
Mikrobieller Totholzabbau in gemäßigten Wald- und Grünlandökosystemen

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades einer
Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
an der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften
der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Lydia Kipping
aus Rochlitz

Bayreuth, 2025

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von 02/2020 bis 12/2025 in Coburg am Institut für Bioanalytik der Fakultät Angewandte Naturwissenschaften und Gesundheit unter Betreuung von Herrn Professor Dr. Matthias Noll angefertigt. Die Datenerhebung und Auswertung erfolgten am Umweltforschungszentrum in Leipzig unter der Betreuung von Dr. Nico Jehmlich.

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. Nat.).

Art der Dissertation: Kumulative Dissertation

Dissertation eingereicht am: 02.12.2025

Zulassung durch die Promotionskommission: 10.12.2025

Wissenschaftliches Kolloquium: 27.04.2026

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Janosch Hennig

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. Matthias Noll (Gutachter)

Prof. Dr. Claus Bässler (Gutachter)

PD Dr. Alfons Weig (Vorsitz)

Prof. Dr. Eva Lehndorff

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Zusammenfassung.....	V
Abstract	VII
1. Einleitung.....	1
1.1 Anatomische und chemische Struktur des Holzes	1
1.2 Holzzersetzende Pilze und ihre ökophysiologische Einteilung.....	4
1.3 Enzymatischer und hydrolytischer Totholzabbau der Pilze	5
1.3.1 Oxidativer Abbau von Lignin und Lignocellulose	6
1.3.2 Enzymatische Hydrolyse und Oxidation der Polysaccharide	7
1.4 Stand der Totholzforschung in gemäßigten Breiten	9
1.4.1 Methoden und Versuchsdesigns in der Totholzforschung.....	9
1.4.2 Intrinsischer Einfluss der Baumartenidentität und substratspezifischer Eigenschaften	10
1.4.3 Extrinsischer Einfluss definiert durch die Ökosysteme Wald und Grünland.....	11
1.4.4 Totholzbiozönosen und funktionelle Mechanismen der Totholzzersetzung	14
1.5 Zielsetzung und Forschungsfragen.....	16
2 Untersuchungsflächen, Material und Methoden	18
2.1 Biodiversitäts-Exploratorien.....	18
2.2 Untersuchung des Masseverlusts und der Emissionsraten	19
2.3 Metaproteomische Analyse der Totholzgemeinschaften	20
3 Synopsis.....	22
3.1 Ökosystemspezifische Einflussfaktoren der Totholzzersetzung	22
3.2 Intrinsische versus extrinsische Einflussfaktoren der mikrobiellen Aktivität in Totholzbiozönosen	25
3.2.1 Beziehung zwischen Emissionsraten und Masseverlust	26
3.2.2 Einflussfaktoren auf die CO ₂ -Emissionsraten	28
3.2.3 Totholz als CH ₄ -Quelle	30
3.3 Funktionelle Mechanismen saprotropher Pilze beim Totholzabbau	32
3.3.1 Ökophysiologische Struktur der Pilzgemeinschaften.....	32
3.3.2 Lignocellulolytische Enzyme der pilzlichen Totholzbiozönosen.....	33
3.3.3 Funktionelle Redundanz der lignocellulolytischen Enzyme trotz Wirtsspezifität	36
3.4 Synthese und Schlussfolgerung.....	39
3.4.1 Einfluss der ökosystemabhängigen Totholzbesiedlung auf die Zersetzungsprozesse	41
3.4.2 Ökosystembedingte Gewichtung der intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren.....	42

3.4.3 Funktionale Redundanz lignocellulolytischer Enzyme als Grundlage der Stabilität von Ökosystemfunktionen	44
3.5 Fazit	46
4 Literaturverzeichnis	47
5 Darstellung des Eigenanteils und Publikationen.....	65
5.1 Darstellung des Eigenanteils.....	65
5.2 Publikation 1.....	66
5.3 Publikation 2.....	93
5.4 Publikation 3.....	128
5.5 Auflistung aller Publikationen	169
6 Anhang.....	170
6.1 Enzymverzeichnis	170
6.2 Tabellen	173
6.3 Abbildungen	177
7 Danksagung.....	179
8 (Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen	181

