Winterweizen (1D-Wurzelmodell, HUME-Prozessmodell) können von anderen Weizenprojekten genutzt und potentiell auch auf andere Kulturen übertragen werden. Die hierdurch verbesserte Darstellung von Trockenstress wird zukünftig bei der prozessbasierten Interpretation von Thermaldaten helfen. Hierzu stellen die drohnenbasiert

erfassten Thermalaufnahmen der Versuche 1-3 der CAU-Ag (insbesondere die des Versuchs 3) eine wertvolle Modellierungsgrundlage dar.

- Die Minirhizotrontechnik wird in der CAU-Ag bereits seit vielen Jahren zur Datenerhebung genutzt. Bislang lag jedoch kein einfacher, Computer-basierter Ansatz zur Auswertung der Bilder vor. Die in den Feldversuchen erhobenen umfangreichen Daten und die durch das IfZ erwirkten Fortschritte zur automatisierten, KI-basierten Bildauswertung werden daher als wichtige Entwicklung betrachtet, von der kommende Projekte profitieren und durch die weitere Erkenntnisse aus älteren Daten hergeleitet können werden.
- Aus den erzielten Erkenntnissen über Fruchtfolge- und Sortenunterschiede sowie Mikrobiommanagement ergeben sich weitere Forschungsperspektiven, die in der bereits angelaufenen zweiten Phase von RhizoWheat untersucht werden sollen.

II.4.4 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

- Es wurden Methodiken zur Auswertung von Wurzelbildern entwickelt, mit denen pflanzenbauliche Fragestellungen um Rhizosphären-Prozesse effizienter bearbeitet werden können. Diese Methodik sowie die durch im Rahmen des Projektes angeschaffte Probenahmetechnik ermöglichen insgesamt erweiterte Untersuchungsmöglichkeiten hinsichtlich der Wurzelleistung im Feld, die auch für anderen Kulturen genutzt werden können und im Langzeitversuch in Göttingen auch bereits genutzt werden.
- Die systematisch gesammelten Erfahrungen zur Minirhizotrontechnik, zusammengefasst in einem eingereichten Manuskript (Arnhold et al., eingereicht bei Plant Methods), können zukünftige Untersuchungen mit dieser Methodik durch Vermeidung ausgewiesener Fallstricke erheblich verbessern und zuverlässiger machen.
- Das Projekt liefert essentielle Vorarbeiten und weitere Forschungsperspektiven zur Entwicklung von Strategien zur Überwindung negativer Vorfruchteffekte und zur umweltabhängigen Quantifizierung von Risiken ungünstiger Fruchtfolgestellungen.
- Es wurden pflanzennützliche Bakterien identifiziert, die unter Gewächshausbedingungen das Pflanzenwachstum und -gesundheit verbessern können. Nach erfolgreicher Testung unter Freilandbedingungen können diese Stämme Grundlage für neue Biostimulanzien und Biokontrollprodukte darstellen. Dies erlaubt langfristig die Reduzierung von synthetischen Düngern und Fungiziden.
- Die Arbeiten zur Wurzelmodellierung und der Abbildung dieser Ergebnisse im Prozessmodell, sowie die gewonnenen Erkenntnisse zur Sensitivität prozessbasierter Modelle gegenüber Modellsteuergrößen und der Management-induzierten Variation von Modellparametern liefern wichtige Voraussetzungen für Szenariorechnung zur Beurteilung der Performance von Managementansätzen unter zukünftigen klimatischen Bedingungen. Zudem soll die verbesserte Abbildung der Trockenstressreaktion des Bestandes die Nutzung von Thermaldaten zur Modellkalibrierung aber auch als zukünftigen Dateninput ermöglichen.
- Ein neuartiges Protokoll zur Glukose-Bildgebung im Boden wurde optimiert und für die *in-situ*-Bildgebung der Glukosefreisetzung sowie deren Verteilung im Wurzelumfeld innerhalb von Bodenumgebungen angepasst. Diese verbesserte Methode liefert überzeugende Beweise für ihre Wirksamkeit bei der Aufdeckung der komplexen Dynamik der Glukose-Exsudation unter variierenden Feuchtigkeitsbedingungen und Mykorrhiza-Assoziationen. Der Erfolg dieses Ansatzes bei der Erfassung dieser komplexen Dynamik macht ihn zu einem wertvollen Werkzeug für das Verständnis der Pflanzenreaktionen auf Umweltstress.
- Die Erfahrungen und Ergebnisse im Bereich der prozessbasierten Weizenertragsmodellierung sollen in neuen Projekten genutzt werden, konkret in zwei potentiellen Projekten, die beim BMEL zu den Themen Nährstoffeffizienz und Digitalisierung im Weizenanbau beantragt wurden.

