

**Abschlussbericht zum Projekt: ‚Precision-AMF‘**

**OG-Mitglied: Leibniz-Institut für Gemüse und Zierpflanzenbau e.V. (IGZ) – Dr. Michael Bitterlich**

**Gliederung:**

- 1. Ergebnisse**
  - 1.1. Kurzdarstellung der Ziele**
  - 1.2. Beschreibung der Ergebnisse**
  - 1.3. Schlussfolgerung mit Bezug auf die Zielstellung**
- 2. Stellungnahmen**
  - 2.1. Arbeiten, die zu keinen Ergebnissen/Lösungen führten**
  - 2.2. Nutzen der Ergebnisse für die Praxis: Sind verwertbare/nutzbare Empfehlungen, Produkte, Verfahren oder Technologien entstanden?**
  - 2.3. (Geplante) Verwertung und Nutzung der Ergebnisse**
  - 2.4. Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit: Gibt es weitergehende (wissenschaftliche) Fragestellungen aus den Projektergebnissen, die zukünftig zu bearbeiten sind?**
  - 2.5. Kommunikations- und Disseminationskonzept: Darstellung in welcher Weise die Ergebnisse kommuniziert oder verbreitet wurden, ggf. mit Verweis auf Veröffentlichungen und Angaben von Quellen. Grundsätzliche Schlussfolgerungen (ggf. Fazit zur Eignung von EIP-Förderung zur Generierung von Innovation und Schließung von Lücken zwischen Praxis und Wissenschaft) und eventuelle Vorschläge zur Weiterentwicklung von EIP Agri.**
  - 2.6. Kommunikationstabelle (irgendwelche Veranstaltungen bei Euch, Lange Nacht usw?)**

## 1. Ergebnisse

### 1.1. Kurzdarstellung der Ziele

Arbuskuläre Mykorrhizapilze (AMP) sind natürliche ‚Mitglieder‘ des Mikrobioms von Pflanzen und gesunden Böden. Die Grundlagenforschung der letzten Jahre zeigte, dass AMP essentiell für die Pflanzennährstoffaufnahme (Stickstoff und Phosphor) unter Nährstoffmangelbedingungen sind und wichtige Agenzien zur Bildung von gesunder Bodenstruktur, sowie für den Eintrag von organischem Kohlenstoff in Böden darstellen. Durch eine Reihe bekannter Mechanismen fördern AMP so die Ressourcennutzungseffizienz von Pflanzen. Vor dem Hintergrund verschärfter Düngeregulierungen, durch konventionelle Landwirtschaft getriebene Umweltbelastungen, sowie dem Klimawandel rückten AMP als Biostimulanzien zunehmend in den Fokus von Anwendern in der Landwirtschaft, um ähnlich wie stickstofffixierende Bakterien im Leguminosenanbau, die erforderliche ökologische Intensivierung der landwirtschaftlichen Praxis zu ermöglichen. Hier schloss das Projekt ‚Precision-AMF‘ an.

Übergeordnetes Ziel des Projektes war es, Verfahren zu entwickeln, die räumliche Heterogenität des Ertragsaufkommens in Feldkulturen von Kartoffeln und Mais durch den Einsatz von AMP zu reduzieren, und so das Ertragsaufkommen im Feld zu stabilisieren. Die zugrundeliegende Idee dabei ist, dass die Applizierung von AMP vor allem dort pflanzenbaulich und wirtschaftlich sinnvoll ist, wo Kulturen schlechter wachsen und/oder Böden natürlich oder maßnahmenbedingt von AMPs verarmt sind. Um dies zu realisieren, muss bekannt sein: (i) ob Kulturpflanzen und Boden kompatibel mit den eingesetzten AMPs sind, (ii) wenn ja, ob sie in der Kultur nachweisbar sind und von der natürlichen Mikroflora abgrenzbar sind und, (iii) ob der zusätzliche Einsatz von AMPs zu einer räumlich abhängigen Ertragsstabilisierung führt.

Für die Umsetzung dieser Ziele, hatte das IGZ zur Aufgabe:

- (I) **Einen Nachweis zur Etablierung der eingesetzten AMP im Feld zu entwickeln**
- (II) **Die räumliche Heterogenität im Feld (Bodentextur und Nährstoffgehalte) zu erfassen**
- (III) **Und anhand von (II) den Nutzen der eingesetzten AMP für die Ertragsstabilität der Kulturen im Feld zu bilanzieren.**

Im Rahmen der verschiedenen Arbeitspakete wurden diese Ziele bearbeitet und im Folgenden die erzielten Ergebnisse zusammenfassend dargestellt.

### 1.2. Beschreibung der Ergebnisse

**(I) Nachweis der eingesetzten AMP im Feld** Zunächst wurden Topfversuche unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt, um ein molekulares Verfahren zu entwickeln, dass ermöglicht die eingesetzten Mykorrhizapilze von den natürlich im Boden vorkommenden AMP abzugrenzen. Dies ist nötig, um die potentielle Wirkung der entwickelten AMP-Präparate auch im Feld nachzuweisen. Gleichzeitig wurde die Kompatibilität der AMP-Präparate mit den Feldböden und den Kulturen überprüft.

Im Projekt wurden zwei verschiedene Kulturen untersucht, der Körnermaisbau nach Bioland-Richtlinien, sowie der Kartoffelanbau unter konventioneller landwirtschaftlicher Praxis. In den Topfversuchen wurde zunächst Wissen aus der Grundlagenforschung genutzt, um die Kompatibilität der AMP-Präparate mit den unterschiedlich bewirtschafteten Böden zu überprüfen. Es ist bekannt, dass Mais generell eine hohe Kompatibilität zu AMP aufweist und in der Praxis, sowie unter kontrollierten Bedingungen eine gute und zuverlässige Mykorrhizasymbiose ausbildet. Deshalb wurde ein Kreuzversuch

durchgeführt, in dem Mais auf den Böden kultiviert wurde, auf denen später im Projekt die konventionelle Kartoffelkultur, sowie die Bioland-Maiskultur angelegt wurden. So wurde es möglich, zu untersuchen ob die Versuchsböden möglicherweise inhibierend oder fördernd für die Mykorrhizasymbiose wirken. Hierfür wurden mit Hilfe der Landwirte von 2 Standorten je Kultur Böden entnommen, die sich in ihrer Qualität (Bodenpunkte) unterschieden und im Topf mit Mais kultiviert. Nach 8 Wochen Topfkultur wurden die Pflanzen und Wurzelproben geerntet. Die Wurzelproben wurden mit einem Farbstoff inkubiert, der Chitin, also die Zellwandbestandteile der AMP einfärbt, und die Wurzelstücke nach ihrer Frequenz der Pilzkolonisierung quantifiziert (Abb.1).

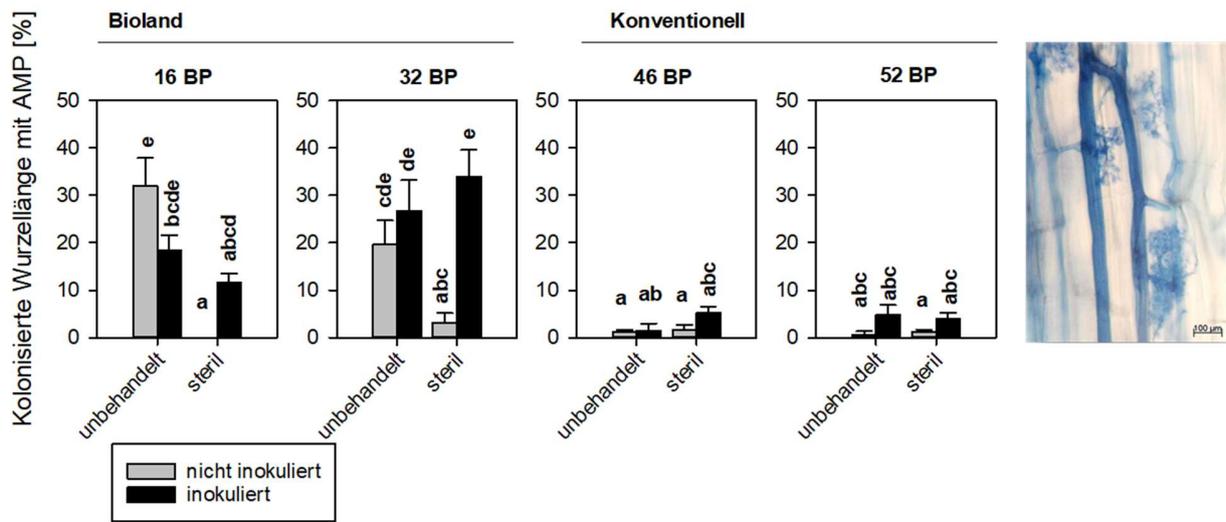
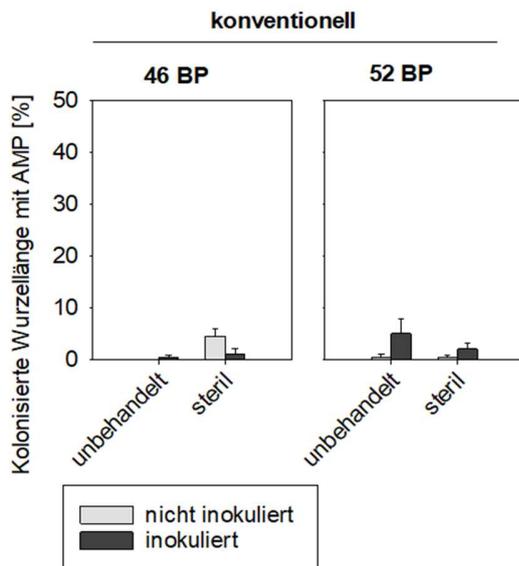


Abb.1: Die Frequenz der mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMP) besiedelten Wurzelstücken von 8 Wochen alten Maispflanzen, die entweder auf Böden kultiviert wurden, die nach Bioland-Richtlinien oder nach konventionellen Richtlinien bewirtschaftet wurden. Von zwei unterschiedlichen Standorten je Bewirtschaftungsform wurde Boden von Feldarealen mit unterschiedlichen Bodenpunkten (BP) entnommen und als Ausgangssubstrat für die Topfkultur verwendet. Je Boden wurden eine unbehandelte und eine zuvor sterilisierte (80°C, 24h) Behandlung betrachtet, letzteres um natürliche Mykorrhizen abzutöten. Die Hälfte der Töpfe wurde mit einem autoklavierten Mykorrhizapräparat (nicht inokuliert) behandelt, die andere Hälfte wurde mit dem unbehandelten Mykorrhizapräparat inokuliert (inokuliert). Eine dreifaktorielle Varianzanalyse zeigte, dass der Faktor Boden ( $P < 0,001$ ), die Hitzbehandlung ( $P = 0,002$ ), die Inokulierung ( $P < 0,001$ ), sowie die dreifache Interaktion ( $P = 0,011$ ) signifikanten Einfluss auf die Wurzelbesiedlung hatten. In Folge wurde der Post-hoc Tukey Test durchgeführt, um die Mittelwerte der einzelnen Behandlungen zu vergleichen. Gleiche Buchstaben zeigen nicht signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Behandlungen ( $n = 3-6$ ,  $\pm$ Standardfehler). Rechts stellt eine exemplarische Lichtmikroskopie die AMP (blau) in einer Wurzel dar. Jedes von je 50 Wurzelstücken (1cm Länge) pro Probe mit diesen Strukturen wurde als kolonisiert bewertet.