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
AA	Hilfsaktivitäten (<i>engl.: auxiliary activities</i>)
BElongDead	<i>engl.: Biodiversity Exploratories Longterm Deadwood</i>
CAZy/CAZyme	kohlenhydrataktive Enzyme
CE	Kohlenhydrat-Esterasen (<i>engl.: carbohydrate esterases</i>)
CH ₄	Methan
CO ₂	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DyP	" <i>dye-decolorizing</i> " Peroxidase
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
ForMI	Waldbewirtschaftungsintensitätsindex
GH	Glykosidhydrolasen (<i>engl.: glycoside hydrolases</i>)
GT	Glykosyltransferasen (<i>engl.: glycosyltransferases</i>)
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₂ Q	Hydrochinon
HPLC	<i>engl.: high-performance liquid chromatography</i>
ITS2	<i>engl.: internal transcribed spacer</i>
km ²	Quadratkilometer
LPMO	lytische Polysaccharid-Monooxygenase
LUI	Landnutzungsintensitätsindex
m ü. NN	Höhe über Normal-Null
Mg C ha ⁻¹	Megagramm Kohlenstoff pro Hektar
mm	Milimeter
MS	Massenspektrometer
NSAF	normalisierter spektraler Abundanzfaktor (<i>engl.: normalized spectral abundance factor</i>)
O ₂	molekularer Sauerstoff
OTU	<i>engl.: operational taxonomic units</i>
PCWDE	<i>engl.: Plant cell wall degrading enzymes</i>
PL	Polysaccharid-Lyasen (<i>engl.: polysaccharide lyases</i>)
UPO	unspezifische, aromatische Peroxidase
Vol.	Volumen

Zusammenfassung

Totholz ist ein strukturgebendes Habitat und Substrat für viele Makro- und Mikroorganismen. Die diversen Totholzgemeinschaften (Biozönosen) beinhalten saprotrophe Organismen, die das Pflanzenmaterial kontinuierlich über mehrere Zersetzungsstadien in Humus transformieren. Dadurch stellt Totholz eine entscheidende Kohlenstoff- und Nährstoffquelle dar, deren Zersetzung die Ökosysteme strukturiert und zahlreiche Ökosystemfunktionen beeinflusst. Trotz dieser ökologischen Relevanz sind großangelegte Langzeitstudien zur natürlichen Totholzzersetzung weiterhin selten. Bisherige Studien untersuchten vielfältige Einflussfaktoren eher in regionalen Maßstäben und betrachteten die Diversität nur einzelner Artengruppe. Zudem basieren viele Erkenntnisse zu enzymatischen Aktivitäten auf Laborstudien mit Reinkulturen, was ihre Übertragbarkeit auf natürliche Bedingungen einschränkt.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Totholzzersetzung unter realen ökologischen Bedingungen zu untersuchen sowie die komplexen Wechselwirkungen der Zersetzungsprozesse mit intrinsischen Einflussfaktoren (Baumart) und extrinsischen Einflussfaktoren (Umweltfaktoren und anthropogene Einflüsse) zu analysieren. Zudem wird ein mechanistisches Verständnis durch die Erfassung der Artenvielfalt und enzymatischen Aktivitäten der Totholzgemeinschaften angestrebt. Die zugehörigen Experimente gehörten zur BELongDead-Studie der Biodiversitäts-Exploratorien, was ein standardisiertes Versuchsdesign in verschiedenen geografischen Regionen Deutschlands sowie zwei Ökosystemen (Wald und Grünland) ermöglichte. Die Einflussfaktoren der Totholzzersetzung wurden anhand standardisierter Holzklötze von 13 gemäßigten Baumarten untersucht. Diese Holzklötze durchliefen eine einjährige Zersetzung und danach wurden die Zersetzungsraten anhand des Masseverlusts ermittelt. Parallel dazu wurde die mikrobielle Aktivität der Totholzbiozönosen analysiert, wobei die Emissionsraten von Kohlendioxid (CO₂) und Methan (CH₄) zur Quantifizierung herangezogen wurden. Für beide Zersetzungsprozesse wurden die Einflussfaktoren mithilfe linearer gemischter Modelle bestimmt. Eine metaproteomische Untersuchung führte schließlich zum mechanistischen Verständnis des Lignocelluloseabbaus und der dabei sezernierten Enzyme. Diese Untersuchung konzentrierte sich auf die Pilzgemeinschaften nach 8½ Jahren der Zersetzung von Totholzstämmen.

