



Doctoral Thesis

Elucidation of root-soil interactions of crops in space and time by establishment and application of novel image based non-invasive root phenotyping methods

Author(s):

Pfeifer, Johannes

Publication Date:

2013

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010216588> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 21676

**Elucidation of root-soil interactions of crops in space
and time by establishment and application of novel
image based non-invasive root phenotyping methods**

A dissertation submitted to
ETH Zurich

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

Johannes Pfeifer

Dipl.-Ing. Agr.
University of Bonn
Born February 8, 1982
citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Achim Walter, examiner
Prof. Dr. Emmanuel Frossard, co-examiner
PD Dr. Andreas Hund, co-examiner

2013

Summary

Root traits of crops are almost completely unutilized to improve the properties of cultivars in crop breeding to date. For this reason, it has been assumed that a great potential can be expected in the selection of cultivars with root systems that are better adapted and tailored for specific environmental target conditions. The selection process in crop breeding programs requires phenotypic data that can be correlated with genetic information. However, non-invasive phenotyping methodologies of shoot and particularly root growth processes are in large parts still under development. Recently, a remarkable progress in the field of root phenotyping has been achieved both in laboratory and field. However, widespread application of these modern phenotyping methods has only just begun and their value for crop breeding remains to be demonstrated.

The present thesis intended to contribute to the rapidly growing field of new methods in crop root phenotyping and monitoring by establishing novel in-depth soil-based phenotyping methods and evaluating the specific applicability of these methods for crop root phenotyping in soil.

Chapter 2 presents results from a rhizotron methodology that has been successfully established within this thesis. Rhizotrons are flat soil-filled growth containers with a transparent plate at which the roots grow along and therefore allow for imaging and analyses of root growth by appropriate software. The potential of rhizotrons could be shown when used in an automated phenotyping system located in the greenhouse. The robot system GROWSCREEN-Rhizo enables an automated and simultaneous imaging of root systems (root system architecture (RSA) and root growth dynamics) and shoots of various plant species grown in soil-filled rhizotrons. It has been shown that the roots visible at the transparent plates were representative for the total root systems and root biomass determined from washed root samples.

Root and shoot growth of barley under conditions of vertically heterogeneous soil compaction and heterogeneous nutrient availability was tested in split-root rhizotrons and the applicability of the rhizotron methodology was tested and applied to study compensatory growth effects (chapter 3). In vertically divided split-root rhizotrons single barley plants grew with one side of their root systems in one compartment and with the other side in the other compartment differing in soil compaction and fertilization. Roots in the loose compartment of the split-root treatment grew deeper when compared with uniform treatments. Moreover, compared with the uniform treatments, more lateral roots

were initiated in the compacted compartment in the split-root treatment, if only the compacted compartment was fertilized. Lateral root formation started a few days earlier in the loose compartments of the split-root treatments, irrespective whether the fertilization was performed only via the compacted compartment or via both compartments. These effects can be interpreted as compensatory growth adjustments to heterogeneous soil conditions and show phenotypic plasticity in barley RSA and root growth dynamics. In conclusion, it became evident that for phenotyping processes of barley root and shoot growth the first days after exposure to heterogeneous soil conditions are critical for the analysis of underlying physiological responses.

After establishment and test of the rhizotron methodology, the system was applied for the investigation of electrical impedance tomography (EIT) under controlled conditions in the climate chamber (chapter 4). Not only root density but also ion concentration, water content and dead root tissue in the soil had a strong effect on the polarization signal quantified by EIT. For this reason, it had been difficult to filter out the root signal from the mixed signal and it became evident that not so much the root density, but the ion concentration in the rhizosphere, had the strongest effect on the polarization signal. Consequently, results from chapter 4 showed that EIT is not an appropriate method for the direct characterization of root growth in soil within the near future.

In order to characterize more accurately the behavior of roots encountering biopores in soil, a method using X-ray computed tomography (CT) was developed for the laboratory scale (chapter 5). Cylinders were filled with silty loam from the field and three treatments differing with respect to soil structure were compared. ‘Trematropism’ – a tendency to grow towards a pore - could be observed clearly. It was shown that artificial pores improved root and shoot growth even if the roots did not grow predominantly in the pores. A lot of roots grew towards these pores, but when they reached them, only few roots grew into the pore and a large part of the roots reentered the bulk soil. For this reason, the pores helped to attract more roots towards the center of the compacted soil, when compared to the other treatments without artificial pores. Thereby a larger fraction of the root was brought in contact with the bulk soil and diminished the border effects of the pot wall. Thus, the observations presented here might be a beneficial indication how to set up controlled experiments in the future that are more closely approximating field growth situations. The results might even imply that also in the field, induced pores, either by mechanical loosening or by preceding crops, might ameliorate crop cultivation on compacted soils. Barley roots showed an impressively versatile behavior in the way

they explored the soil and the pores. These results supplied further indication for phenotypic plasticity with respect to shoot and particularly root growth in barley, which was already observed in the split-root study (chapter 3).