- Durch intensive Mitarbeit von Nachwuchswissenschaftler:innen im Rahmen des Projekts wird langfristig Fachpersonal für die Bearbeitung dieser und ähnlicher Fragen der nachhaltigen Landnutzung qualifiziert.

II.5 Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es ist kein wesentlicher Fortschritt bekannt. Neuere Publikationen zur Bildanalyse im Rahmen von Wurzeluntersuchungen wurden in der eingereichten Publikation zu den Minirhizotronmessungen berücksichtigt, stellen jeweils aber unterschiedliche methodische Ansätze im Vergleich zum Projektvorhaben dar.

II.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Erfolgte Veröffentlichungen

Arnhold, J., Grunwald, D., Braun-Kiewnick, A., Koch, H.-J. (2023a) Effect of crop rotational position and nitrogen supply on root development and yield formation of winter wheat. Front. Plant Sci. 14:1265994. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1265994

Arnhold, J., Grunwald, D., Kage, H., Koch, H.-J. (2023b) No differences in soil structure under winter wheat grown in different crop rotational positions. Can. J. Soil Sci**.** 00: 1–8. dx.doi.org/10.1139/cjss-2023-0030.

Bartoli, C., Boivin, S., Marchetti, M., Gris, C., Gasciolli, V., Gaston, M., ... & Lefebvre, B. (2022). Rhizobium leguminosarum symbiovar viciae strains are natural wheat endophytes that can stimulate root development. *Environmental Microbiology*, *24*(11), 5509-5523.

Braun-Kiewnick, A. Giongo, A., Zamberlan, P. M., Pluta, P., Koch, H.-J., Kage, H., Smalla, K., and Babin, D. (2024). The microbiome of continuous wheat rotations: minor shifts in bacterial and archaeal communities but source for functionally active plant-beneficial bacteria. Phytobiomes (accepted on 27th Aug 2024).

Groeneveld, M., Grunwald, D., Piepho, H.-P., & Koch, H.-J. (2024). Crop rotation and sowing date effects on yield of winter wheat. The Journal of Agricultural Science, First View, https://doi.org/10.1017/S0021859624000261.

Giongo, A., Arnhold, J., Grunwald, D., Smalla, K., & Braun-Kiewnick, A. (2024). Soil depths and microhabitats shape soil and root-associated bacterial and archaeal communities more than crop rotation in wheat. *Frontiers in Microbiomes*, *3*, 1335791.

Kaloterakis, N., Kummer, S., Le Gall, S., Rothfuss, Y., Reichel, R., Brüggemann, N., 2024. Reduced belowground allocation of freshly assimilated C contributes to negative plant-soil feedback in successive winter wheat rotations. *Plant and Soil 1-15.*

Kaloterakis, N., Rashtbari, M., Razavi, B. S., Braun-Kiewnick, A., Giongo, A., Smalla, K., ... & Brüggemann, N. (2024). Preceding crop legacy modulates the early growth of winter wheat by influencing root growth dynamics, rhizosphere processes, and microbial interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 109343.

Leitner D, Schnepf A, Vanderborght J (2024) From hydraulic root architecture models to efficient macroscopic sink terms including perirhizal resistance: Quantifying accuracy and computational speed. EGUsphere 2024: 1-38. doi: 10.5194/egusphere-2024-1319.