Das Holzklötze-Experiment belegte die Totholzzersetzung in beiden Ökosystemen. Die Zersetzung und die daran beteiligten mikrobiellen Aktivitäten wurden nicht nur im Wald, sondern auch im Grünland beobachtet. Dabei erwies sich die Baumart als zentraler und ökosystemübergreifender Einflussfaktor, der sowohl den Masseverlust als auch die CO₂-Emissionsraten beeinflusste. Allerdings variierte die Stärke dieses Einflusses zwischen den Ökosystemen. Während der Masseverlust in beiden Ökosystemen durch ähnliche Holzeigenschaften geprägt wurde, zeichnete sich bei den CO₂-Emissionsraten eine Verschiebung hin zu einem stärkeren Einfluss extrinsischer Faktoren ab. Die Emissionsraten wurden von den Umweltbedingungen und Managementintensitäten beeinflusst, während zugleich der Masseverlust lediglich Unterschiede zwischen den geographischen Regionen und den damit verbundenen klimatischen Bedingungen zeigte.

Die Zersetzungsraten der Holzklötze waren im Wald insgesamt höher als im Grünland, was auf deutliche Unterschiede in den Totholzbiozönosen zurückzuführen war. Die Analysen von Masseverlust und CO₂-Emissionsraten deuteten darauf hin, dass im Wald vor allem Pilze mit einem genetischen Potenzial zum Lignocelluloseabbau vorherrschten. Im Grünland hingegen verschob sich das Artenspektrum zugunsten holzbewohnender Organismen, die nicht direkt am Zersetzungsprozess beteiligt waren. Bestärkt wurden diese Ergebnisse durch eine Metabarcoding-Analyse der Holzklötze

außerhalb dieser Dissertation. Diese detektierte im Wald vorwiegend Basidiomycota, während im Grünland hauptsächlich Ascomycota die Holzklötze besiedelten. Die Beteiligung dieser Pilze beim Lignocelluloseabbau wurde durch die Metaproteom-Analyse der Totholzstämmen belegt. Basidiomycota produzierten in Angiospermen und Gymnospermen eine bedeutende Menge an ligninolytischen Enzymen, während ligninolytische Aktivitäten bei Ascomycota überwiegend auf Angiospermen beschränkt waren. Cellulolytische Enzyme wurden hingegen von allen Fäulnisarten produziert. Der hohe Anteil von Ascomycota am Celluloseabbau war durchaus neu und erklärte die moderaten Zersetzungsraten der Holzklötze im Grünland, die vorrangig von dieser Pilzgattung besiedelt wurden. Dies verdeutlicht, dass im Grünland ein effizienter Celluloseabbau stattfand, während die mikrobiellen Gemeinschaften eine geringere Spezialisierung für den Ligninabbau aufwiesen.