Several insights in root-soil interactions were achieved in this thesis. It could be shown that the used laboratory methods are valuable for future in-depth phenotyping, particularly for the study of soil physical parameters.

Zusammenfassung

Bis heute wurden Wurzeleigenschaften für die Verbesserung von Sorteneigenschaften in der Nutzpflanzenzüchtung kaum genutzt. Aus diesem Grund wird in der Selektion von Sorten mit Wurzelsystemen, welche besser an die jeweiligen Umwelt- und Standortbedingungen angepasst und hinsichtlich der Wurzelsystemarchitektur und Entwicklung massgeschneidert sind, ein grosses Potential vermutet. Für den Selektionsprozess in Züchtungsprogrammen werden phänotypische Daten benötigt, welche mit genetischen Informationen korreliert werden können. Nicht-invasive Phänotypisierungsmethoden befinden sich jedoch noch weitgehend in der Entwicklungsphase, insbesondere Methoden zur Charakterisierung von Wurzelmerkmalen. In jüngster Zeit wurden im Bereich der Wurzelphänotypisierung sowohl auf der Labor- als auch auf der Feldebene bedeutende Fortschritte erzielt. Die Anwendung dieser neuen Methoden hat jedoch erst kürzlich eingesetzt und die Demonstration ihres praktischen Nutzens für die Nutzpflanzenzüchtung steht noch aus.

Die vorliegende Arbeit zielte darauf ab, einen Beitrag auf dem rasant wachsenden Gebiet der Methodenentwicklung in der Nutzpflanzenwurzelphänotypisierung zu leisten. Neue bodenbasierte Phänotypisierungsmethoden wurden für detaillierte, spezifische Fragestellungen etabliert und für ihre jeweiligen Nutzungsmöglichkeiten im Bereich der Nutzpflanzenphänotypisierung in bodenbasierten Systemen bewertet.

In Kapitel 2 werden Versuchsergebnisse gezeigt, welche mittels eines Rhizotronsystems gemessen wurden, das im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich entwickelt wurde. Rhizotrone sind flache, bodengefüllte Wachstums-Container mit einer transparenten Sichtscheibe, an welcher die Wurzeln entlangwachsen und deshalb von aussen fotografiert werden können. Mit Hilfe von geeigneter Software kann das Wachstum der Wurzeln mittels Bildanalyse fotografischer Aufnahmen der Wurzeln analysiert werden. Die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten der Rhizotronmethode konnten in einem automatisierten Phänotypisierungssystem auf Gewächshausebene veranschaulicht werden. GROWSCREEN-Rhizo ist ein Phänotypisierungs-Roboter, der eine vollautomatische und gleichzeitige Bildgebung von Sprossen und Wurzelsystemen (einschliesslich Wurzelsystemarchitektur und Wurzelwachstumsdynamik) von verschiedenen Pflanzenspezies, welche in bodengefüllten Rhizotronen kultiviert werden, ermöglicht. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die an der Sichtscheibe gemessenen

Wurzelparameter repräsentativ für das Gesamtwurzelsystem und dessen Biomasse waren, welche an ausgewaschenen Wurzelsystemen bestimmt wurden.

Um die Einsatzmöglichkeiten der Rhizotronmethode detaillierter zu evaluieren, wurde das kompensatorische Wachstum von Wurzel und Spross der Gerste bei vertikal heterogener Bodenkompaktierung und Nährstoffverfügbarkeit in vertikal geteilten Split-Root-Rhizotronen untersucht (Kapitel 3). In den Split-Root-Rhizotronen wuchsen einzelne Gerstepflanzen mit der einen Seite des Wurzelsystems in einem Abteil des Split-Root-Rhizotrons und mit der anderen Seite des Wurzelsystems in dem anderen Abteil. Die Abteile unterschieden sich hinsichtlich der Bodenkompaktierung und der Nährstoffversorgung. Verglichen mit den gleichartig gefüllten Split-Root-Rhizotronen, welche auf beiden Seiten mit unverdichtetem oder verdichtetem Boden gefüllt waren, zeigten die Wurzeln in dem mit unverdichtetem Boden gefüllten Abteil des heterogenen Split-Root-Rhizotrons eine grössere Durchwurzelungstiefe. Weiterhin wurde eine stärkere Anlage von Nebenwurzeln in dem mit verdichtetem Boden gefüllten Abteil des Split-Root-Rhizotrons beobachtet, wenn die Nährstoffversorgung ausschliesslich über das verdichtete Abteil erfolgte. Die Lateralwurzelbildung setzte in den mit unverdichtetem Boden gefüllten Abteilen beider Split-Root-Behandlungen einige Tage früher ein, als in den gleichförmig gefüllten Split-Root-Rhizotronen. Dieser Effekt war unabhängig davon, ob die Nährstoffversorgung über beide oder nur die verdichtete Seite der Split-Root-Rhizotrone erfolgte. Diese Effekte können als kompensatorische Wachstumseffekte bei heterogenen Bodenbedingungen interpretiert werden. Sie zeigen phänotypische Plastizität hinsichtlich der Wurzelsystemarchitektur und der Wurzelwachstumsgeschwindigkeit der Gerste. Es wurde gefolgert, dass bei der Phänotypisierung von Wachstumsprozessen von Wurzel und Spross der Gerste die ersten Tage, nachdem die Pflanzen heterogenen Bodenbedingungen ausgesetzt werden, entscheidend sind, wenn zugrundeliegende physiologische Prozesse und Reaktionen erforscht werden sollen.