Schnepf, A., Black, C. K., Couvreur, V., Delory, B. M., Doussan, C., Heymans, A., ... & Vereecken, H. (2023). Collaborative benchmarking of functional-structural root architecture models: Quantitative comparison of simulated root water uptake. *in silico Plants*, *5*(1), diad005.

Vanderborght, J., Leitner, D., Schnepf, A., Couvreur, V., Vereecken, H., & Javaux, M. (2023). Combining root and soil hydraulics in macroscopic representations of root water uptake. *Vadose Zone Journal*, e20273.

Vogel HJ, Amelung W, Baum C, Bonkowski M, Blagodatsky S, Grosch R, Herbst M, Kiese R, Koch S, Kuhwald M, König S, Leinweber P, Lennartz B, Müller CW, Pagel H, Rillig MC, Rüschhoff J, Russell D, Schnepf A, Schulz S, Siebers N, Vetterlein D, Wachendorf C, Weller U, Wollschläger U (2024) How to adequately represent biological processes in modeling multifunctionality of arable soils. Biology and Fertility of Soils. doi: 10.1007/s00374-024-01802-3.

Geplante Veröffentlichungen

Arnhold, J., Ispizua Yamati, F.R., Grunwald, D., Kage, H., Mahlein, A.-K., Koch, H.-J. (under review). Minirhizotron measurements can supplement deep soil coring to evaluate root growth of winter wheat when certain pitfalls are avoided. Plant Methods, in revision as of August 2024.

Braun-Kiewnick, A. Giongo, A., Zamberlan, P. M., Pluta, P., Koch, H.-J., Kage, H., Smalla, K., and Babin, D. (2024). The microbiome of continuous wheat rotations: minor shifts in microbial communities but source for functionally active plant-beneficial microbes. submitted to Phytobiomes (in revision August 24).

Kaloterakis N, Braun-Kiewnick A, Giongo A, Rashtbari M, Zamberlan P, Razavi BS, Smalla K, Reichel R, Brüggemann N. The rotational position of winter wheat shapes the bacterial and archaeal community, contributing to a negative plant-soil feedback and yield decline.

Kaloterakis N, Braun-Kiewnick A, Giongo A, Rashtbari M, Razavi BS, Babin D, Brüggemann N. Potential of the bacterium *Bacillus pumilus* to alleviate early growth reduction in successive wheat rotations.

Kaloterakis N, Braun-Kiewnick A, Giongo A, Rashtbari M, Razavi BS, Babin D, Brüggemann N. Potential of compost to alleviate yield decline in wheat growing in self-succession.

Pronkow, K., Bukowiecki, J., Honsdorf, N., Kage, H. (2024) Crop Rotational Position affects Intercepted Radiation in Winter Wheat. (in preparation)

Rashtbari, M., Braun-Kiewnick, A., Smalla, K., Razavi, B.S. (2024) Glucose Release and Enzyme Activity Are Affected by Successive Wheat Cultivation and Plant Developmental Stage. Submitted to Geoderma (in revision, July 2024)

Rashtbari, M., Hoseini, S.S., Azami, A.S., Schemmel, M., Zhou, Z., Han, L., Cai, D., Razavi, B.S. (2024) Glucose Release Controlled by Sugar Transporters in Wheat Plant Modulates Microbial Growth and Enzyme Activity Around the Root. (in preparation)

Ullah S, Leitner D, Vanderborght J, Kage H, Schnepf A (2024) Virtual root sampling for root architecture parameter estimation (in preparation).

Ullah S, Koch H.-J., Grunwald D, Arnhold J, Schnepf A (2024) Root architecture traits of roots with and without early root senescence (in preparation).