Interessanterweise wiesen Grünlandflächen trotz geringerer Zersetzungsraten einen höheren Artenreichtum auf als Wälder. Diese Beobachtung ließ auf kompetitive Interaktionen innerhalb der Totholzbiozönosen schließen und äußerte sich in steigendem Artenreichtum mit reduzierten lignocellulolytischen Enzymproduktionen. Während saprotrophe Pilze mit anderen Mikroorganismen um die Ressource Holz konkurrierten, traten untereinander Koexistenz und Interaktionen auf, um Ökosystemfunktionen, wie die Totholzzersetzung, aufrechtzuerhalten. Solche Koexistenz und Interaktionen wurden innerhalb der metaproteomischen Totholzgemeinschaften beobachtet. In allen Proben der Totholzstämmen wurde trotz Baumartspezifität und der damit verbundenen Spezialisierung der Pilze das gleichzeitige Vorkommen von cellulolytischen, hemicellulolytischen und ligninolytischen Enzymen festgestellt. Vor allem Generalisten sekretierten ein umfassendes Spektrum an Enzymen, die sowohl Polysaccharide als auch Lignin modifizieren. Der bedeutendste Generalist und die abundanteste Pilzgattung auf Metaproteomebene war *Armillaria* (> 20 %). Weitere Pilzgattungen wie *Mycena*, *Hyaloscypha* und *Sistoterna*, die ebenfalls ein breites Enzymspektrum sekretierten, waren zudem in allen Experimenten und beiden Ökosystemen präsent. Diese Beobachtung zeigte, dass die taxonomischen Gemeinschaften zwar Spezialisierungen in Bezug auf die Zielsubstrate und Ökosystemfunktionen aufwiesen, innerhalb der Kerngemeinschaft jedoch eine latente funktionelle Redundanz bestand, die das genetische Potenzial für den Lignocelluloseabbau teilte.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die Baumart ein zentraler Einflussfaktor der Totholzzersetzung war, während die mikrobiellen Aktivitäten der Totholzbiozönosen gleichzeitig einem stärkeren Einfluss extrinsischer Faktoren unterlagen. Dies resultierte in baumartspezifischen Biozönosen, die eine Kerngemeinschaft aus generalistischen Saprophyten aufwiesen. Diese Generalisten ermöglichten den Lignocelluloseabbau und unterstützen die ökosystemübergreifende Totholzzersetzung im Grünland. Insgesamt deuten diese Beobachtungen auf eine ausgeprägte Widerstandsfähigkeit und Resilienz der Ökosystemfunktion hin und bieten Ansatzpunkte für zukünftige Bewertungen der Auswirkungen anthropogener Einflüsse auf den Kohlenstoff- und Nährstoffkreislauf.

Abstract

Deadwood is a structuring habitat and substrate for many macro- and microorganisms. The diverse deadwood communities (biocoenoses) include saprotrophic organisms that continuously transform plant material into humus through multiple decomposition stages. Consequently, deadwood represents a crucial carbon and nutrient source, shaping ecosystems and influencing numerous ecosystem functions. Despite this ecological relevance, large-scale long-term studies on natural deadwood decomposition remain rare. Most previous studies have examined various influencing factors at regional scales and have focused on the diversity of only individual species groups. Moreover, current findings on enzymatic activities are often derived from laboratory studies with pure cultures, limiting their applicability to natural conditions.

This study investigates deadwood decomposition under real ecological conditions, analysing the complex interactions between decomposition processes and both intrinsic factors (tree species) and extrinsic factors (environmental and anthropogenic influences). Additionally, a mechanistic understanding is obtained by assessing the diversity and enzymatic activities of deadwood communities. The related experiments were part of the BELongDead subproject within the Biodiversity Exploratories, which enabled a standardized experimental design across various geographical regions of Germany and two ecosystems (forest and grassland). Key decomposition factors were examined using standardized woodblocks from 13 temperate tree species. These blocks underwent a one-year decomposition period, after which decay rates were determined based on mass loss. Simultaneously, the microbial activity of deadwood biocoenoses was quantified by measuring emission rates of carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄). The factors influencing both decomposition processes were then analysed using linear mixed models. Additionally, metaproteomic analysis provided insights into the functional processes and the enzymes involved in lignocellulose degradation, with a particular focus on fungal communities after 8½ years of deadwood log decomposition.

The woodblock experiment confirmed deadwood decomposition in both ecosystems. Decomposition and the associated microbial activities occurred not only in forests but also in grasslands. Tree species emerged as a key cross-ecosystem influencing factor, affecting mass loss and CO₂ emission rates. However, the strength of this influence varied between ecosystems. While mass loss was shaped by similar wood properties in both ecosystems, CO₂ emission rates shifted towards a stronger influence of extrinsic factors. Emission rates were affected by environmental conditions and management intensities, whereas mass loss primarily differed between geographical regions and their associated climatic conditions.