Die Untersuchungen der Wurzelkolonisierung durch AMP mit Standardmethoden zeigten, dass die nach Bioland-Richtlinien bewirtschafteten Böden eine deutlich erhöhte natürliche Mykorrhizasymbiose gewährleisteten, als die Böden aus konventioneller Bewirtschaftung (Abb. 1, unbehandelt x nicht inokuliert). Weiterhin führte auf den konventionell bewirtschafteten Böden auch eine zusätzliche Inokulierung mit AMP (inokuliert) nicht zu einer Erhöhung der Wurzelkolonisierung, die sich auch nicht von sterilen Böden aus der Bioland-Bewirtschaftung statistisch abgrenzen ließen. Generell erlaubten die konventionell bewirtschafteten Böden nur pflanzenphysiologisch vermutlich irrelevante und marginale Wurzelkolonisierungsraten. Innerhalb der Bioland-Böden zeigte sich, dass die Wurzelkolonisierung auf sterilisierten Böden durch die zusätzliche Inokulierung erhöhen ließ. Dies weist die Kompatibilität der Böden mit dem angewendeten AMP-Präparat nach. Der Bioland-Boden mit 32 Bodenpunkten zeigte generell die höchste Wurzelkolonisierung. Der Boden mit 32 Bodenpunkten hatte eine feinere Textur

(höherer Schluff- und Tonanteil) als der Boden mit 16 Bodenpunkten. Auf den Einfluss der Bodentextur auf die Mykorrhizierung wird später näher eingegangen.

In einem zweiten Topfversuch wurde überprüft, ob die Mykorrhiza-inhibierende Wirkung der konventionell bewirtschafteten Böden auf für die Kartoffelkultur gilt. Hierfür wurde ein Topfversuch mit Kartoffeln analog zum ersten Versuch mit Mais auf den konventionell-originären Böden durchgeführt (Abb. 2). Es bestätigte sich, dass auch die Kartoffelkultur auf den konventionell bewirtschafteten Böden



**Abb.2:** Die Frequenz der mit arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMP) besiedelten Wurzelstücken von 8 Wochen alten Kartoffelpflanzen, die entweder auf Böden kultiviert wurden, die mit unterschiedlichen Bodenpunkten (BP) entnommen und als Ausgangssubstrat für die Topfkultur verwendet. Je Boden wurden eine unbehandelte und eine zuvor sterilisierte (80°C, 24h) Behandlung betrachtet, letzteres um natürliche Mykorrhizen abzutöten. Die Hälfte der Töpfe wurde mit einem autoklavierten Mykorrhizapräparat (nicht inokuliert) behandelt, die andere Hälfte wurde mit dem unbehandelten Mykorrhizapräparat inokuliert (inokuliert). Eine dreifaktorielle Varianzanalyse zeigte, dass keine signifikanten Einflüsse auf die Wurzelbesiedlung vorlagen (n=4-5, ±Standardfehler).

keine nennenswerte Wurzelkolonisierung durch AMP erlaubte, weder durch natürliche, noch durch natürlich vorkommende AMP.

In beiden Topfversuchen wurden Kontrollvarianten auf zuvor hitzebehandelten Böden mitgeführt, die zum Ziel hatten einen molekularen Nachweis für die applizierten Mykorrhizapilze zu entwickeln. Beide Topfversuche zeigten, dass die Sterilisierung effektiv die natürlichen Mykorrhizen abtötete. Für den molekularen Nachweis der inokulierten AMP mittels quantitativer PCR wurde zunächst eine Sequenzierung der im Inokulum enthaltenen Pilzstämmen durch externe Partner durchgeführt und ‚Primer‘ entwickelt, die spezifisch an die cDNA der im Inokulum enthaltenen AMP Stämme binden. Es wurde die TaqMan Methode angewendet, die zusätzlich zur Inokulum-Spezifität eine quantitative Analyse der inokulierten AMPs durch Lichtsignale während der Amplifizierung in der PCR erlaubt. Hierfür wurden aus den Wurzeln des Topfversuchs DNA extrahiert, aufgereinigt und mit folgendem Primerset analysiert:

<b>Primer 2.1</b>	sense	TGTCTCCTGACCCTCTTAG	52.4°C	<b>255 Basenpaare</b>
<b>Pimer 2.2</b>	antisense	CCATATCCAAAGCTGGAAC	51.1°C	
<b>TaqMan 2.3</b>	sense	CGTACCTATGCCGCTAC	66.0°C	

Die Gegenüberstellung der molekularen Quantifizierung und der unter dem Lichtmikroskop bestimmten Wurzelkolonisierung durch AMP weist zum einen klar die Spezifität der entwickelten Methode für die AMPs im Inokulum nach und zum anderen, dass die molekulare Quantifizierung mit der Wurzelkolonisierung skaliert (Abb.3)

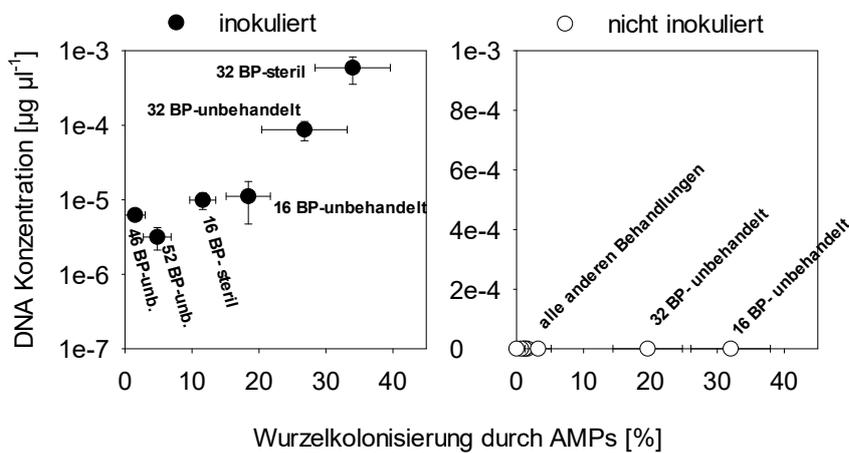


Abb.3: Die DNA Konzentration der Inokulum-spezifischen arbuskulären Mykorrhizapilze (AMP) in Wurzeln von Mais, die auf verschiedenen Böden kultiviert wurden (Legende analog zu Abb.1). Je Boden wurden eine unbehandelte und eine zuvor sterilisierte (80°C, 24h) Behandlung betrachtet, letzteres um natürliche Mykorrhizen abzutöten. Die Hälfte der Töpfe wurde mit einem autoklavierten Mykorrhizapräparat (nicht inokuliert) behandelt, die andere Hälfte wurde mit dem unbehandelten Mykorrhizapräparat inokuliert.

In den unbehandelten Böden, in denen höhere Wurzelkolonisierungsraten visuell beobachtet wurden, konnte keine Amplifizierung der pilzlichen DNA beobachtet werden (Abb.3 rechts). Konsistenter Weise wurde ein positiver Zusammenhang zwischen Wurzelkolonisierungsrate und amplifizierter DNA in den inokulierten Varianten beobachtet (Abb. 3, links). Schlussfolgernd kann die entwickelte Methode zuverlässig inokulierte AMP von natürlich in den Böden vorkommenden Pilzen abgrenzen und ist somit geeignet, in den Feldkulturen angewendet zu werden. Dies wurde in den Feldkulturen im Jahr 2020 und 2021 durchgeführt. Hierfür wurde eine Methode angewendet, um pilzliche Hyphen möglichst frei von anderer organischer Substanz aus dem Feldboden zu gewinnen (Abb.4). Es wurden Kompartimente im

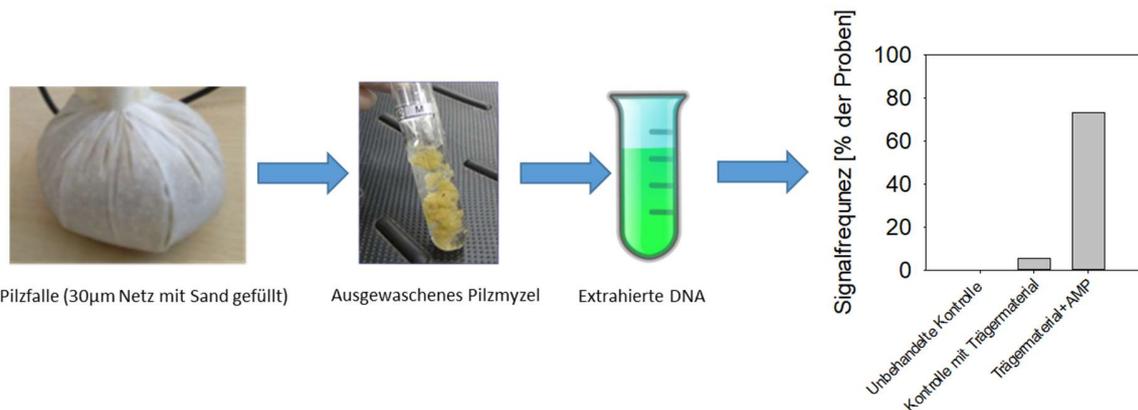


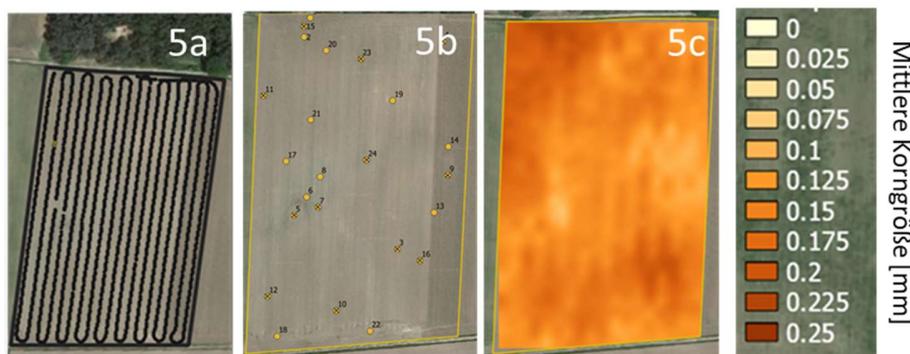
Abb. 4: Die mit Sand gefüllten Pilzfallen, umschlossen mit einem Wurzelausschlussnetz, wurden in 15 cm Tiefe im Feldboden innerhalb der Pflanzreihen im Abstand 50 m eingegraben und verblieben dort bis einige Tage vor der Ernte der Kultur. Aus den Pilzfallen wurde das eingewachsene Myzel ausgewaschen und gefriergetrocknet. Die extrahierte DNA wurde mittels quantitativer PCR hinsichtlich der Anwesenheit der inokulierten AMPs analysiert. In den Arealen, die mit AMP behandelt wurden gelang ein zuverlässiger Nachweis der inokulierten AMP. Die Signalfrequenz (rechts) zeigt den prozentualen Anteil der untersuchten Einzelproben aus dem Feldversuch des Jahres 2020, für die ein Nachweis der inokulierten AMP gelang.

