

# Untersuchungen zur Holzzersetzung im Mineralboden sowie in und auf der Auflage von gekalkten und ungekalkten Waldböden

## Investigations on wood decomposition in mineral soil and in and on the overlay of limed and unlimed forest soils

### Projektleiterin

**Project leader:**  
Natalie Rangno

### Projektbearbeiter

**Person in charge:**  
Natalie Rangno,  
Lisa Behrendt,  
Stefanie Kath

### Fördermittelgeber

**Co-funded by:**  
Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR)

### Projektpartner

**Project partners:**  
Landesbetrieb Forst Brandenburg (LFB);  
Materialprüfanstalt Brandenburg GmbH;  
Hochschule für nachhaltige Entwicklung (HNE) Eberswalde;  
Hochschule für Technik und Wirtschaft (HTW) Dresden;  
Friedrich-Schiller-Universität (FSU) Jena

### Teilprojekt IHD:

**Molekulardiagnostische Pilzbestimmung im Holz**

### AUSGANGSSITUATION UND ZIELSTELLUNG

Ziel des Forschungsprojektes war es, die Dynamik des Holzabbaus von definierten Kiefern- und Buchenholzkörpern in gekalkten und nicht gekalkten Kiefernwäldern im Detail zu untersuchen. Neben der Detektion und Quantifizierung von (Oberflächen-) Merkmalen der Hölzer sollten Rückschlüsse auf den Zusammenhang von Humus-/Holzabbau und dem chemischen, mikrobiologischen und hydrologischen Milieu im Boden und bodennahen Bereich sowie speziell der CO<sub>2</sub>-Dynamik und der beteiligten holzabbauenden Pilze (Basidiomycota) gezogen werden.

Das Hauptziel war die Quantifizierung der zeitlichen Entwicklung des Holzabbaus auf Versuchsflächen mit weitestgehend natürlichen und anthropogen akzelerierten Bedingungen (Kalkung).

Das Ziel des IHD-Teilprojekts war die molekularbiologische Pilzdiagnostik zum Monitoring des Holzabbaus in behandelten und unbehandelten Waldböden.

### Sub-project IHD:

**Molecular-diagnostic fungus determination in wood**

### INITIAL SITUATION AND OBJECTIVE

The aim of the research project was to analyse in detail the dynamics of wood decomposition of defined pine and beech wood bodies in limed and non-limed pine forests. In addition to the detection and quantification of (surface) features of the wood, conclusions should be drawn about the relationship between humus/wood decomposition and the chemical, microbiological and hydrological environment in the soil and near-soil area, in particular the CO<sub>2</sub> dynamics and the wood-degrading fungi (basidiomycete) involved. The main objective was to quantify the temporal development of wood decomposition on experimental plots with largely natural and anthropogenically accelerated conditions (liming). The aim of the IHD sub-project was to develop molecular biological fungal diagnostics for monitoring wood decomposition in treated and untreated forest soils.