Decomposition rates were generally higher in forests than in grasslands, reflecting substantial differences in the deadwood biocoenoses of these ecosystems. The analysis of mass loss and CO₂ emission rates revealed that forests were dominated by fungi with genetic potential for lignocellulose degradation. In contrast, grassland communities consisted mainly of wood-inhabiting organisms, not directly involved in decomposition. An external metabarcoding analysis of the woodblock, independent of this dissertation, confirmed these findings, detecting primarily Basidiomycota in forests and Ascomycota in grasslands. Further, the involvement of these fungi in lignocellulose degradation was shown by the metaproteomic analysis of deadwood logs. Basidiomycota produced significant amounts of ligninolytic enzymes in angiosperms and gymnosperms, while ligninolytic activity in Ascomycota was mainly restricted to angiosperms. In contrast, cellulolytic enzymes were secreted by all decay types. The strong involvement of Ascomycota in cellulose degradation was a

novel finding and explained the moderate decomposition in grasslands, where this fungal group dominated. This highlights the efficient cellulose degradation in grasslands, while microbial communities exhibited lower specialization in lignin degradation.

Interestingly, grasslands exhibited higher fungal species richness than forests, despite lower decomposition rates. This could be attributed to competitive interactions within wood-dwelling fungal communities, leading to higher species richness and reduced decomposition rates. While saprotrophic fungi competed with other microorganisms for wood resources, coexistence and interactions among themselves maintained ecosystem functions such as deadwood decomposition. Such interactions were evident in the metaproteomic analysis of deadwood communities. Despite tree species specificity and the resulting fungal specialization, all deadwood logs exhibited a simultaneous presence of cellulolytic, hemicellulolytic, and ligninolytic enzymes. Generalists, in particular, secreted a broad spectrum of enzymes that modified both polysaccharides and lignin. The dominant generalist and most abundant fungal genus at the metaproteome level was *Armillaria* (> 20 %). Other fungal generalists, such as *Mycena*, *Hyaloscypha*, and *Sistotrema*, which also secreted a broad enzymatic spectrum, were detected across all experiments and ecosystems. This observation indicated that although taxonomic communities exhibited substrate and function-specific specialization, a latent functional redundancy existed within the core community, sharing the genetic potential for lignocellulose decomposition.

In summary, the results demonstrate that tree species were key factors in deadwood decomposition, while microbial activities within deadwood biocoenoses were more strongly influenced by extrinsic factors. This resulted in tree species-specific biocoenoses containing a core community of generalist saprotrophs. These generalists enabled lignocellulose degradation and supported cross-ecosystem deadwood decomposition in grasslands. Overall, these findings indicate a pronounced resilience and resistance of this ecosystem function and provide a foundation for future assessments of anthropogenic impacts on carbon and nutrient cycling.

1. Einleitung

In den letzten Jahren haben Veränderungen der globalen Artenvielfalt, bedingt durch Klimawandel und anthropogene (menschengemachte) Einflüsse, zunehmende Aufmerksamkeit in der Biodiversitätsforschung erhalten (Johnson et al. 2017). Deutliche Veränderungen der Biodiversität wirken sich unmittelbar auf die Funktionalität von Ökosystemen aus (Schulze et al. 2016). Trotz intensiver Forschung bestehen weiterhin erhebliche Wissenslücken, insbesondere im Hinblick auf die taxonomische und funktionelle Diversität, räumliche Muster und zeitliche Dynamiken. Die Biodiversitäts-Exploratorien stellen eine vielversprechende Forschungsplattform dar, um diese Wissenslücken zu schließen. Seit ihrer Einrichtung im Jahr 2009 ermöglichen sie die langfristige Untersuchung der Biodiversität in verschiedenen Regionen Deutschlands. Jede Region umfasst natürliche und landwirtschaftlich genutzte Flächen, die sich in Geologie, Vegetation und Klimabedingungen unterscheiden (Fischer et al. 2010).