Boden vergraben, die mit Sand gefüllt wurden, umschlossen von einem Nylonnetz mit 30 µm Öffnungsweite. Diese Netze schließen Wurzeleinwuchs aus und erlauben Pilzeinwuchs, der Sand frei von anderer organischer Substanz erlaubt eine saubere Auswaschung eingewachsener Pilze. Da AMP als

biotrophe Organismen zum Hyphenwachstum Kohlenstoff der Pflanze direkt aus der Wurzel beziehen müssen, bedeutet ein Nachweis der inokulierten AMPs in den Kompartimenten, dass sich eine funktionelle Symbiose gebildet haben muss.

Im Feldversuch wurden drei Behandlungen in einer randomisierten Streifenanlage mit vier biologischen Replikaten und bis zu 14 Unterproben je Replik angelegt. Eine unbehandelte Kontrolle, eine Kontroll-Inokulierung mit dem reinen Trägermaterial des Inokulums, sowie die vollständige Behandlung mit dem Mykorrhizapräparat wurden angelegt und hinsichtlich des Anwachsenerfolges der inokulierten AMP untersucht. Im Jahr 2020 konnte eine erfolgreiche Etablierung der applizierten AMP mit dieser Methode nachgewiesen werden. Am Ende der Kultur zeigte sich, dass in 73% der 56 Unterproben auf dem inokulierten Areal die AMP des Inokulums in den Pilzfallen nachgewiesen werden konnten (Abb. 4 rechts). In 3 von 54 Fällen konnte auch ein positiver Befund für Proben aus Arealen, die mit dem reinen Trägermaterial inokuliert wurden, beobachtet werden. Generell zeigte sich ein konsistentes Bild mit positivem Nachweis der inokulierten AMP auf den Feldarealen, die tatsächlich mit AMP inokuliert wurden. Im Jahr 2021 wurde dies wiederholt, hier jedoch konnte kein erfolgreicher Nachweis der inokulierten AMP in den Pilzfallen gezeigt werden (nicht gezeigt). Die Ursachen dafür, bedürfen weiterer Forschung. Zusammenfassend kann geschlossen werden, dass ein funktionales System entwickelt wurde, das den Anwachsenerfolg applizierter AMP im Feld nachweisen kann.

**(II) Erfassung der räumlich heterogenen Bodenbedingungen im Feld** Um eine räumliche Ertragsstabilisierung durch den Einsatz von AMP in der Feldkultur nachweisen zu können, muss die räumliche Heterogenität der Bodenbedingungen bekannt sein. Die Hypothese war, dass eingesetzte AMP besonders in Arealen helfen, in denen Pflanzen weniger gut wachsen, weil sie Mangelbedingungen vorfinden und durch zusätzliche Applizierung von AMP ihre Ressourcennutzungseffizienz an diesen Mangelstandorten steigern können. Da Wasser-, sowie Nährstoffhaushalt von gleich behandelten Böden maßgeblich durch deren Textur (Sand-, Schluff- und Tongehalt) bestimmt wird, wurde die Korngrößenzusammensetzung des Bodens auf den Feldarealen von Interesse mit Hilfe des *Geophilus electricus* Systems hoch aufgelöst kartiert. *Geophilus electricus* basiert auf einem Multi-Sensor System, das gleichzeitig den elektrischen Widerstand des Bodens bis 150 cm Tiefe und die natürliche Gammaaktivität durch Abfahren des Feldschlages (Abb. 5a) misst und GPS-basiert Messdaten mit dem Ort



verknüpft. Da der elektrische Widerstand maßgeblich von der Bodenfeuchte, der Lagerungsdichte und der Korngröße abhängt, aber die natürliche Gammaaktivität nur durch die in der

Tonfraktion enthaltenen Elemente Thorium, Uran und Kalium bestimmt wird, kann aus beiden Messvariablen mit Hilfe eines statistischen Modells die Textur des Bodens zuverlässig kartiert werden. Da vor allem die Gammaaktivität vom Ausgangsgestein abhängig und daher regional unterschiedlich ist, wurden Bodenproben an 24 Referenzpunkten je Schlag genommen (Abb. 5b) und hinsichtlich ihrer Korngrößenfraktion im Labor analysiert, um das statistische Modell zur Erstellung der Texturkarten als

kontinuierliche Variable (Abb. 5c) zu kalibrieren. Es wurden an diesen Bodenproben zusätzlich Wasserretentionsmessungen durchgeführt, um räumlich hoch aufgelöste Feldkapazitätskarten zu erstellen. Abb.6 zeigt die Versuchsflächen des nach Bioland-Richtlinien arbeitenden Partnerbetriebs für die Maiskultur, die innerhalb derselben Fruchtfolge im Projekt im Jahr 2020 und 2021 beprobt wurden,



Abb.6: Versuchsflächen

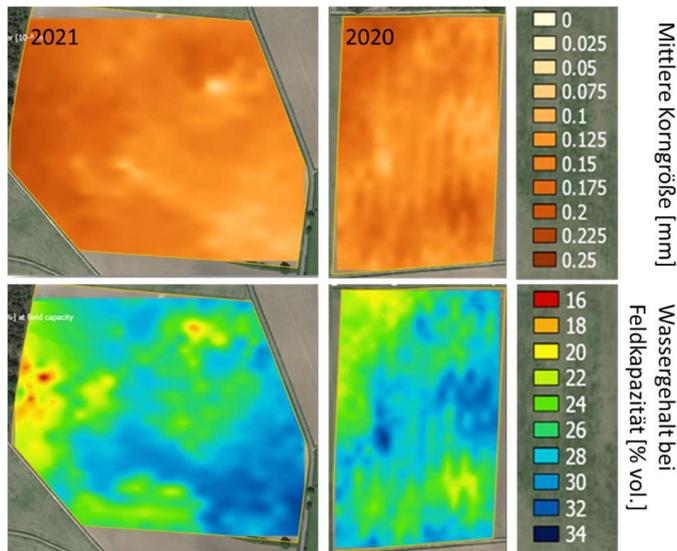


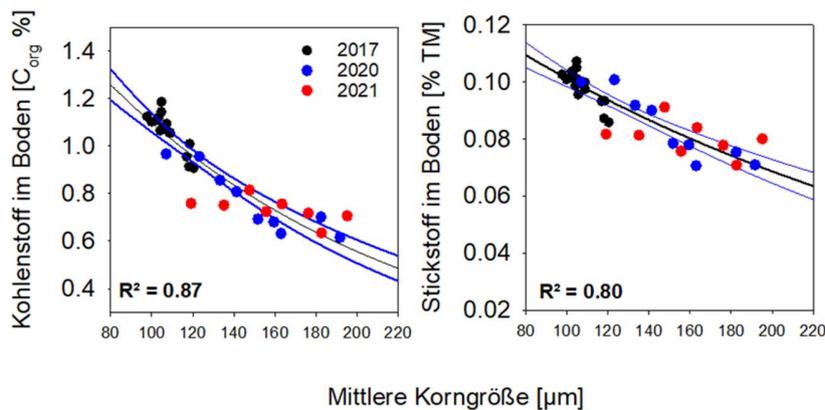
Abb. 7: Die räumliche Verteilung der mittleren Korngröße (oben) und der Wassergehalte bei Feldkapazität (-6kPa, unten) für die Versuchsschläge im Jahr 2020 und 2021 für die Maiskultur nach Bioland.

sowie eine Referenz-Beprobung aus dem Jahr 2017. Für die gelb umrandeten Areale wurden die Bodentextur und Feldkapazitätskarten erstellt (Abb.7). Die kartierten Schläge zeigen deutlich den Zusammenhang zwischen feinerer Bodenkörnung und der Wasserhaltefähigkeit des Bodens, sowie die Heterogenität der Bodenbedingungen innerhalb der einzelnen Schläge. Die räumliche Heterogenität im Versuchsfeld zu kennen ist für das Projekt von entscheidender Bedeutung, da die Applizierung der AMP in den Arbeitsablauf der Aussaat integriert werden sollte. Dies ermöglicht eine Streifenanlage des Versuchs in Arbeitsrichtung, die jedoch nur eine Randomisierung der biologischen Replikate quer zur Arbeitsrichtung erlaubt. Durch die Kartierung kann aber im Nachgang sinnvoll eingeschätzt werden, inwieweit die Randomisierung in eine Richtung eine repräsentative Probenverteilung über alle Varianten gewährleistet.

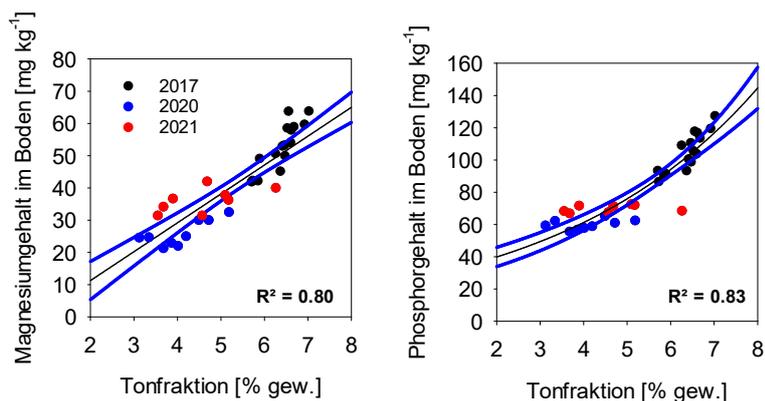
Die Vorhersagekraft der Texturkartierung für Bodennährstoffgehalte wurde überprüft, in dem während der laufenden Pflanzenversuche bei Vollreife der Pflanzen, Bodenproben an den Pflanzenstandorten entnommen und hinsichtlich ihrer Nährstoffgehalte untersucht wurden. Dies

geschah direkt in der Versuchsanlage, also an anderen Standorten als die Referenz-Beprobung für die Bodentextur, und dient so zur Validierung der Kartierung.

Eine Korrelationsanalyse zeigt, dass die Texturkarten exzellenten Aufschluss über die Bodennährstoffgehalte, sowie die organische Substanz im Boden geben können, die über Jahre hinweg für Schläge in der gleichen Fruchtfolge gelten kann. Abb. 8 verdeutlicht dies. Es gibt einen klaren positiven Zusammenhang zwischen feinerer Textur und dem organischen Kohlenstoff, sowie dem



**Abb. 8:** Die Beziehung zwischen der mittleren Korngröße und den dem organischen Kohlenstoff (links), sowie dem Gesamtstickstoffgehalt der Böden (rechts) auf nach Bioland-Richtlinien bewirtschafteten Schlägen mit Körnermais. Jeder Datenpunkt repräsentiert einen Mittelwert von mehreren Unterproben, die nach der Korngröße am Standort gruppiert wurden. Die Korngrößenbreite für einen Mittelwert betrug ca. 10  $\mu\text{m}$ . Die Daten für die Versuche aus 2020, 2021 und die eines Referenzdatensatzes aus 2017 wurden korreliert (schwarze Linie: Regression, blaue Linien: 95% Konfidenzintervalle).



