

# Wie reagiert die Bodenmikrobiologie im Grünland auf den Klimawandel?

Markus Gorfer<sup>1\*</sup>, Evi Deltedesco<sup>2</sup>, Katharina Keiblinger<sup>2</sup>, Hans-Peter Piepho<sup>3</sup>, Livio Antonielli<sup>1</sup>,  
Sophie Zechmeister-Boltenstern<sup>2</sup> und Erich M. Pötsch<sup>4</sup>

## Einleitung

Das globale Klima hat sich seit Beginn der Industrialisierung um 1750 drastisch geändert (World-Meteorological-Organization, 2017). Davon sind mittlerweile so gut wie alle Organismen auf der Erde betroffen, auch die Mikroben im Boden. Bakterien, Archaeen, Pilze sowie zahlreiche andere Kleinstlebewesen bewerkstelligen im Boden die Umsetzung der Nährstoffe und den Abbau der organischen Substanz. Geänderte Umweltbedingungen wie höhere atmosphärische CO<sub>2</sub>-Konzentrationen und höhere Temperaturen können die Bodenmikrobiologie und damit eine ganze Reihe von mikrobiellen Prozessen direkt und indirekt beeinflussen (Kuzyakov *et al.*, 2019). So können Pflanzen auf erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentrationen mit Änderungen in den Wurzelexudaten reagieren, die dann die mikrobiellen Gemeinschaften im Boden beeinflussen (Hungate *et al.*, 1997; Phillips *et al.*, 2011). In den meisten Studien werden die Einflussfaktoren CO<sub>2</sub> und Temperatur separat untersucht, während kombinierte Effekte nur selten Gegenstand von Untersuchungen sind (Castro *et al.*, 2010). Aufgrund der bislang vorhandenen Datenlage ist es offensichtlich, dass es schwierig ist, die Auswirkungen der wichtigsten Klimafaktoren auf die Bodenmikrobiologie und die damit verbundenen Prozesse und Nährstoffzyklen vorherzusagen (Janus *et al.*, 2005; Lipson *et al.*, 2005; Lipson *et al.*, 2006; Lesaulnier *et al.*, 2008; Austin *et al.*, 2009; Deltedesco *et al.*, 2019). Das liegt unter anderem an komplexen Interaktionen und störenden Einflussfaktoren.

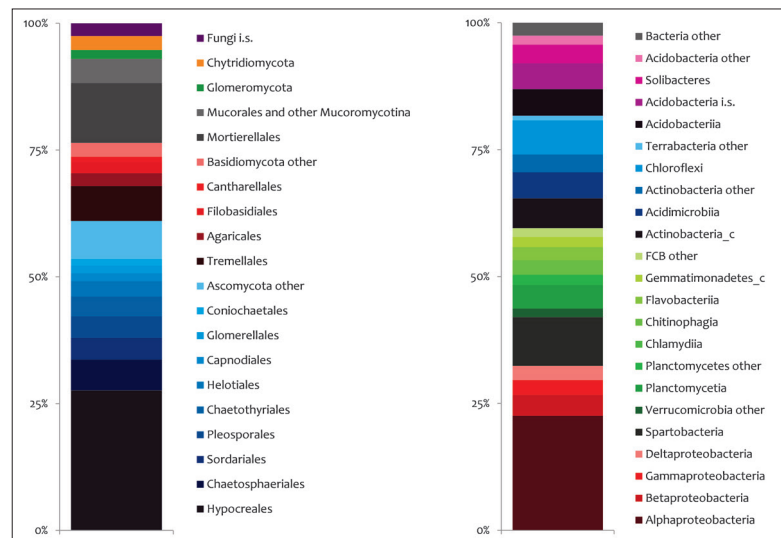
In der ClimGrass Versuchsanlage in Raumberg-Gumpenstein werden Plots seit 2014 mit CO<sub>2</sub> begast bzw. mit Infrarotstrahlen erwärmt, wobei es unterschiedliche Kombinationen der Behandlungsvarianten mit keiner, mittlerer bzw. starker Erhöhung gegenüber den Umgebungswerten gibt (Piepho *et al.*, 2017). Im Herbst 2016 wurden von 27 Plots aller Behandlungskombinationen Bodenproben aus den oberen 10 cm entnommen. Mithilfe der Hochdurchsatzsequenzierung wurden die Bodengemeinschaften von Bakte-