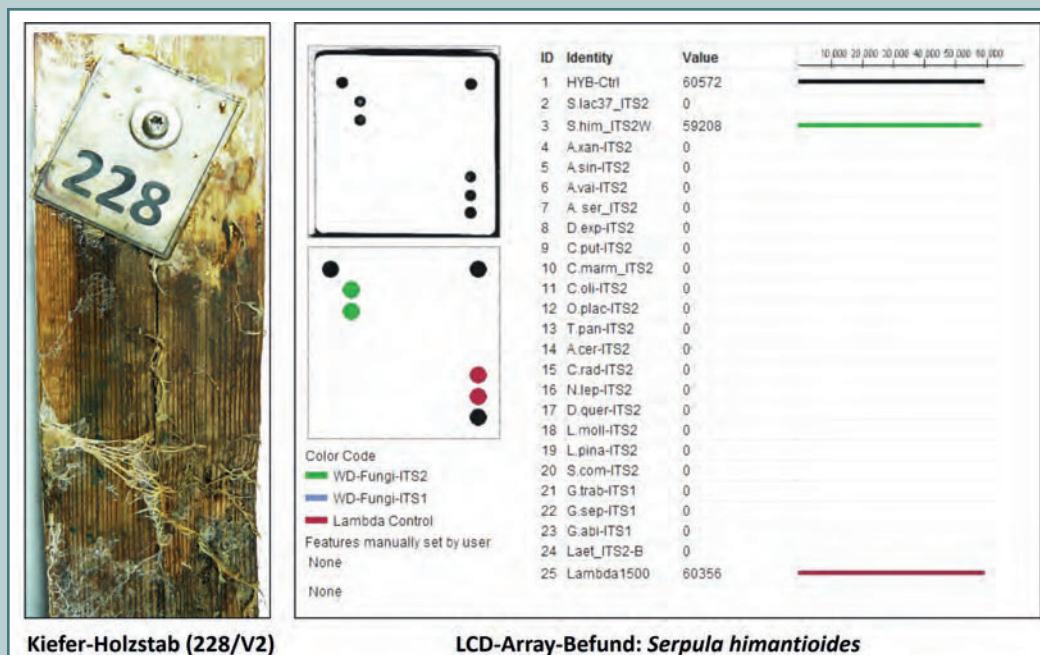


Abb. 1: Pilzdiagnostik mit dem LCD-Array

Fig. 1: Fungal diagnostics by means of the LCD array (Pine stick – left, LCD array findings – right)

## VORGEHENSWEISE

Mit Hilfe künstlich in Kiefernökosysteme eingebrachter, aus Kiefern- und Buchensplintholz erstellter Holzprüfkörper sollte die Dynamik des Holzabbaus in Abhängigkeit von unterschiedlichen Standortfaktoren (6 x 2 Standorte) über 28 Monate, insbesondere unter dem Einfluss einer Kalkung, untersucht werden. Ausgehend von makroskopischen Holzveränderungen wurden mikroskopische Abbauprozesse in den Zellstrukturen der Holzprüfkörper sowie die thermisch-physikalischen Veränderungen des Holzes zu drei verschiedenen Zeitstufen beobachtet. Außerdem wurden die beteiligten holzabbauenden Basidiomyzeten mit verschiedenen Methoden diagnostiziert und ihre Exoenzyme bestimmt. Begleitend wurde der Abbau des an den Standorten vorhandenen Totholzes sowie die abiotischen Standortbedingungen erfasst.

Die molekulardiagnostische Pilzbestimmung der Proben erfolgte auf Basis der Sequenzierung der ITS-Regionen (ITS1 & ITS2) der rDNA mit anschließendem Referenzdatenvergleich unter Nutzung von Gen-Datenbanken. Ausgewählte Proben mit gemischtem

## APPROACH

The dynamics of wood decomposition as a function of different site factors (6 x 2 sites) over a period of 28 months, in particular under the influence of liming, was to be studied using test specimens of pine and beech sapwood artificially introduced into pine ecosystems. Based on macroscopic changes in wood, microscopic degradation processes in the cell structures of the wood test specimens and the thermal-physical changes in the wood were observed at three different stages in time. In addition, the wood-degrading basidiomycetes involved were diagnosed using various methods and their exoenzymes were determined. At the same time, the decomposition of the deadwood present at the sites and the abiotic site conditions were recorded. The molecular-diagnostic fungal determination of the samples was based on sequencing the ITS regions (ITS1 & ITS2) of the rDNA, with subsequent reference data comparison using gene databases. Selected samples of mixed fungal infestation were analysed using the DNA chip technology with the LCD array (kits WDF1.0/2.0, Chipron GmbH) (Fig. 1).

Pilzbefall wurden mit Hilfe der DNA-Chip-Technologie mit den LCD-Array (Kits WDF1.0 /2.0, Chipron GmbH) analysiert (Abb. 1).

## ERGEBNISSE

Im Laufe des Projekts wurden 508 Proben molekularagnostisch im IHD untersucht. Im Durchschnitt konnten in ca. 60 % der Proben (n = 300) die Pilze mittels Sequenzierung identifiziert werden. In den sechs Versuchsflächen konnten 66 verschiedene holzabbauende Pilze, bis zu 50 Basidiomyzeten pro Fläche nachgewiesen werden. Insgesamt konnten 58 Arten aus 40 Gattungen nachgewiesen werden. Davon verursachen 33 Arten Weißfäule und 16 Arten Braunjäule. In ca. 40 % der Fälle wurden mehrere Pilze der verschiedenen Gattungen in einer Probe diagnostiziert.