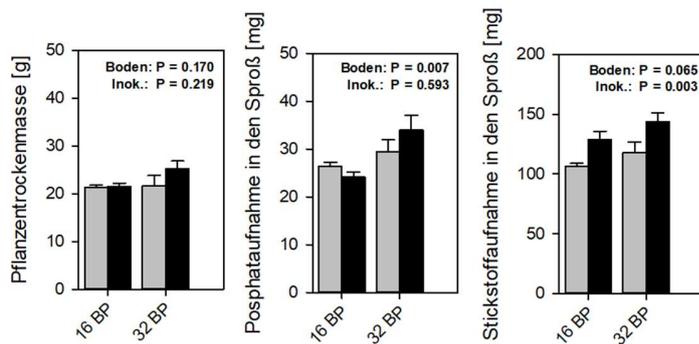
**Abb. 9:** Die Beziehung zwischen der Bodentonfraktion und dem Magnesiumgehalt (links), sowie dem Phosphorgehalt der Böden (rechts) auf nach Bioland-Richtlinien bewirtschafteten Schlägen mit Körnermais. Jeder Datenpunkt repräsentiert einen Mittelwert von mehreren Unterproben, die nach der Korngröße am Standort gruppiert wurden. Die Korngrößenbreite für einen Mittelwert betrug ca. 10  $\mu\text{m}$ . Die Daten für die Versuche aus 2020, 2021 und die eines Referenzdatensatzes aus 2017 wurden korreliert (schwarze Linie: Regression, blaue Linien: 95% Konfidenzintervalle).

Gesamtstickstoffgehalt des Bodens, der zur Probenahme als hauptsächlich organischer Stickstoff interpretiert werden darf. Für pflanzenverfügbare Bodenmagnesium- und Bodenphosphorgehalte gilt eine ähnlich gute Vorhersagekraft der Korngröße (Abb. 9). Die höheren Gehalte an Nährstoffen in feiner texturierten Böden liegen einer höheren Tonfraktion zugrunde (wie in Abb.9 dargestellt), da die Tonfraktion eine hohe innere und geladene Oberfläche besitzt, an die Nährstoffe vermehrt binden.

Es konnte somit gezeigt werden, dass die Kartierung der Bodentextur valide Aufschluss über die Nährstoffversorgung und Wasserhaltefähigkeit der Feldböden gibt und sinnvoll als Kovariante am Standort für Inokulierungsversuche im Feld herangezogen werden kann.

### (III) Bilanzierung des Nutzens applizierter AMP für Pflanzennährstoffaufnahme und räumliche Ertragsstabilität im Feld

Die vorgestellten Technologien unter (I) und (II) wurden im Folgenden genutzt, um die Wirkung applizierter AMP im Feld auf das Pflanzenwachstum zu untersuchen. Zunächst aber wurde in den in (I) beschriebenen Topfversuchen untersucht, ob die AMP-Präparate zur Nährstoffnutzungseffizienz der Pflanzen beitragen.



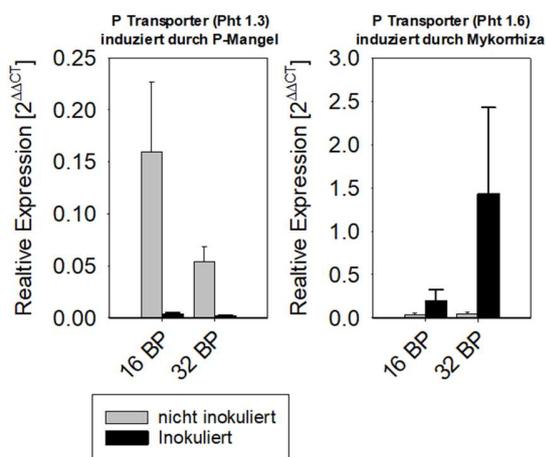
**Abb. 10:** Die Pflanzentrockenmasse (links), die Phosphataufnahme (Mitte) und die Stickstoffaufnahme (rechts) 8 Wochen alter Maispflanzen, die auf unbehandelten Feldböden von 2 Standorten mit je 16 und 32 Bodenpunkten (BP) im Topf angezogen wurden und entweder mit einem autoklavierten (grau) oder einem unbehandelten Mykorrhiza-Präparat (schwarz) inokuliert wurden. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse zeigte in keinem Fall eine signifikante Interaktion ( $P > 0.05$ ). Die Haupteffekte der Behandlungen Boden und Inokulierung (Inok.) sind dargestellt ( $n = 5$ ,  $\pm$  Standardfehler).

Stickstofflimitierung der Pflanzen wirksam abmildern kann. Die relative Stickstofflimitierung der Pflanzen ist konsistent mit den beobachteten Bodenstickstoff- und Phosphorgehalten in den Feldböden, die auch für die Topfversuche verwendet wurden (siehe Abb. 8 und 9). Ein vergleichsweise hoher Phosphorgehalt in Böden, die unter Bioland-Richtlinien bewirtschaftet wurden, ist ein häufiges Phänomen, da es schwierig ist phosphorarme aber stickstoffreiche Dünger in organischer Form immer so anzuwenden, um den Pflanzenbedarf beider Nährstoffe gleichgewichtig zu bedienen.

Es ist zusätzlich möglich anhand molekularer Marker die Funktionalität der Mykorrhizasymbiose zu überprüfen. Da bekannt ist, dass das Pflanzengenom für Gene kodiert, die spezifisch zur Ausprägung kommen, wenn AMP die Wurzelzellen kolonisieren, kann mit einer quantitativen PCR überprüft werden, ob die Wurzel-Pilz-Beziehung funktional für den partnerübergreifenden Nährstoffaustausch ausgebildet wurde. Für Mais ist die Gensequenz bekannt, die für Phosphortransporter kodiert, die nur exprimiert werden, wenn AMP die Wurzelzellen besiedeln und den Phosphoraustausch zwischen Pilz und Pflanze gewährleisten. Die Expression dieser Gene muss nicht im direkten Zusammenhang mit einer verbesserten Pflanzenphosphoraufnahme stehen, da der Aufnahmeweg von Phosphor über AMP auch Den über die Wurzel ersetzen kann. Die Expression der AMP-spezifischen Phosphattransporter indiziert aber eine funktionale Symbiose. Mit dieser molekularbiologischen Studie wurde nun überprüft, ob die Applizierung der AMP-Präparate die Austauschfunktionalität der Wurzel-Pilz-Beziehung beeinflusste.

Der Phosphattransporter Pht1.6 von Mais exprimiert spezifisch für Mykorrhiza. Dessen RNA Akkumulation in Maiswurzeln wurde relativ zu einem geeigneten Referenzgen mittels quantitativer PCR bestimmt. Als Vergleich wurde der Phosphattransporter Pht1.3 in gleicher Weise untersucht, für den bekannt ist, dass seine Expression durch Phosphatmangel induziert wird. Es konnte beobachtet werden, dass die Applizierung von lebenden AMP in natürliche Feldböden die Expression der phosphatmangelinduzierten Phosphattransporter vergleichsweise reduzierte und gleichzeitig die Expression der AMP-spezifischen Phosphattransporter in Maiswurzeln erhöhte (Abb. 11). Dies legt nahe dass, obgleich ähnlicher Wurzelkolonisierungsraten in unbehandelten Böden (siehe Abb.1 unbehandelte Behandlungen), eine

Wenn Mais auf unbehandelten Böden vom Feldversuchsstandort im Topf angezogen wurde, zeigte sich zwar dass die Maispflanzen durch Inokulierung mit zusätzlichen AMP nicht besser wuchsen, aber die Nährstoffaufnahme in den Spross verbessert werden konnte (Abb.10). Die Stickstoffkonzentration in der Biomasse zeigte sich nach Inokulierung mit AMP erhöht. Ein näherer Blick auf die Phosphor- und Stickstoffgehalte zeigt, dass das N/P Verhältnis in der Pflanzenbiomasse 15 unterschreitet, was als Indikativ für eine relative Stickstofflimitierung der Pflanzen interpretiert werden kann. Es ist daher zu vermuten, dass die zusätzliche Inokulierung mit AMP-Präparaten die



**Abb. 11:** Die relative Expression von phosphormangelinduzierten (rechts) und Mykorrhiza-induzierten Phosphattransportern (links) in den Wurzeln 8 Wochen alter Maispflanzen, die entweder auf unbehandeltem Feldeboden mit 16 oder 32 Bodenpunkten (BP) kultiviert wurden und mit einem autoklaviertem (grau, nicht inokuliert) oder einem unbehandeltem AMP-Präparat inokuliert wurden (n = 5, ± Standardfehler).

Inokulierung mit dem lebenden Mykorrhiza-Präparat zu einer Steigerung der Nährstoffaustauschkapazität über den Mykorrhiza-Weg hervorgerufen werden kann. Die Inokulierung bewirkte eine vitalere Nährstoffaustauschprägung über den Mykorrhiza-Weg, als es die natürlich vorkommende AMP-Symbiose tat. Dass dies nicht zu einer erhöhten Phosphoraufnahme der Pflanzen führte (siehe Abb. 10) mag darin begründet liegen, dass alle Pflanzen ihren Nährstoffbedarf aus dem phosphorreichen Feldeboden in gleicherweise decken konnten, unabhängig vom Aufnahmeweg. Der Befund erklärt aber womöglich die erhöhte Stickstoffaufnahme der inokulierten Maispflanzen durch eine funktional aktivere Symbiose in den stickstofflimitierenden Böden. Letzteres bleibt aber spekulativ, da der Aufnahmeweg von Stickstoff über den Mykorrhiza-Weg auf molekularer Ebene nicht in gleicherweise aufgeklärt ist, wie Der für Phosphor und daher die Technologien zur analogen

Überprüfung fehlen.

Für den Kartoffelversuch im Topf auf den Feldeböden, entnommen von zwei unterschiedlichen Arealen die sich in den Bodenpunkten unterscheiden, wurde ein analoger Versuch durchgeführt. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse zeigte, dass weder der Boden (P = 0.187), noch die Inokulierung (P = 0.497) signifikant das Kartoffelwachstum beeinflussten. Auch bestand keine signifikante Interaktion zwischen den Faktoren Boden und Inokulierung (P = 0.064). Dass die Inokulierung keinen Einfluss auf das Kartoffelwachstum hatte ist konsistent mit dem Befund zur Wurzelkolonisierung (Abb.2), die in beiden Inokulierungsvarianten keine physiologisch relevante Wurzel-Pilz Beziehung erlaubten. Auch die unterschiedlichen Böden mit 46 und 52 Bodenpunkten waren für das Pflanzenwachstum statistisch nicht entscheidend, auch wenn die Kartoffeln zum Wachstum tendenziell den vermutlich leichteren Boden mit 46 Bodenpunkten (4.6 g Trockenmasse je Pflanze ± 0.792 Standardfehler) gegenüber dem Boden mit 52 Bodenpunkten (3.1 g Trockenmasse ± 0.769 Standardfehler) bevorzugten. Da diese Befunde keine erfolgversprechenden Ergebnisse für die Zielerreichung des Projektes darstellten, wurde von weiterführenden Analysen abgesehen.

Auf Basis der Topfversuche und der entwickelten Technologien wurden im Jahr 2020 und im Folgejahr 2021 Feldversuche angelegt, die die Wirksamkeit applizierter AMP in den Feldkulturen untersuchten. Auf je einem Schlag pro Jahr und Kultur wurde eine randomisierte Streifenanlage mit 3 verschiedenen Behandlungen und je 4 Wiederholungen angelegt (Abb. 12, exemplarisch für den Maisstandort). Es wurden eine unbehandelte Kontrolle, eine Kontrollinokulierung mit dem reinen Trägermaterial (Blähton), sowie eine Inokulierung mit AMP-Präparat angelegt. Die Inokulierung fand mit der Aussaat für Mais bzw. mit der Pflanzung der Kartoffel in einem Arbeitsgang statt. Innerhalb der einzelnen Behandlungen wurden in gleichen Abständen über die gesamte Streifenlänge mehrere Unterproben für die biologischen

Replikate genommen und vor der letzten mechanischen Bodenbearbeitung Pilzfallen in 15 cm Tiefe in den Oberboden der Maisversuche eingebracht, die dort bis zur Ernte ca. 3 Monate verblieben.