rien und Pilzen untersucht. Diese Methode ist unabhängig von der Kultivierung und ermöglicht somit die Erfassung des Großteils der mikrobiellen Biodiversität. Zum Vergleich wurden auch die Pflanzenwurzeln in der Bodenprobe über Hochdurchsatzsequenzierung erfasst, da hier Einflüsse auf die Zusammensetzung der Bakterien und Pilze erwartet wurden.

## Ergebnisse und Diskussion

### Allgemeine Beschreibung der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden

Die Pilzgemeinschaften in den Böden der Versuchsfläche werden von Ascomycota dominiert. Basidiomycota sowie Mucoromycota und Mortierellomycota sind nur zu einem



**Abbildung 1: Die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden auf der ClimGrass-Versuchsfläche im Oktober 2016. Daten von 27 untersuchten Plots mit unterschiedlichen Behandlungsvarianten wurden zusammengefasst. Die Arten wurden auf einer adäquaten taxonomischen Ebene gruppiert. Die Pilze (links) sind auf der Ebene der Ordnung dargestellt. Ascomycota: blau; Basidiomycota: rot; Mortierellomycota and Mucoromycota: grau; Glomeromycota: grün; Chytridiomycota: gold; Fungi i.s.: violett. Bacteria (rechts) wurden bevorzugt auf der Ebene der Klasse zusammengefasst. Proteobacteria: rot; PVC und FCB Gruppe: grün; Terrabacteria: blau; Acidobacteria: violett; andere Bakterien: grau.**

<sup>1</sup> Austrian Institute of Technology, Bioresources, Konrad-Lorenz-Straße 24, A-3430 Tulln

<sup>2</sup> Department für Wald und Bodenwissenschaften, Universität für Bodenkultur, Peter-Jordan-Straße 82, A-1190 Wien

<sup>3</sup> Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, Bereich Biostatistik, Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 23, D-70599 Stuttgart

<sup>4</sup> Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft, HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Raumberg 38, A-8952 Irnding-Donnersbachtal

\* Ansprechpartner: Dr. Markus GORFER, markus.gorfer@ait.ac.at



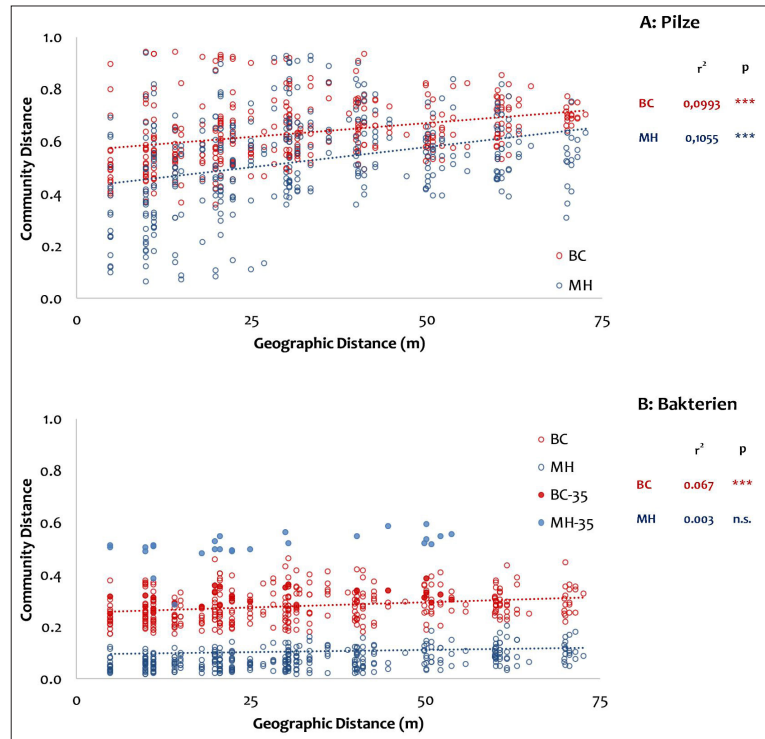
geringeren Teil zu finden. Glomeromycota, die mit den Wurzeln vieler Pflanzen die sogenannte arbuskuläre Mykorrhiza ausbilden können, kommen nur zu einem sehr geringen Anteil in den Böden vor. Dies entspricht der Zusammensetzung wie man sie in vielen landwirtschaftlich genutzten Böden findet (Domsch and Gams, 1970; Klaubauf *et al.*, 2010; Hartmann *et al.*, 2015; Keiblinger *et al.*, 2018). Die Ergebnisse sind in *Abbildung 1* zusammengefasst. Auffallend war die hohe Abundanz von *Purpureocillium lilacinum*. Hierbei handelt es sich um einen potenziell insektenpathogenen Ascomyzeten, der zwar aus landwirtschaftlichen Böden bekannt ist (Domsch *et al.*, 1993), nicht jedoch in diesen großen Mengen. Bei den Bakterien dominieren die Phyla Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria und Verrucomicrobia (siehe dazu *Abbildung 1*). Auch hier handelt es sich um Gruppen, die generell häufig in landwirtschaftlich genutzten Böden gefunden werden (Bergmann *et al.*, 2011; Hartmann *et al.*, 2015).