Literaturverzeichnis

Arnhold, J., Grunwald, D., Braun-Kiewnick, A., Koch, H.-J. (2023) Effect of crop rotational position and nitrogen supply on root development and yield formation of winter wheat. Front. Plant Sci. 14:1265994. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1265994

Asseng, S., Ewert, F., Rosenzweig, C., Jones, J.W., Hatfield, J.L., Ruane, A.C., Boote, K.J., Thorburn, P.J., Rotter, R.P., Cammarano, D., Brisson, N., Basso, B., Martre, P., Aggarwal, P.K., Angulo, C., Bertuzzi, P., Biernath, C., Challinor, A.J., Doltra, J., Gayler, S., Goldberg, R., Grant, R., Heng, L., Hooker, J., Hunt, L.A., Ingwersen, J., Izaurralde, R.C., Kersebaum, K.C., Muller, C., Kumar, S.N., Nendel, C., O'Leary, G., Olesen, J.E., Osborne, T.M., Palosuo, T., Priesack, E., Ripoche, D., Semenov, M.A., Shcherbak, I., Steduto, P., Stockle, C., Stratonovitch, P., Streck, T., Supit, I., Tao, F., Travasso, M., Waha, K., Wallach, D., White, J.W., Williams, J.R., Wolf, J., 2013. Uncertainty in simulating wheat yields under climate change. Nature Climate Change 3, 827-832

Bauer, F. M., Lärm, L., Morandage, S., Lobet, G., Vanderborght, J., Vereecken, H., & Schnepf, A. (2021). Combining deep learning and automated feature extraction to analyze minirhizotron images: development and validation of a new pipeline. bioRxiv, 2021-12.

Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., Huard, F., 2010. Why are wheat yieldsstagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. Field Crop. Res. 119, 201-212.

Boyko, A., & Kovalchuk, I. (2011). Genetic and epigenetic effects of plant–pathogen interactions: an evolutionary perspective. Molecular Plant, 4(6), 1014-1023.

Donn, S., Kirkegaard, J.A., Perera, G., Richardson, A.E., Watt, M., 2015. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere. Environmental Microbiology 17, 610-621.

Drake JE, Darby BA, Giasson MA, Kramer MA, Phillips RP, Finzi AC (2013) Stoichiometry constrains microbial response to root exudation – insights from a model and a field experiment in a temperate forest. Biogeosciences, 10, 821–838. doi:10.5194/bg-10-821-2013

Feddes, R.A., P.J. Kowalik and H. Zaradny. 1978. Simulation of field water use and crop yield. PUDOC, Wageningen, the Netherlands.

Gilligan, C.A., 1994. The dynamics of infection by the take-all fungus on seminal roots of wheat - sensitivity analysis of a stochastic simulation-model. New Phytol. 128, 539-553.

Giraud M, Gall SL, Harings M, Javaux M, Leitner D, Meunier F, Rothfuss Y, van Dusschoten D, Vanderborght J, Vereecken H, Lobet G, Schnepf A (2023) CPlantBox: a fully coupled modelling platform for the water and carbon fluxes in the soil-plant-atmosphere continuum. In Silico Plants 5. doi: 10.1093/insilicoplants/diad009.

Javaux, M., Schröder, T., Vanderborght, J., & Vereecken, H. (2008). Use of a three-dimensional detailed modeling approach for predicting root water uptake. Vadose Zone Journal, 7(3), 1079-1088.

Kage, H., & Stützel, H. (1999). HUME: an object oriented component library for generic modular modelling of dynamic systems. Modelling cropping systems. European Society of Agronomy, Lleida, Spain, 299-300.

King, J., Gay, A., Sylvester-Bradley, R., Bingham, I., Foulkes, J., Gregory, P., Robinson, D., 2003. Modelling Cereal Root Systems for Water and Nitrogen Capture: Towards an Economic Optimum. Ann Bot 91, 383-390.

Kohl, M., Bottcher, U., Kage, H., 2007. Comparing different approaches to calculate the effects of heterogeneous root distribution on nutrient uptake: a case study on subsoil nitrate uptake by a barley root system. Plant Soil 298, 145-159.