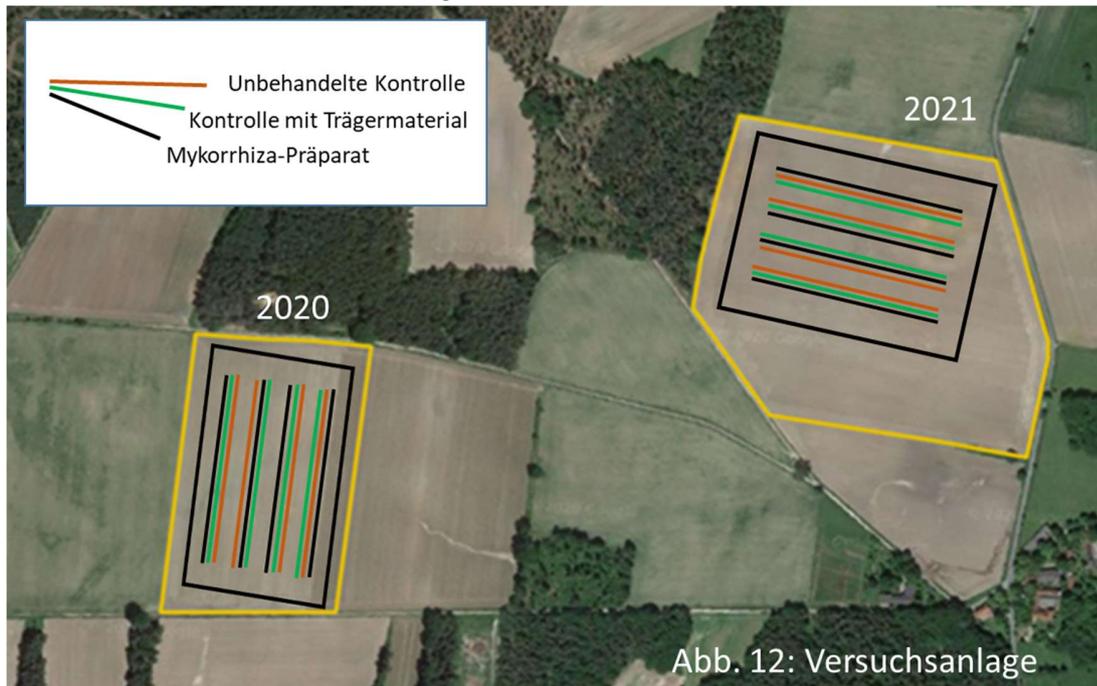


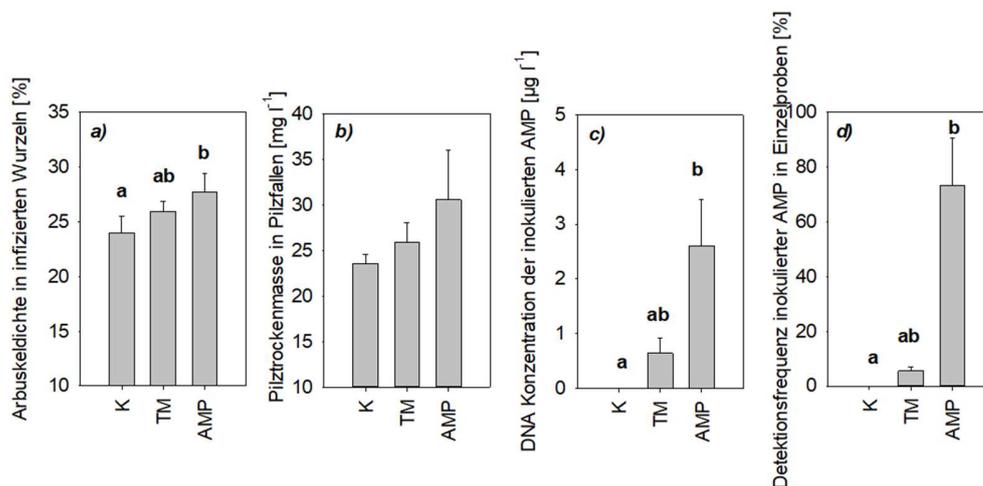
Abb. 12: Versuchsanlage

Es konnte zunächst durch statistische Analysen festgestellt werden, dass nicht in jedem Falle in der Maiskultur die Randomisierung der Streifen zu einer gleichgewichtigen Verteilung der Bodentextur und Nährstoffgehalte über alle Behandlungen führte. Dies wurde von uns in einer Streifenanlage erwartet, weshalb die Kartierung der Bodenbedingungen benötigt wurde. Aufgrund dessen wurde die Bodentextur an den Beprobungskoordinaten als Kovariate in der Varianzanalyse mitgeführt (Tab. 1).

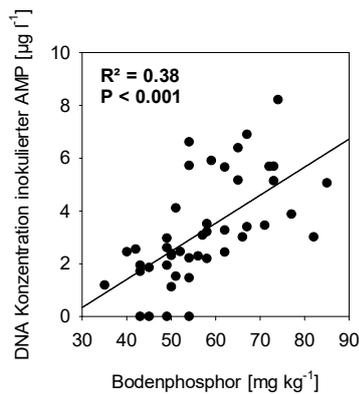
**Tab.1:** Die Tabelle zeigt die statischen Signifikanzen (P-Werte) einer einfaktoriellen Kovarianzanalyse für Pflanzenbauliche Variablen und Mykorrhizierung in der Maiskultur nach Bioland-Richtlinien im Jahr 2020. Der Faktor Inokulierung enthielt die unbehandelte Kontrolle, die Kontrollvariante mit Trägermaterial, sowie die Behandlung mit dem Mykorrhiza-Präparat (N = 4). Jede Wiederholung stellt einen Mittelwert aus 12-14 Unterproben dar. Die mittlere Korngröße je Wiederholung wurde als Kovariate verwendet. Die P-Werte, die das Signifikanzniveau von 0.05 unterschritten, sind hervorgehoben.

Variable	Inokulierung (I)	Mittlere Korngröße (MK)	Interaktion (I x MK)
<b>Pflanze</b>			
Kolbentrockengewicht [g je Pflanze]	0.794	<b>0.019</b>	0.768
Stammrockengewicht [g je Pflanze]	0.598	<b>0.020</b>	0.548
Blattrockengewicht [g je Pflanze]	0.395	0.102	0.416
Blattphosphatgehalt [mg g <sup>-1</sup> Trockenmasse]	0.301	<b>0.030</b>	0.291
Blattstickstoffgehalt [mg g <sup>-1</sup> Trockenmasse]	0.338	0.404	0.310
Blattkohlenstoffgehalt [mg g <sup>-1</sup> Trockenmasse]	0.707	<b>0.035</b>	0.734
Phosphoraufnahme in den Spross [g je Pflanze]	0.146	0.937	0.149
Stickstoffaufnahme in den Spross [g je Pflanze]	0.539	<b>0.023</b>	0.493
Ertrag [t je ha]	0.815	<b>0.006</b>	0.824
<b>Mykorrhiza</b>			
Infektionsfrequenz der Wurzeln [%]	0.816	0.447	0.869
Mykorrhizaintensität im Wurzelsystem [%]	0.321	0.124	0.338
Intensität in infizierten Wurzelstücken [%]	0.266	0.120	0.273
Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem [%]	0.110	<b>0.018</b>	0.114
Arbuskeldichte in infizierten Wurzelstücken [%]	<b>0.018</b>	<b>0.042</b>	<b>0.018</b>
Hyphebiomasse in Pilzfallen [mg Trockenmasse l <sup>-1</sup> ]	0.497	0.934	0.511

Die Studie im Jahr 2020 zeigte, dass die Inokulierung mit Mykorrhiza-Präparaten keinen signifikanten Einfluss auf die pflanzenbaulich relevanten Größen hatte, letztere aber oft im Zusammenhang mit den örtlichen Bodenbedingungen (Korngröße) standen (Tab.1). Gleiches galt die Arbuskeldichte, also den Austauschorganen der AMP, die sie klar von anderen bodenbürtigen Pilzen in den Wurzeln abgrenzen. Interessanterweise führte eine Inokulierung mit dem AMP-Präparat zu einer signifikanten Erhöhung der Arbuskelhäufigkeit in den Wurzelstücken, in denen AMP detektiert wurden. Dies weist auf eine stärker ausgebildete Wurzel-Pilz-Beziehung in Gegenwart der inokulierten AMP hin. Auch die Arbuskeldichte, stand im Zusammenhang mit der Bodentextur. Eine Gegenüberstellung der Haupteffekte der Inokulierung legt nahe, dass eine erhöhte Arbuskeldichte in infizierten Wurzeln mit der geernteten pilzlichen Biomasse in den Pilzfallen und der darin detektierten Menge an Pilzen aus dem AMP-Präparat in Zusammenhang steht (Abb. 13). Abb. 13a veranschaulicht, dass die Ausbringung des Trägermaterials bereits eine gewisse Wirkung auf die Arbuskeldichte in Wurzeln zeigte. Womöglich stellt der Blähton ein Refugium für natürlich vorkommende AMP dar, der sich z.B. unter Trockenheit womöglich günstig auf die Überlebenschancen der AMP auswirkt. Die Applizierung von AMP mit dem Trägermaterial zeigte eine additive Wirkung auf die Ausbildung der Arbuskel und bewirkte statistisch signifikant höhere Arbuskeldichten als in den unbehandelten Kontrollen. Die Pilztrockenmasse, die aus den Pilzfallen geerntet werden konnte zeigt einen ähnlichen Trend, wie die Ausbildung der Arbuskeln in Wurzeln (Abb. 13b). Da diese Biomasse sämtlich bodenbürtige Pilze enthalten kann, wurde die molekulare Quantifizierung der inokulierten AMP als Methode (siehe (I)) auf die Pilzbiomasse angewendet (Abb. 13c, d). Die inokulierten AMP-Präparate konnten vor allem in Pilzfallen von Arealen nachgewiesen werden, auf denen sie auch appliziert wurden, quantitativ (Abb. 13c) wie qualitativ (Abb. 13d). Einige wenige Nachweise der applizierten AMP in Arealen die nur mit Trägermaterial inokuliert wurden, sind womöglich auf Verunreinigungen des Trägermaterials zurückzuführen oder darauf, dass die Maschinerie mit der Saatgut und Inokulum gleichzeitig ausgebracht wurden, nach Wechsel der Inokula nicht vollständig rein von applizierten AMP waren.



**Abb. 13:** Die Arbuskeldichte in infizierten Wurzelstücken (a), die Pilztrockenmasse in Pilzfallen (b), die DNA Konzentration inokulierter AMP in der Pilztrockenmasse aus den Pilzfallen (c), sowie die Detektionsfrequenz inokulierter AMP in den Unterproben der Pilzbiomasse aus den Pilzfallen (d) für die unbehandelten Kontrollen (K), die Kontrollinokulierung mit reinem Trägermaterial (TM) und die Behandlung mit AMP in der Feldkultur für Mais nach Bioland-Richtlinien im Jahr 2020. (n = 4, ± Standardfehler, Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede der Haupteffekte, ANOVA, Tukey-Test).