### Räumliche Effekte auf der Versuchsfläche

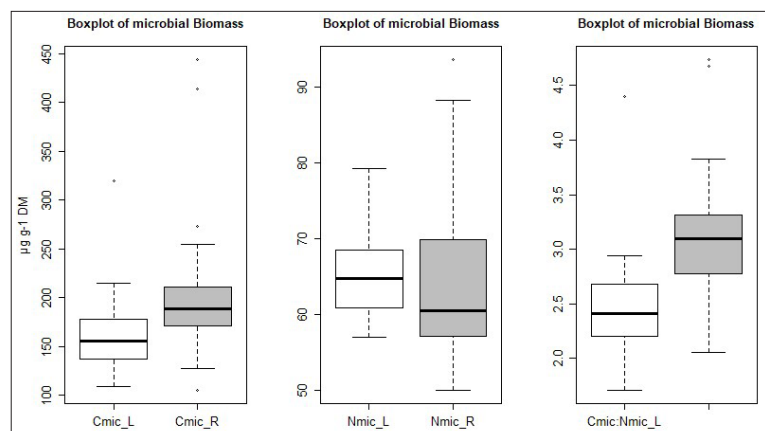
Für die Pilzgemeinschaften gibt es auf der Versuchsfläche eine deutliche räumliche Autokorrelation. Benachbarte Plots sind einander ähnlicher als weiter entfernte Plots (siehe *Abbildung 2A*). Besonders ausgeprägt ist der Unterschied zwischen der linken (= westlichen) und der rechten (= östlichen) Hälfte der Versuchsfläche, während der Unterschiede zwischen der vorderen (= nördlichen) und hinteren (= südlichen) Hälfte weniger deutlich ist. So nimmt zum Beispiel der häufigste Pilz auf der Versuchsfläche – *P. lilacinum* – von links nach rechts stark ab, während die Gattung *Fusarium* von links nach rechts ansteigt. Des Weiteren zeigt Plot 23 eine auffällig abweichende Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft. Die Art *Mucor hiemalis* ist hier überrepräsentiert, während sie auf anderen Plots gar nicht oder in sehr viel geringerer Menge vorkommt. Die Bodenprobe von Plot 23 war durch Wurzeln von *Rumex acetosa*, dem Wiesen-Sauerampfer, dominiert. Pflanzenwurzeln können über Wurzelexudate und andere Mechanismen stark die Bodenmikrobiologie beeinflussen, und vermutlich wird das Wachstum von *M. hiemalis* stark durch *R. acetosa* gefördert.