Nach Etablierung und Test der Rhizotronmethode wurde das System zur Untersuchung der Elektrischen Impedanztomografie (EIT) unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer verwendet (Kapitel 4). Es zeigte sich, dass nicht nur die Durchwurzelungsdichte, sondern auch die Ionenkonzentration, der Wassergehalt und totes Wurzelgewebe im Boden einen starken Einfluss auf das mittels EIT gemessene Polarisationsignal hatten. Aus diesen Gründen ist es schwierig, das Signal der Wurzel innerhalb des gemessenen Mischsignals eindeutig zu isolieren. Im Laufe der Untersuchung stellte sich heraus, dass weniger die Wurzeldichte selbst den stärksten

Einfluss auf das Polarisationsignal hatte, sondern vielmehr die Ionenkonzentration in der Rhizosphäre. Folglich belegen die Ergebnisse des Kapitels 4, dass EIT zumindest in näherer Zukunft nicht als geeignete Methode für die direkte Charakterisierung von Wurzelwachstum im Boden betrachtet werden kann.

Um das Verhalten und die Reaktionen von Wurzeln, welche im Boden Bioporen ausgesetzt sind, genauer zu untersuchen, wurde eine Computertomografie-Methode (CT) für die Laborebene entwickelt (Kapitel 5). Zu diesem Zweck wurden Zylinder mit schluffigem Lehm vom Feld gefüllt und drei Behandlungen, welche sich in ihrer Bodenstruktur unterschieden, miteinander verglichen. Es konnten klare Belege für „Trematropismus“ – eine Tendenz in Richtung von Poren zu wachsen – erbracht werden. Die künstlichen Poren steigerten das Wurzel- und Sprosswachstum obwohl die Wurzeln nicht hauptsächlich in den Poren wuchsen. Viele Wurzeln wuchsen auf die Poren zu, aber es wuchsen nur wenige Wurzeln in die Poren hinein und ein grosser Teil der Wurzeln drang aus den Poren wieder in den umgebenden Boden ein. Aus diesem Grund trugen die Poren dazu bei die Wurzeln in die Mitte des kompaktierten Bodens zu lenken. Dabei wurde im Vergleich mit den anderen Behandlungen ohne künstliche Poren ein grösserer Anteil der Wurzeln in Kontakt mit dem Boden gebracht, welches zu einer Verminderung von Randeffekten an der Topfwand führte. Somit können die hier gezeigten Ergebnisse Hinweise dafür liefern, wie die Wachstumsbedingungen im Feld in Experimenten unter kontrollierten Bedingungen künftig realistischer simuliert werden können. Die Ergebnisse legen die Möglichkeit nahe, dass Poren, geschaffen mittels mechanischer Verfahren oder z.B. durch geeignete Vorfrüchte, den Pflanzenbau auf kompaktierten Standorten auch unter Feldbedingungen günstig beeinflussen können. Insgesamt zeigte die Gerste ein äusserst vielfältiges und komplexes Verhalten bei der Durchwurzelung von strukturiertem Boden mit Poren. Auch diese Ergebnisse belegen phänotypische Plastizität hinsichtlich des Spross- und insbesondere des Wurzelwachstums der Gerste, welche bereits in der Split-Root-Rhizotronstudie beobachtet wurde (Kapitel 3).

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere Erkenntnisse über Wurzel-Boden-Interaktionen gewonnen. Die verwendeten Labormethoden besitzen Bedeutung für die Anwendung im Rahmen detaillierter Pflanzenphänotypisierung und eignen sich insbesondere für die Untersuchung von bodenphysikalischen Faktoren.