**Abb. 14: Die Abhängigkeit der DNA Konzentration applizierter AMP in pilzlicher Trockemasse vom Bodenphosphorgehalt aller positiven Unterproben am Standort in der Maiskultur 2020. Die lineare Regression war signifikant.**

Mais nicht in gleicher Weise wie im Topfversuch nachgewiesen werden. Aufgrund dessen war es nicht wie geplant möglich, im Folgejahr eine teilflächenspezifische Applizierung von AMP auf einem anderen Schlag vorzunehmen, da keine Hinweise auf eine pflanzenbaulich relevante Wirkung der applizierten AMP gefunden wurden. Deshalb wurde der Inokulierungsversuch 2021 auf einem durch noch heterogenere Bodenbedingungen (siehe Abb. 7) gekennzeichneten Schlag wiederholt, um mehr Informationen zu sammeln.

Im Jahr 2021 konnte weder der Zusammenhang zwischen der Textur und der Pflanzenbaulichen Variablen, noch eine erfolgreiche Etablierung applizierter AMP bestätigt werden (Tab. 2). Dies kann verschiedenen Ursachen haben und bedarf weitere Forschung. Einerseits ist möglich, dass die Witterungsbedingungen an den Standort sich im Jahr 2020 und 2021 stark unterschieden, das Jahr 2020 war deutlich trockener und wärmer als 2021. Im Landkreis Lüchow-Danneberg, wo die Versuche stattfanden gab der DWD für 2020 eine mittlere Jahrestemperatur von 12,7 °C und eine Niederschlagssumme von 335 l/m<sup>2</sup> an, für 2021 9,7 °C und 467 l/m<sup>2</sup> respektive. Diese Bedingungen führten auch zu vergleichsweise besserem Pflanzenwachstum in 2021 (Abb. 15a) unter denen die Variabilität der Bodenkörnung geringere Bedeutung für Wasser- und Nährstofflimitierung der Pflanzen hatte. Eine andere Ursache für den ausbleibenden Zusammenhang zwischen pflanzenbaulichen Variablen und der Bodentextur in 2021 könnte der verringerte Stichprobenumfang in 2021 sein. Wildschäden in der Versuchsfläche reduzierten die Möglichkeiten der sinnvollen Beprobung von Pflanzen und das Wiederauffinden von vorher eingebrachten Pilzfallen, was zu einer Reduzierung des Stichprobenumfangs und zu einer höheren Variabilität im Datensatz führte. Warum kein Nachweis, der applizierten AMP in 2021 gelang kann ebenfalls verschiedene Ursachen haben und bedarf ebenfalls weiterer Forschung. Ungünstige Witterungsbedingungen zur Ausbringung könnten zu einer schlechteren Etablierung im Feld geführt haben. Die pflanzenbaulich günstigeren Bedingungen in 2021 könnten für applizierte AMP auch einen geringeren Konkurrenzvorteil gegenüber natürlich vorkommenden und angepassten AMP bewirkt haben und die Etablierung der AMP zwar stattfand sich aber unter der Nachweisgrenze der angewandten Methodik bewegte. Es kann im Projekt nicht abschließend geklärt werden, ob applizierte AMP in 2021 nicht anwuchsen oder ob deren Etablierung unter der Nachweisgrenze lag.

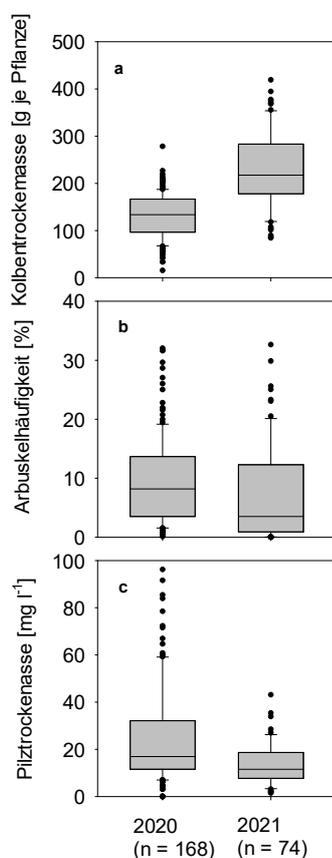
Ein näherer Blick auf die Rohdaten zeigt, dass ein positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration inokulierter AMP in der Pilztrockemasse aus den Pilzfallen und dem Bodenphosphorgehalt am Standort bestand (Abb. 14). Das relative Vorkommen inokulierter AMP stieg mit dem Bodenphosphorgehalt der Böden. Dies ist ein vielversprechender Befund für zukünftige Anwendung der Mykorrhizen, da in der Regel eine Abnahme der Mykorrhizierung mit steigender Phosphorversorgung der Böden beobachtet wird.

Die Befunde aus diesem Feldversuch mit Mais sind in hervorragender Übereinstimmung mit den Beobachtungen im Topfversuch (siehe Abb. 3) und stellen einen wichtigen Fortschritt dar. Sie zeigen, dass applizierte Mykorrhiza-Präparate erfolgreich im Feldanbau etablieren können und gemeinsam mit einer stärker ausgebildeten Wurzelsymbiose auftreten.

Die gewünschten positiven Effekte der inokulierten AMP auf die Nährstoffaufnahme der Pflanzen konnten im Feldversuch 2020 mit

**Tab. 2:** Die Tabelle zeigt die statischen Signifikanzen (P-Werte) einer einfaktoriellen Kovarianzanalyse für Pflanzenbauliche Variablen und Mykorrhizierung in der Maiskultur nach Bioland-Richtlinien im Jahr 2021. Der Faktor Inokulierung enthielt die unbehandelte Kontrolle, die Kontrollvariante mit Trägermaterial, sowie die Behandlung mit dem Mykorrhiza-Präparat (N = 4). Jede Wiederholung stellt einen Mittelwert aus 4-7 Unterproben dar. Die mittlere Korngröße je Wiederholung wurde als Kovariate verwendet. Die P-Werte, die das Signifikanzniveau von 0.05 unterschritten, sind hervorgehoben.

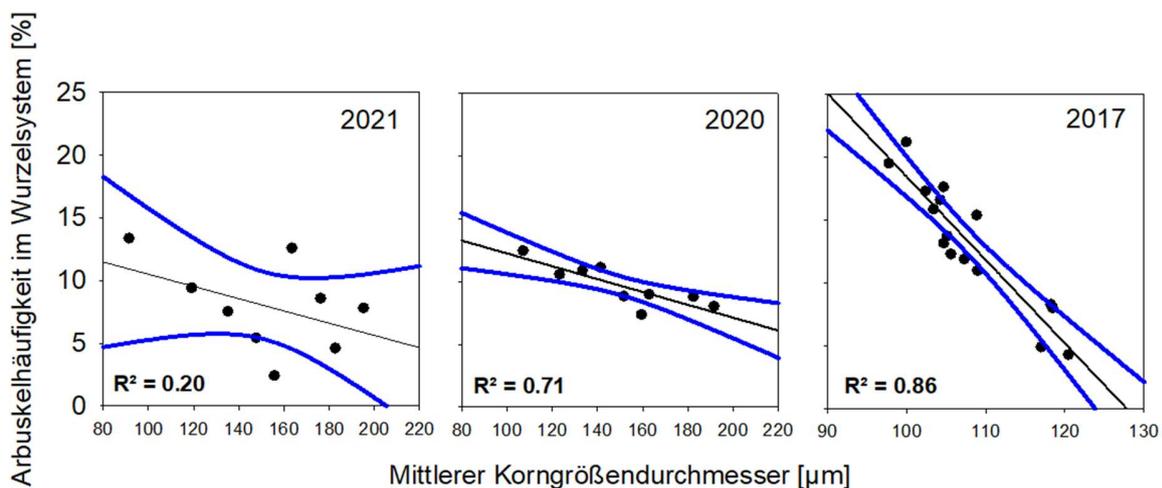
Variable	Inokulierung (I)	Mittlere Korngröße (MK)	Interaktion (I x MK)
<b>Pflanze</b>			
Kolbentrockengewicht [g je Pflanze]	0.293	0.705	0.292
Stammrockengewicht [g je Pflanze]	0.577	0.579	0.596
Blattrockengewicht [g je Pflanze]	0.772	0.804	0.777
Blattphosphatgehalt [ $\text{mg g}^{-1}$ Trockenmasse]	0.829	0.077	0.846
Blattstickstoffgehalt [ $\text{mg g}^{-1}$ Trockenmasse]	0.575	0.361	0.610
Blattkohlenstoffgehalt [ $\text{mg g}^{-1}$ Trockenmasse]	0.329	0.055	0.391
Phosphoraufnahme in den Spross [g je Pflanze]	0.868	0.438	0.877
Stickstoffaufnahme in den Spross [g je Pflanze]	0.467	0.347	0.484
Rohprotein im Korn [%]	0.247	0.605	0.262
Stärke im Korn [%]	0.418	0.610	0.680
Beständige Stärke im Korn [%]	0.467	0.724	0.731
Lysin im Korn [%]	0.919	0.816	0.916
Methionin und Cystin [%]	0.820	0.680	0.807
<b>Mykorrhiza</b>			
Infektionsfrequenz der Wurzeln [%]	0.407	0.889	0.403
Mykorrhizaintensität im Wurzelsystem [%]	0.574	0.949	0.593
Intensität in infizierten Wurzelstücken [%]	0.422	0.567	0.420
Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem [%]	0.370	0.905	0.380
Arbuskeldichte in infizierten Wurzelstücken [%]	0.435	0.965	0.448
Hyphenbiomasse in Pilzfallen [ $\text{mg Trockenmasse l}^{-1}$ ]	0.446	0.810	0.505



**Abb. 15:** Die Kolbentrockenmasse je Pflanze (a), die Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem (b) und die Pilztrockenmasse in den vergrabenen Pilzfallen aller Unterproben der Jahre 2020 und 2021 im Feldversuch mit Mais. Die horizontale Linie in der grauen Fläche zeigt den Median, die grau hinterlegten Boxen überstreichen das Perzentil von 25 – 75 % der Daten, die Fehlerbalken das 10 - 90 % Perzentil der Daten, Einzelpunkte die Ausreißer.