Für Bakterien kann die räumliche Autokorrelation ebenfalls, aber in geringerem Maße, beobachtet werden. Es gibt jedoch auch bei Bakterien einen Plot, der sich auffällig von allen anderen Plots unterscheidet: Plot 32 wird von *Providencia sp.* aus der Ordnung Enterobacteriales dominiert. Diese Gruppe kann in allen anderen Plots bestenfalls in sehr geringen Mengen gefunden werden. Unterschiede zwischen links und rechts können auch bei einigen bodenmikrobiologischen Sum-

menparametern beobachtet werden. So sind auf der rechten Hälfte der mikrobielle Kohlenstoff sowie das mikrobielle C/N-Verhältnis signifikant höher als auf der linken Seite (*Abbildung 3*). Bleiben diese Effekte in statistischen Modellen unbeachtet, können sie Einflüsse von CO<sub>2</sub> und Temperatur auf die mikrobiellen Gemeinschaften im Boden verschleiern.



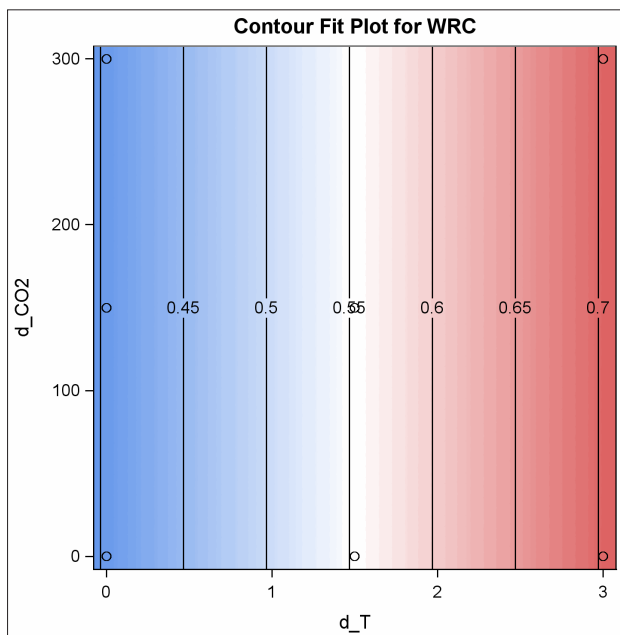
**Abbildung 2:**  $\beta$ -Diversität der Pilze (A) und Bakterien (B) im Boden der ClimGrass-Versuchsfläche. Zwei unterschiedliche Indices für  $\beta$ -Diversität – Bray-Curtis (BC) und Morisita-Horn (MH) – wurden gegen die geografische Distanz zwischen den Plots aufgetragen. Distanzen zum Plot 35 (BC-35 und MH-35) sind für die bakteriellen Gemeinschaften durch gefüllte Kreise hervorgehoben. Dieser Plot unterscheidet sich von allen anderen Plots durch eine sehr hohe Abundanz von *Providencia sp.*



**Abbildung 3:** Mikrobielle Biomasse in den Böden der ClimGrass-Versuchsfläche. Der mikrobielle Kohlenstoff ( $C_{mic}$ ), der mikrobielle Stickstoff ( $N_{mic}$ ) sowie das mikrobielle C/N-Verhältnis ( $C_{mic}:N_{mic}$ ) sind separat für die linke (L) und die rechte (R) Hälfte der Versuchsfläche dargestellt. Für  $C_{mic}$  und  $C_{mic}:N_{mic}$  sind die Unterschiede statistisch hoch signifikant.