Landl M, *et al.*, 2021. Simulating rhizodeposition patterns around growing and exuding root systems. *in silico Plants* **3**. doi: 10.1093/insilicoplants/diab028

Leitner D, Schnepf A, Vanderborght J (2024) From hydraulic root architecture models to efficient macroscopic sink terms including perirhizal resistance: Quantifying accuracy and computational speed. EGUsphere 2024: 1-38. doi: 10.5194/egusphere-2024-1319.

López, R. C. M., & Wilkinson, M. J. (2015). Epi-fingerprinting and epi-interventions for improved crop production and food quality. Frontiers in plant science, 6, 144180.

Macdonald, A.J., Gutteridge, R.J., 2012. Effects of take-all (Gaeumannomyces graminis var. tritici) on crop N uptake and residual mineral N in soil at harvest of winter wheat. Plant Soil 350, 253-260.

Moore, F.C., Lobell, D.B., 2015. The fingerprint of climate trends on European crop yields. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 112, 2670-2675.

Morandage S, Schnepf A, Leitner D, Javaux M, Vereecken H, Vanderborght J (2019) Parameter sensitivity analysis of a root system architecture model based on virtual field sampling. Plant and Soil 438: 101-126. doi: 10.1007/s11104-019-03993-3.

Nair, R., Strube, M., Hertel, M., Kolle, O., Rolo, V., & Migliavacca, M. (2023). High frequency root dynamics: sampling and interpretation using replicated robotic minirhizotrons. Journal of Experimental Botany, 74(3), 769-786.

Osborne, S.J., McMillan, V.E., White, R., Hammond-Kosack, K.E., 2018. Elite UK winter wheat cultivars differ in their ability to support the colonization of beneficial root-infecting fungi. J. Exp. Bot. 69, 3103-3115.

Pillinger, C., Paveley, N., Foulkes, M.J., Spink, J., 2005. Explaining variation in the effects of take-all (Gaeumannomyces graminis var. tritici) on nitrogen and water uptake by winter wheat. Plant Pathol. 54, 491-501.

Pronkow, K., Bukowiecki, J., Honsdorf, N., Kage, H. (2024) Crop Rotational Position affects Intercepted Radiation in Winter Wheat. (in preparation)

Ritchie, J.T., Otter, S., 1985. Description and performance of CERES-wheat: A user oriented wheat yield model. ARS wheat yield project. USDA-ARS, Springfield, VA, pp. 159-175.

Rothfuss Y, Vereecken H, Brüggemann N (2013) Monitoring water stable isotopic composition in soils using gas-permeable tubing and infrared laser absorption spectroscopy, Water Resources Research 49, 1–9. doi:10.1002/wrcr.20311

Schneider, H.M., Lynch, J.P., 2018. Functional implications of root cortical senescence for soil resource capture. Plant Soil 423, 13-26.

Schnepf, A., Leitner, D., Landl, M., Lobet, G., Mai, T. H., Morandage, S., ... & Vereecken, H. (2018). CRootBox: a structural–functional modelling framework for root systems. Annals of botany, 121(5), 1033-1053.

Schnepf A, Black CK, Couvreur V, Delory BM, Doussan C, Heymans A, Javaux M, Khare D, Koch A, Koch T, Kuppe CW, Landl M, Leitner D, Lobet G, Meunier F, Postma JA, Schäfer ED, Selzner T, Vanderborght J, Vereecken H (2023) Collaborative benchmarking of functional-structural root architecture models: Quantitative comparison of simulated root water uptake. In Silico Plants 5. doi: 10.1093/insilicoplants/diad005.

Schröder T, Javaux M, Vanderborght J, Körfgen B, Vereecken H (2008) Effect of Local Soil Hydraulic Conductivity Drop Using a Three-Dimensional Root Water Uptake Model, VZJ 7 (3): 1089–1098. doi: https://doi.org/10.2136/vzj2007.0114.

Seethepalli, A., Dhakal, K., Griffiths, M., Guo, H., Freschet, G. T., & York, L. M. (2021). RhizoVision Explorer: open-source software for root image analysis and measurement standardization. AoB plants, 13(6), plab056.