Ein näherer Blick auf Die Rohdaten zeigt die Unterschiede zwischen den Jahren. Im trockeneren Jahr 2020 konnte eine deutlich verringerte Kolbentrockenmasse je Pflanze beobachtet werden, als im feuchteren Jahr 2021 (Abb. 15 a). Jedoch konnte unter den limitierenden Wachstumsbedingungen im Jahr 2020 eine stärkere Mykorrhizaausbildung in den Wurzeln (Abb. 15b) und eine höhere Pilztrockenmasse in den Pilzfallen (Abb. 15c) beobachtet werden. Diese Befunde entsprechen dem, wie Mykorrhizasymbiosen heutzutage verstanden werden. Unter Mangelbedingungen investieren Pflanzen vermehrt Kohlenstoff in die Mykorrhiza, um dem Ressourcenmangel durch Ausbildung der Wurzelsymbiose zu begegnen. Es ist aber auch ein schlagspezifischer Effekt nicht auszuschließen, da die beprobten Schläge sich in ihrer mittleren Korngröße unterschieden (median 2020: 148  $\mu\text{m}$ , median 2021: 160  $\mu\text{m}$ ). Es ist also auch möglich, dass (Mykorrhiza)-Pilze feiner texturierte Böden bevorzugen, in denen Nährstoffe vermehrt an die Tonfraktion binden und bei gleicher Niederschlagsbilanz feuchter bleiben, weil sie mehr Wasser halten. Um dies zu genauer zu verstehen wurde für

jedes Untersuchungsjahr die ‚Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem‘ mit der Textur am genauen Standort korreliert (Abb. 16). Da für diese Variable keine signifikanten Effekte der Inokulierung auf die Mykorrhiza beobachtet wurde, wurden die Daten zusammen betrachtet und Mittelwerte für gleiche Texturen mittels eines Histogramms gebildet. Es ergab sich eine Texturbreite von ca. 10  $\mu\text{m}$  für jeden Einzelmittelwert. In der Tat bestätigen die Analysen, dass eine erhöhte Mykorrhizabesiedlung der Wurzeln von Mais im Jahresvergleich auch innerhalb der Feldareale mit räumlich heterogener Textur auftreten (Abb. 16). Es tritt in beiden Untersuchungsjahren, sowie in einem Referenzdatensatz von 2017 eine Abnahme der Arbuskelhäufigkeit mit der Korngröße auf. Zwar unterscheiden sich die Antwortstärke (Anstieg der Regression) mit den Untersuchungsjahren und Flächen, der Trend ist jedoch der gleiche. Maispflanzen innerhalb der gleichen Fruchtfolge, auf unterschiedlichen Schlägen mit jahresabhängigen Schwankungen in den klimatischen Bedingungen scheinen Mykorrhizasymbiosen stärker auf feiner texturierten Böden einzugehen als auf gröber texturierten Böden. Die Standorte waren generell durch leichte, sandige, bis sandig-schwach lehmige Böden gekennzeichnet. Ein Anstieg der Tonfraktion begünstigte Mykorrhizasymbiosen.



**Abb. 16:** Die Beziehung zwischen der mittleren Korngröße und der Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem auf nach Bioland-Richtlinien bewirtschafteten Schlägen mit Körnermais in Untersuchungen im Rahmen des Projektes der Jahre 2020 und 2021, sowie einem Referenzdatensatz aus 2017 innerhalb der gleichen Fruchtfolge, der in gleicher Weise analysiert wurde. Jeder Datenpunkt repräsentiert einen Mittelwert von mehreren Unterproben, die nach der Korngröße am Standort gruppiert wurden. Die Korngrößenbreite für einen Mittelwert betrug ca. 10  $\mu\text{m}$ . Die Daten wurden korreliert (schwarze Linie: Regression, blaue Linien: 95% Konfidenzintervalle).

Um weiteren Aufschluss über die für die Symbioseausbildung der Pflanzen begünstigenden Bedingungen zu gewinnen wurde eine Korrelationsanalyse mit den Nährstoffgehalten am Standort durchgeführt. Diese Analysen zeigen, dass Standorte vergleichsweise reich an organischer Bodensubstanz und (organischem) Stickstoff die Mykorrhizasymbiose in Mais begünstigen (Abb. 17). Es wurde auch untersucht ob die Pflanzennährstoffgehalte die Mykorrhizabildung in der Wurzel beeinflussten, da bekannt ist, dass Pflanzen die Wurzelbesiedlung bei ausreichender Nährstoffversorgung in artifiziellen Systemen unterdrücken können. Dies bestätigte sich nicht. Die Phosphor- und Stickstoffgehalte in der Pflanzentrockenmasse erklärten nur marginal die Varianz der Arbuskelhäufigkeit in den Wurzeln (P:  $R^2 = 0.07$ , N:  $R^2 = 0.02$ ) über Jahre hinweg. Dies spricht dafür, dass die Bodenbedingungen unter Feldbedingungen entscheidend für die Ausbildung der MYkorrhizasymbiose in Mais waren (siehe Abb. 16, 17).

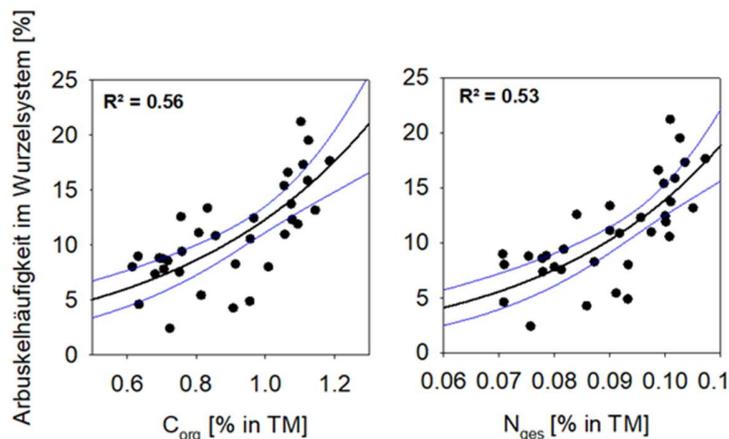


Abb. 17: Der Zusammenhang zwischen dem Kohlenstoffgehalt ( $C_{org}$ ) und dem Stickstoffgehalt ( $N_{ges}$ ) Böden und der Arbuskelhäufigkeit im Wurzelsystem (schwarze Linie, Regression, blaue Linien, 95% Konfidenzintervalle) über drei verschiedene Jahre in der Maiskultur. Jeder Datenpunkt stellt einen Mittelwert aus Messwiederholungen dar, gruppiert nach Korngrößen. Der Korngrößenbereich über den für jeden Datenpunkt gemittelt wurde betrug  $10 \mu m$ .

Analog zu den Maisversuchen wurden in randomisierter Streifenanlage auf zwei unterschiedlichen Standorten in den Jahren 2020 und 2021 Kartoffelversuche unter konventioneller Bewirtschaftung angelegt. In Übereinstimmung mit den Topfversuchen konnte weder eine nennenswerte Kolonisierung der Wurzeln mit Mykorrhizapilzen nachgewiesen werden (siehe Bericht Institut für Pflanzenkultur), noch konnte eine Wirkung von Mykorrhizen auf die Nährstoffaufnahme der Kartoffeln nachgewiesen werden. Es wurde je Streifen im Versuch zehn Sprossproben hinsichtlich der Pflanzenstickstoff- und Phosphorgehalte im Jahr 2020 dennoch untersucht. Zwar zeigte sich hier auch, ähnlich wie im Maisversuch 2020, eine räumliche Abhängigkeit der Phosphor- und Stickstoffversorgung der Kartoffeln (Block Faktor für Phosphor:  $P = 0.034$ , Block Faktor für Stickstoff:  $P = 0.006$ ), die Inokulierungseffekte, wenn sie auftraten, bedürfen aber keiner weiteren Analyse, da keine physiologisch relevante Mykorrhizasymbiose beobachtet werden konnte. Letzteres ist konsistent mit den Topfversuchen mit der Kartoffel. Da hier nicht die Grundvoraussetzungen vorlagen, um die Projektziele zu erreichen, wurde von weiteren Analysen abgesehen und die Maisversuche im Verlauf wie oben dargestellt vertieft analysiert und beschrieben.

Als weitere Aufgabe bestand, eine Kosten-Nutzenrechnung für die eingesetzten AMP-Präparate für die Feldversuche zu erstellen. Da in keinem Falle eine Ertragssteigerung, noch eine Steigerung innerer Qualitätsparameter der Kulturen durch den Einsatz der AMP-Präparate statistisch nachgewiesen werden konnte, erhöhen sich die Kulturkosten schlicht um die Anwendungskosten der AMP-Präparate. Dies bedarf keiner genaueren Kostenkalkulation, da der zusätzliche Einsatz von AMP-Präparaten keinen wirtschaftlichen Erfolg für Anbauer generierte. Es wird im Verlauf aber auf in der Projektlaufzeit schwerer quantifizierbare Ökosystemleistungen durch AMP-Präparate hingewiesen.

### 1.3. Schlussfolgerungen mit Bezug zur Zielstellung

Ziel des Projektes war es, mit Hilfe des Einsatzes von Mykorrhizapräparaten im Feld die Ertragsstabilität von Körnermais und Kartoffel in der Fläche zu erhöhen, da dies die Möglichkeit bietet gleichzeitig einen ökonomischen Nutzen für Anbauer zu generieren und die Ressourcennutzungseffizienz der Kulturen in der Fläche durch teilflächenspezifische Applizierung der Präparate zu steigern. Hierfür war zum einen die Beweisführung nötig, dass applizierte Präparate funktionale Symbiosen mit den Kulturen eingehen, zum anderen musste die räumliche Heterogenität der Bodenbedingungen bekannt sein, um zu verstehen wo applizierte Mykorrhizapräparate womöglich am effektivsten wirken können.

Es konnte erfolgreich eine molekularbiologisch basierte Methodik entwickelt werden, die zum Nachweis des Anwachsens der applizierten Mykorrhizapräparate im Feld dienen kann. Die Methode grenzt erfolgreich gegen natürlich vorkommende Mykorrhizapilze ab und kann auf einfach zu konstruierende Pilzfallen im Boden, aus denen Pilzbiomasse gewonnen werden kann, angewendet werden. Ebenfalls erfolgreich konnte die Aussagekraft einer räumlich hoch aufgelösten Kartierung der Bodentextur für die Ertragsbildung, Pflanzennährstoffaufnahme und Mykorrhizasymbiose gezeigt werden. In Abhängigkeit von der Korngrößenverteilung im Feld war die Nährstoffversorgung der Böden zum Ende der Kultur über Jahre und Flächen gut bestimmbar und offenbarte eine Abhängigkeit der Mykorrhizasymbiose von der flächigen Verteilung der mittleren Korngröße und der Nährstoffgehalte der Böden.

Die Etablierung der Mykorrhizasymbiose durch die eingesetzten Präparate war nur teilweise erfolgreich und schien sowohl von den Umweltbedingungen der Untersuchungsjahre als auch von der Kulturführung abzuhängen. Im Jahr, wo Boden- und Witterungsbedingungen in Wechselwirkung zu vergleichsweise geringen Erträgen führten, konnte eine verstärkte Mykorrhizabildung und eine erfolgreiche Etablierung der eingesetzten Präparate im Feld für die Maiskultur nach Bioland-Richtlinien beobachtet werden. Sowohl der Einfluss der Textur als auch die erfolgreiche Etablierung der eingesetzten Mykorrhizapräparate schwanden im Folgejahr unter günstigeren Wachstumsbedingungen. Die Untersuchungen an der konventionell bewirtschafteten Kartoffelkultur zeigten, dass die Böden zum einen verarmt an (Mykorrhiza-) Bodenleben sind und zum anderen eine erfolgreiche Etablierung eingesetzter Präparate nicht erlauben. Dies konnte direkt auf den Boden und dessen Eigenschaften zurückgeführt werden. Es zeigt sich, dass der erfolgreiche Einsatz von Mykorrhizapräparaten im Feld, ähnlich wie das Pflanzenwachstum stark abhängig von den Standortbedingungen abhängig ist und ein sinnvoller Einsatz weiterer Forschung bedarf, aber möglich erscheint.