## *Einfluss von Klimafaktoren auf die Bodenmikrobiologie*

Die Gemeinschaften der Bakterien und der Pilze reagieren auf der ClimGrass-Versuchsfläche nicht sehr deutlich auf die Erhöhung von CO<sub>2</sub> und Temperatur. Vorallem bei den häufigen Gruppen konnten keine konsistenten Veränderungen beobachtet werden, da gerade hier die räumlichen Effekte besonders stark ausgeprägt waren. Mithilfe der Response Surface Modellierung und der Mitbeachtung der räumlichen Effekte konnten jedoch Einflüsse auf weniger häufige Gruppen identifiziert werden. Besonders hervorzuheben ist hier die statistisch signifikante Zunahme von koprophilen Weißfäulepilzen in Plots mit erhöhter Temperatur (siehe *Abbildung 4*). Diese Pilze aus der Gruppe der Basidiomyceten besiedeln bevorzugt den Dung von Pflanzenfressern und können überdies Lignin abbauen. Plot 32, wo überdurchschnittlich viele Bakterien der Gattung *Providencia*, einem Darmbakterium, gefunden wurden, ist ebenfalls eine Behandlungsvariante mit erhöhter Temperatur. Es konnte beobachtet werden, dass auf den wärmeren Plots mehr Mauselöcher zu finden sind. Mäuse bevorzugen also offensichtlich die wärmeren Bereiche auf der Versuchsfläche, was möglicherweise das verstärkte Vorkommen von koprophilen Weißfäulepilzen und in speziellen Fällen von Darmbakterien erklären kann. Ähnliche Effekte wurden in landwirtschaftlichen Flächen, die mit Stallmist gedüngt werden, beobachtet (Hartmann *et al.*, 2015).



**Abbildung 4: Temperaturabhängige Häufigkeitsverteilung von koprophilen Weißfäulepilzen auf der ClimGrass-Versuchsfläche. Auf der x-Achse ist die Temperaturerhöhung zur Umgebungstemperatur in °C, auf der y-Achse die Erhöhung der CO<sub>2</sub>-Konzentration im Vergleich zur Umgebungsatmosphäre in ppm aufgetragen. Die Werte im Diagramm geben die Quadratwurzeln der relativen Häufigkeiten der koprophilen Weißfäulepilze an. Niedrige Werte sind blau markiert, hohe Werte rot.**

## Conclusio

Nach drei Jahren erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen bzw. Temperaturen gibt es kaum deutliche Effekte auf die Gemeinschaften der Pilze und Bakterien in den Böden der ClimGrass-Versuchsanlage. Es wird jedoch erwartet, dass sich die Effekte in Zukunft mit längerer Behandlungsdauer verstärken. Es konnte eine Reihe von Einflussfaktoren identifiziert werden, die es bei der Planung von Versuchen und der Auswertung der Ergebnisse zu beachten gilt. So gibt es auf der Versuchsfläche Unterschiede zwischen der linken und der rechten Hälfte. Überdies ist die Artenzusammensetzung der Pflanzendecke unterschiedlich, was mikrobielle Prozesse im Boden beeinflussen kann. Für viele Untersuchungen ist die benötigte Probenmenge nur sehr klein. Für die DNA-Isolierung wurde nur 1 g Boden verwendet. Die geringe Größe der Plots erlaubt es jedoch nicht, dass für jede Untersuchung mehrfache Proben gezogen werden, um nachher Mischproben herstellen zu können. Es ist also notwendig zusätzliche Einflussfaktoren, wie die Artenzusammensetzung der Wurzeln, mit zu erfassen. Zu guter Letzt kann es Phänomene wie verändertes Verhalten von Tieren geben, die direkt mit den Behandlungsvarianten – z.B. Erwärmung – auf der Versuchsfläche in Verbindung stehen, die aber eher typisch für die kleinflächigen Unterschiede sind. Mäuse mögen wärmere Plots bevorzugen, würden aber bei großflächigen Erwärmungen nicht unbedingt vermehrt vorkommen. Ähnliche Phänomene wurden auch auf anderen Versuchsflächen zu Klimawandelexperimenten beobachtet (Moise and Henry, 2010).

Wenn störende Einflussfaktoren in den statistischen Modellen miteinbezogen werden, wird es in Zukunft möglich sein, direkte und indirekte Klimawandeleffekte auf die mikrobiellen Gemeinschaften im Boden und die damit verbundenen Prozesse feststellen können. Ein Wissen um die Veränderungen kann dabei helfen, negative Auswirkungen des Klimawandels auf die Landwirtschaft zu minimieren.