Der Wilde Hausschwamm (*Serpula himantoides*), der Dünnhäutige Braunsporrindenpilz (*Coniophora arida*) und Helmlinge (*Mycena sp.*) kommen in allen sechs Versuchsflächen, und zwar unabhängig von der Bodentiefe, Holzart und Kalkung, vor. Der Wilde Hausschwamm kann nicht nur als Saprobiont, sondern oft auch als Wurzel- und Stockfäuleerreger vorkommen. Der Pilz dringt über dickere Wurzeln in die Stammbasis lebender Bäume ein und kann sich im Innern des Stammes „Kernfäule“ bis in eine Höhe von 2 m ausbreiten. Die betroffenen Bäume sind verstärkt durch Schadinsekten oder durch Windbruch und -wurf gefährdet. Pilzdiagnostisch dominierten in den untersuchten Versuchsflächen Braunjäulepilze. Die Besiedlung von Kiefern läuft unter identischen Bedingungen schneller ab als bei Buchenholz. Ein möglicher Grund für die unterschiedliche Abbaudynamik zwischen

## RESULTS

In the course of the project, 508 samples were analysed molecularly at the IHD. On average, the fungi could be identified by sequencing in approx. 60 % of the samples (n = 300). In the six test plots, 66 different wood-degrading fungi, up to 50 basidiomycetes per plot, were detected. A total of 58 species from 40 genera were detected. Of these, 33 species cause white rot, and 16 species cause brown rot. In approx. 40 % of the cases, several fungi of different genera were diagnosed in one sample. The wild dry rot (*Serpula himantoides*), the thin-skinned brown spore fungus (*Coniophora arida*) and helminths (*Mycena sp.*) occur in all six test areas, regardless of soil depth, wood type and liming. The dry rot fungus can occur not only as a saprobiont but frequently as a root and trunk rot pathogen. The fungus penetrates the base of the trunk of living trees via thicker roots and can spread “core rot” inside the trunk up to a height of 2 metres. The affected trees are increasingly at risk from insect pests or wind breakage and windthrow. In terms of fungal diagnosis, brown rot was the dominant fungus in the trial areas examined. Under identical conditions, the colonisation of pine wood is faster than that of beech wood. One possible reason for the different decomposition dynamics between pine and beech wood may be the species-specific specialisation of wood-destroying fungi in the soil according to habitat continuity. However, no differences were found between the occurrence of the fungal species in limed or unlimed soils.

Kiefern- und Buchenholz kann die baumartenspezifische Spezialisierung der holzerstörenden Pilze im Boden entsprechend der Habitatkontinuität sein. Allerdings wurden keine Unterschiede zwischen dem Vorkommen der Pilzarten in gekalkten oder ungekalkten Böden festgestellt.

#### AUSBLICK

Die mit dem Projekt anvisierte Abschätzung der C-Teilbilanz aus dem Verhältnis des Holzabbaus und Zuwachses liefert u. a. einen Beitrag zur Bewertung der Klimaschutzleistung von Waldböden. Weiterhin wurden Erkenntnisse zur Klärung der Zusammenhänge von kleinräumigen Standortbedingungen, mikrobieller Diversität, und differenzierter Kohlenstoffspeicherung gewonnen. Das Monitoring der zeitlichen Entwicklung der abiotischen Faktoren und der Dynamik des Holzabbaus durch quantitative Untersuchungsmethoden (Bodenanalysen, Masseverluste, Thermogravimetrie, Keimbelastungsbestimmung, Enzymaktivitäten etc.) und hochauflösende bildgebende Verfahren der Mikroskopie sowie die der bestimmungssicheren DNA-Pilzdiagnostik trugen zur Zielerreichung und der Erforschung der Biomasseentwicklung im und auf dem Boden für eine längere Zeitreihe und für zukünftige Modellierungen, besonders auch vor dem Hintergrund der dramatischen Standortveränderungen, bei (HolzDeko Schlussbericht: <https://www.fnr.de/index.php?id=11150&fkz=2218WK35E4>). Die Veränderung der Klimafaktoren wird das Spektrum und die Häufigkeit der Pilzarten beeinflussen. Daher wird die molekularbiologische Pilzdiagnostik zum Monitoring des Holzabbaus weiterhin eine sehr wichtige Rolle spielen.

#### OUTLOOK

The aim of the project, i.e., the estimation of the partial carbon balance from the ratio of wood decomposition and increment provides a contribution to the assessment of the climate protection performance of forest soils. Furthermore, insights were gained to clarify the relationships between small-scale site conditions, microbial diversity and differentiated carbon storage. The monitoring of the temporal development of abiotic factors and the dynamics of wood decomposition using quantitative investigation methods (soil analyses, mass losses, thermogravimetry, determination of the germ load, enzyme activities, etc.) and high-resolution imaging approaches of microscopy as well as those of reliable fungal DNA diagnostics contributed to achieving the objectives of the project and to researching the biomass development in and on the soil for a longer series of time and for future modelling approaches, especially against the backdrop of dramatic site changes: Changes in climatic factors will influence the spectrum and frequency of the occurrence of fungal species. Molecular biological fungal diagnostics will therefore continue to play a very important role in monitoring wood degradation.