Da nur im Topf ein positiver Beitrag der Mykorrhizapräparate zur Nährstoffaufnahme der Maiskulturen in Abhängigkeit von der Bodenart gezeigt werden konnte, aber nicht im Feld, wurde es nicht möglich zu untersuchen, ob eine teilflächenspezifische Applizierung der Mykorrhizapräparate zu einem gesteigerten ökonomischen Nutzen für den Anbauer führen kann. Wir können daher den jetzigen Einsatz produzierter Mykorrhizapräparate weder uneingeschränkt empfehlen noch deren Wirksamkeit für die angestrebte ökologische Intensivierung der Landwirtschaft verneinen. Denn eines zeigen die Untersuchungen in unserem Falle klar, Kulturführungen mit reduziertem Pflanzenschutz und organischer Düngung schützen die Anwesenheit nützlicher Bodenmikroben zu denen AMP gehören und konventionelle Bewirtschaftung der Böden führt zu einer Verarmung dieser nützlichen Mikroben. Auch wenn die Ökosystemleistungen der AMP im Rahmen dieses Projektes nicht eingeschätzt werden können, muss berücksichtigt werden, dass AMP natürliche Bestandteile der Pflanzen- und Bodenmikroflora sind, wichtig für die Ressourcennutzungseffizienz der Pflanzen sein können, nachweislich wichtige Komponenten der Bodenstrukturbildung darstellen und direkte Einträger von organischer Substanz in den Boden sind, da sie als biotrophe Organismen direkt Kohlenstoff der Pflanze im Boden leiten und nicht in Konkurrenz um die Kohlenstoffreserve im Boden mit Zersetzern gehen.

## **2. Stellungnahmen**

### **2.1. Arbeiten, die zu keinen Ergebnissen/Lösungen führten**

Die zugrundeliegenden Ursachen für die Inhibierung der Mykorrhizabildung in der Kartoffelkultur auf konventionell bewirtschafteten Böden konnten innerhalb dieses Projektes nicht aufgeklärt werden. Die Texturkartierung der Flächen für die Kartoffelkultur konnte zusätzlich nicht durchgeführt werden. Das

Zusammenspiel von Witterungsbedingungen und pandemiebedingten Einschränkungen der Reisetätigkeit im Jahr 2020 erlaubte die Kartierung der Areale für die Kartoffelkultur nicht. Da die Flächen für die Kartoffelkultur durch lehmigere Bodenbedingungen gekennzeichnet waren als die Areale für Mais, war eine zeitnahe Kartierung zeitlich zwar möglich, aber die Befahrbarkeit mit dem *Geophilus*-Messsystem nicht gewährleistet. Wir zeigen in diesem Projekt zwar, dass die Texturkartierungen über Jahre hinweg Vorhersagkraft für den Nährstoffhaushalt der Böden besitzt, sahen aber trotzdem von einer nachträglichen Kartierung ab, da wiederholte Versuche unsererseits und Die anderer Projektbeteiligten zeigten, dass die wichtige Grundlage, und zwar die Mykorrhizierung der Pflanzen auf Böden dieser Areale keine vielversprechenden Ergebnisse hervorbrachten. In Folge dessen wurden die Ressourcen des Projektes, die nicht für die geplanten Analysen der Kartoffelkultur aufgewendet wurden, eingesetzt, um den Stichprobenumfang und die Analysen für die Maiskultur zu intensivieren und damit die Aussagekraft dieser Studien zu erhöhen.

## **2.2. Nutzen der Ergebnisse für die Praxis: Sind verwertbare/nutzbare Empfehlungen, Produkte, Verfahren oder Technologien entstanden?**

Für die Praxis wichtige Befunde dieses Projektes sind, dass konventionell bewirtschaftete Böden an Mykorrhizen verarmen können, während integriert bewirtschaftete Böden Mykorrhizen konservieren. Im Zuge der Erkenntnis, dass gesunde Böden wichtige Ökosystemleistungen bereitstellen können, ist dies auch für die Praxis von Bedeutung, weil es ein Qualitätsmerkmal für die Produktion pflanzlicher Erzeugnisse darstellen könnte.

Unter der Annahme, dass der Einsatz von Mykorrhiza im Feld angestrebt ist, stellt das entwickelte Verfahren zum Etablierungserfolg der Mykorrhiza-Präparate eine Technologie für die Produzenten der Mykorrhiza-Präparate bereit, dass zur Qualitätskontrolle der Produkte eingesetzt werden kann. Die Einschränkung hierbei ist, dass dieses Nachweisverfahren spezifisch für das Produkt entwickelt werden muss.

## **2.3. (Geplante) Verwertung und Nutzung der Ergebnisse**

Die gewonnenen Erkenntnisse sind vor allem aus agroökologischer Sicht von hoher Relevanz. Für die Verwertung der Ergebnisse seitens des IGZ ist eine Publikation in einer einschlägigen wissenschaftlichen internationalen Fachzeitschrift mit dem Arbeitstitel:

„The spatial texture dependency of mycorrhizal development in organic maize cultures“

geplant.

## **2.4. Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit: Gibt es weitergehende (wissenschaftliche) Fragestellungen aus den Projektergebnissen, die zukünftig zu bearbeiten sind?**

Eine Reihe wissenschaftlicher Fragestellungen leiten sich aus den im Projekt gewonnenen Ergebnissen ab. Zunächst wäre es wichtig zu verstehen, was ursächlich für die schwache Ausbildung der Mykorrhizasymbiose auf konventionell bewirtschafteten Böden ist. Eine Reihe von Faktoren gilt es hier zu untersuchen. Ist der erhöhte Eintrag von mineralischen Düngern, der vermehrte Einsatz von Pflanzenschutzmitteln, eine intensivere mechanische Bodenbearbeitung die Pilzgeflechte zerstört oder der höhere Anteil von Schwarzbrachen in denen Wirte der Mykorrhiza abwesend sind ursächlich, oder ein

Zusammenspiel aller Faktoren? Ist dies verstanden, können Anpassungen der Kulturmaßnahmen getestet werden, die ermöglichen, nicht nur die Pflanzenkultur, sondern auch die Mykorrhizen im Feld zu schützen.

Weiterhin geben die Ergebnisse Hinweise darauf, dass Mykorrhizen fein texturierte Böden bevorzugen. Hierfür wäre zu beantworten ob Mykorrhizen, wie viele Pilze, auf höhere Wassergehalte in fein texturierten Böden angewiesen sind oder ob die höhere Nährstoffbindung in Böden mit höherem Tonanteil zu einer relativen Nährstofflimitierung bei gleicher Düngung führen, was die Kulturpflanzen dazu ‚motiviert‘ die Mykorrhizen vermehrt als Nährstofflieferanten zu ‚nutzen‘. Erst wenn dies verstanden wird, kann auch die Ökosystemleistung der Mykorrhiza sinnvoll eingeschätzt und bilanziert werden. Es schließen sich die Fragen an, ob und wann Mykorrhiza zur Nährstoffnutzungseffizienz der Pflanzen im Feldanbau direkt beiträgt, ob eine Ausbringung applizierter Nährstoffe vermehrt in die Pflanzenbiomasse fließt und nicht auswäscht und ob die Bildung der Bodenstruktur und die Speicherung der organischen Bodensubstanz gefördert werden, wenn Mykorrhizapilze anwesend sind.

Im Projekt wurde auch der Nutzen einer hochaufgelösten räumlichen Kartierung der Bodentextur für das ressourcenschonende landwirtschaftliche Nährstoffmanagement der Zukunft aufgezeigt. Da die Bodentextur variabel im Raum aber sehr konstant in der Zeit ist, könnte zukünftig die bedarfsgerechte und teilflächenspezifische Ausbringung von Nährstoffen anhand der Bodentexturkartierung zum einen den Einsatz von Düngern reduzieren (ökonomischer Nutzen), zum anderen die Ökobilanz der Landwirtschaft durch verringerte Nährstoffverluste in ungewünschte Senken verbessern (ökologischer Nutzen). Voraussetzung hierfür ist die Entwicklung von ‚Precision-Farming‘ Technologien zur GPS-gestützten Düngung und die Verfügbarkeit dieser Technologien für Landwirte.

**2.5. Kommunikations- und Disseminationskonzept: Darstellung in welcher Weise die Ergebnisse kommuniziert oder verbreitet wurden, ggf. mit Verweis auf Veröffentlichungen und Angaben von Quellen. Grundsätzliche Schlussfolgerungen (ggf. Fazit zur Eignung von EIP-Förderung zur Generierung von Innovation und Schließung von Lücken zwischen Praxis und Wissenschaft) und eventuelle Vorschläge zur Weiterentwicklung von EIP Agri.**

Das Projektvorhaben wurde im Rahmen des vom Innovationszentrum Niedersachsen GmbH organisierten Treffens ‚Our Sacred Soil‘ des EIP Netzwerk Agrar und Innovation auf dem Versuchsbetrieb der Universität Wageningen (Noorderdiep 211, 7876 CL Valthermond) in den Niederlanden unter dem Titel:

*‚Using digital soil texture mapping for subarea-specific field application of Mycorrhizas‘*

In einer 15 minütigen Präsentation am 3.12.2019 vorgestellt.

Weiterhin wurden die Projektergebnisse im Rahmen des Wissenschaftlichen Kolloquiums am IGZ am 26.1.2021 mit dem Titel:

*‚Project Precision-AMF: A case of doing science within a production setting‘*

In einer 30 minütigen Präsentation vorgestellt, zu dem externe und interne Wissenschaftler\*innen und Mitarbeiter\*innen eingeladen waren.

EIP-Eignung und Verbesserungspotenzial: Das EIP Programm bietet das Potential, wissenschaftliche Grundlagenforschung in Kontakt mit den Anwendern zu bringen in exzellenter Weise, vor allem durch die Bildung der operativen Gruppen deren Mitglieder verschiedene Hintergründe haben, von der Urproduktion bis zur Wissenschaft. Hierdurch lernen alle Parteien dazu, die Ansprüche an die valide

Erkenntnisgewinnung in wissenschaftlichen Versuchen durch die Praxisbetriebe werden gestärkt, sowie die Wahrnehmung der Wissenschaften für die praktischen Probleme, die in der Landwirtschaft Realität sind. Dies ist unserer Einschätzung nach ein wirksames Format, für den beiderseitigen Wissenstransfer zwischen Praxis und Forschung.

Eine wirksame Verbesserung für den Erfolg und die Innovationskraft der EIP-Projekte, die zum Ziel haben, wie hier biologische Agenzien zur ökologischen Intensivierung der landwirtschaftlichen Praxis zu stärken, wären längere Projektlaufzeiten mit angemessener Finanzierung (Stichwort Deckelung) sinnvoll. Auch unser Projekt zeigt, dass ökologische sowie ökonomische Nutzen solcher Projekte und Produkte stark von den Umweltbedingungen abhängen, da biologisch-basierte Produkte, ähnlich wie Pflanzen, auf Umweltfaktoren reagieren, die derzeit nicht vorhersagbar sind. Valide Bilanzierungen von Nutzen und Anpassung solcher Produkte unter Praxisbedingungen im Feld sind daher nur über längere Anbauperioden möglich und nötig. Zurzeit bieten die Projektlaufzeiten über ca. drei Jahre eher die Möglichkeit z.B. eine Technologie für eine bestimmte Kulturmaßnahme zu verbessern, als Ökosystemleistungen biologisch basierter Pflanzenhilfsstoffe zu bilanzieren.

## **2.6. Kommunikationstabelle (irgendwelche Veranstaltungen bei Euch, Lange Nacht usw?)**

Siehe 2.5.