## Literatur

- Austin, E.E.; H.F. Castro, K.E. Sides, C.W. Schadt and A.T. Classen (2009): Assessment of 10 years of CO<sub>2</sub> fumigation on soil microbial communities and function in a sweetgum plantation. *Soil Biol Biochem* 41: 514-520.
- Bergmann, G.T.; S.T. Bates, K.G. Eilers, C.L. Lauber, J.G. Caporaso, W.A. Walters, R. Knight and N. Fierer (2011): The underrecognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem* 43: 1450-1455.
- Castro, H.F.; A.T. Classen, E.E. Austin, R.J. Norby and C.W. Schadt (2010): Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Appl Environ Microbiol* 76: 999-1007.
- Deltedesco, E.; K.M. Keiblinger, M. Naynar, H.-P. Piepho, M. Gorfer, M. Herndl, M. Bahn, E.M. Pötsch and S. Zechmeister-Boltenstern (2019): Trace gas fluxes from managed grassland soil subject to multifactorial climate change manipulation. *Appl Soil Ecol* 137: 1-11.
- Domsch, K.H. und W. Gams (1970): *Pilze aus Agrarböden*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Domsch, K.H.; W. Gams and T.-H. Anderson (1993): *Compendium of Soil Fungi*. Eching, Germany: IHW-Verlag.
- Hartmann, M.; B. Frey, J. Mayer, P. Mader and F. Widmer (2015): Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J* 9: 1177-1194.

- Hungate, B.A.; E.A. Holland, R.B. Jackson, F.S. Chapin III, H.A. Mooney and C.B. Field (1997): The fate of carbon in grasslands under carbon dioxide enrichment. *Nature* 388: 576.
- Janus, L.R.; N.L. Angeloni, J. McCormack, S.T. Rier, N.C. Tuchman and J.J. Kelly (2005): Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> alters soil microbial communities associated with trembling aspen (*Populus tremuloides*) roots. *Microb Ecol* 50: 102-109.
- Keiblinger, K.M.; M. Schneider, M. Gorfer, M. Paumann, E. Deltedesco, H. Berger, L. Jochlinger, A. Mentler, S. Zechmeister-Boltenstern and G. Soja *et al.* (2018): Assessment of Cu applications in two contrasting soils-effects on soil microbial activity and the fungal community structure. *Ecotoxicology* 27: 217-233.
- Klaubauf, S.; E. Inselsbacher, S. Zechmeister-Boltenstern, W. Wanek, R. Gottsberger, J. Strauss and M. Gorfer (2010): Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria. *Fungal Divers* 44: 65-75.
- Kuzyakov, Y.; W.R. Horwath, M. Dorodnikov and E. Blagodatskaya (2019): Review and synthesis of the effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on soil processes: No changes in pools, but increased fluxes and accelerated cycles. *Soil Biol Biochem* 128: 66-78.
- Lesaulnier, C.; D. Papamichail, S. McCorkle, B. Ollivier, S. Skiena, S. Taghavi, D. Zak and D. van der Lelie (2008): Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> affects soil microbial diversity associated with trembling aspen. *Environ Microbiol* 10: 926-941.
- Lipson, D.A.; M. Blair, G. Barron-Gafford, K. Grieve and R. Murthy (2006): Relationships between microbial community structure and soil processes under elevated atmospheric carbon dioxide. *Microb Ecol* 51: 302-314.
- Lipson, D.A.; R.F. Wilson and W.C. Oechel (2005): Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on soil microbial biomass, activity, and diversity in a chaparral ecosystem. *Appl Environ Microbiol* 71: 8573-8580.
- Moise, E.R.D. and H.A.L. Henry (2010): Like moths to a street lamp: exaggerated animal densities in plot-level global change field experiments. *Oikos* 119: 791-795.
- Phillips, R.P.; A.C. Finzi and E.S. Bernhardt (2011): Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO<sub>2</sub> fumigation. *Ecol Lett* 14: 187-194.
- Piepho, H.P.; M. Herndl, E.M. Pötsch and M. Bahn (2017): Designing an experiment with quantitative treatment factors to study the effects of climate change. *J Agron Crop Sci* 203: 584-592.
- World-Meteorological-Organization (2017): WMO Greenhouse Gas Bulletin, The State of Greenhouse Gases in the Atmosphere Based on Global Observations through 2016.