Semenov, M.A., Shewry, P.R., 2011. Modelling predicts that heat stress, not drought, will increase vulnerability of wheat in Europe. Scientific Reports 1.

Shen Yifei, Shuo Sun, Shuijin Hua, Enhui Shen, Chu-Yu Ye, Daguang Cai, Michael P. Timko, Qian-Hao Zhu, Longjiang Fan (2017) Analysis of transcriptional and epigenetic regulation in hybrid vigor of allopolyploid Brassica napus uncovers key roles for small RNAs. Plant Journal, 91(5)

Sieling, K., Stahl, C., Winkelmann, C., Christen, O., 2005. Growth and yield of winter wheat in the first 3 years of a monoculture under varying N fertilization in NW Germany. European Journal of Agronomy 22, 71–84.

Šimůnek, J., and J.W. Hopmans. 2009. Modeling compensated root water and nutrient uptake. Ecol. Modell. 220:505–521. doi:10.1016/j.ecol-model.2008.11.004.

Smith, A. G., Han, E., Petersen, J., Olsen, N. A. F., Giese, C., Athmann, M., ... & Thorup-Kristensen, K. (2020). RootPainter: Deep Learning Segmentation of Biological Images with Corrective Annotation. bioRxiv, 2020-04.

Smith, A. G., Han, E., Petersen, J., Olsen, N. A. F., Giese, C., Athmann, M., ... & Thorup-Kristensen, K. (2022). RootPainter: deep learning segmentation of biological images with corrective annotation. New Phytologist, 236(2), 774-791.

Thomashow, L., Bangera, M., Bonsall, R., Kim, D., Raaijmakers, J., Weller, D., 1996. 2, 4 Diacetylphloroglucinal, a key antibiotic in soilborne pathogen suppression by fluorescent Pseudomonas spp. In: B, M., PM, G. (Eds.), Biology of Plant–Microbe Interactions. International Society for Plant–Microbe Interactions, St Paul, MN, USA, pp. 469–474.

Vanderborght J, Couvreur V, Meunier F, Schnepf A, Vereecken H, Bouda M, Javaux M (2021) From hydraulic root architecture models to macroscopic representations of root hydraulics in soil water flow and land surface models. Hydrology and Earth System Sciences. doi: DOI:10.5194/hess-25-4835-2021.

Vanderborght J, Leitner D, Schnepf A, Couvreur V, Vereecken H, Javaux M (2023) Combining root and soil hydraulics in macroscopic representations of root water uptake. Vadose Zone Journal, e20273.

Vanderborght J, Couvreur V, Javaux M, Leitner D, Schnepf A, Vereecken H (2024) Mechanistically derived macroscopic root water uptake functions: the a and w of root water uptake functions. Vadose Zone Journal, e20333.

Volkmann T H, Weiler M (2014). Continual in situ monitoring of pore water stable isotopes in the subsurface. Hydrology and Earth System Sciences 18, 1819–1833. doi: 10.5194/hess-18-1819-2014.

Wang, T., Rostamza, M., Song, Z., Wang, L., McNickle, G., Iyer-Pascuzzi, A.S., Qiu, Z., Jin, J., 2019. SegRoot: A high throughput segmentation method for root image analysis. Computers and Electronics in Agriculture 162, 845-854.

Weir, A.H., Bragg, P.L., Porter, J.R., Rayner, J.H., 1984. A winter wheat simulation model without water or nutrient limitations. J.agr.Sci. (Camb.) 102, 371-382.

Willocquet, L., Aubertot, J.N., Lebard, S., Robert, C., Lannou, C., Savary, S., 2008. Simulating multiple pest damage in varying winter wheat production situations. Field Crop. Res. 107, 12-28.

Zimmermann U, Ehhalt D, Münnich KO (1967) Soil water movement and evapotranspiration: changes in the isotopic composition of the water. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, pp. 567–584.