Ein zentraler Bestandteil dieser Biodiversitäts-Exploratorien ist die Untersuchung von Totholz, das einen äußerst diversen und artenreichen Lebensraum für zahlreiche Organismen darstellt. Zu diesen Arten gehören saprotrophe Organismen, die etwa 20–25 % der waldbewohnenden Biodiversität ausmachen (Siitonen 2001). Diese saprotrophen Organismen spielen eine entscheidende Rolle im globalen Kohlenstoff- und Nährstoffkreislauf, indem sie gebundenen Kohlenstoff aus abgestorbenem Pflanzenmaterial durch Zersetzungsprozesse freisetzen. Die Kohlenstoffaufnahme und -speicherung in Pflanzen, insbesondere in Bäumen, erfolgen zuvor während der Photosynthese. Dabei nehmen Pflanzen Kohlendioxid (CO_2) aus der Atmosphäre auf, setzen molekularen Sauerstoff (O_2) frei und speichern den verbleibenden Kohlenstoff in ihrer Biomasse. Diese Kohlenstoffspeicher variieren erheblich zwischen den drei großen Lebensräumen und geografischen Regionen. In terrestrischen Ökosystemen stellen Feuchtgebiete, wie Feuchtwiesen, Moor- und Sumpfgebiete oder Gewässer, mit einem durchschnittlichen Gehalt von 247 Megagramm Kohlenstoff pro Hektar (Mg C ha^{-1}) den größten Kohlenstoffspeicher dar (Hendriks et al. 2020). Wälder folgen mit einer Speicherkapazität von 115 Mg C ha^{-1} , wobei 44 % im Boden, 42 % in ober- und unterirdischer Biomasse, 8 % in Totholz und 5 % in Streu gebunden sind (Pan et al. 2011). Im Vergleich dazu speichern spärlich bewachsene Flächen wie Heidelandschaften (88 Mg C ha^{-1}), Gebüsche (12 Mg C ha^{-1}) und Grünland (5 Mg C ha^{-1}) deutlich weniger Kohlenstoff (Hendriks et al. 2020).

In gesunden Ökosystemen wird der Kohlenstoffkreislauf durch ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der Kohlenstoffaufnahme durch Photosynthese (Harmon et al. 1986) und der Zersetzung von abgestorbenem Pflanzenmaterial aufrechterhalten (Holzwarth et al. 2013). Dieses Gleichgewicht ist jedoch empfindlich gegenüber Veränderungen, die dazu führen können, dass Ökosysteme von einer Kohlenstoffsенке zu einer Kohlenstoffquelle werden (Kurz et al. 2008). Der Mittelpunkt dieser Arbeit liegt darin, ein Verständnis dafür zu gewinnen, welche Einflussfaktoren das Gleichgewicht durch veränderte Zersetzungsprozesse beeinträchtigen.

1.1 Anatomische und chemische Struktur des Holzes

Die Zersetzungsdynamik abgestorbener Pflanzenmaterialien wird durch deren strukturellen, anatomischen und chemischen Aufbau bestimmt. Insbesondere Totholz bietet eine große strukturelle Vielfalt hinsichtlich Form (z. B. dünne Zweige vs. dicke Stämme), Position (stehend/liegend) und Zersetzungsgrad (frisch/vermodert), was heterogene Abbauprozesse bedingt (Harmon et al. 1986).

Ein Baumstamm weist eine komplexe anatomische Organisation auf, die sich im Querschnitt von außen nach innen in Rinde (Cortex), Kambium, Holz (Xylem) und Mark (Medulla) gliedert. Die Rinde besteht

aus einer äußeren Borke und einer inneren Bastschicht. Zwischen Bast und Holz liegt das Kambium, eine dünne, teilungsfähige Wachstumsschicht, die das sekundäre Dickenwachstum ermöglicht. Den größten Anteil des Stammes nimmt das Holz ein, das sich meist in Splint- und Kernholz unterteilen lässt. Das Splintholz enthält noch lebende Zellen und ist für den Wassertransport verantwortlich. Das Kernholz ist grundsätzlich physiologisch inaktiv, zeigt eine dunklere Färbung und durchläuft den Prozess der Verkernung, bei dem die parenchymatischen Zellen absterben. In gemäßigten Breiten kann das Holz infolge der jahreszeitlichen Vegetationsphasen charakteristische Jahresringe bzw. Zuwachszonen ausbilden. Diese entstehen durch die Bildung von hellem, porösem Frühholz und dunklerem, dichterem Spätholz. Das im Frühjahr gebildete Frühholz gewährleistet einen effizienten Wassertransport zu Beginn der Vegetationsperiode. Das im Sommer angelegte Spätholz dient vor allem der mechanischen Stabilisierung des Stammes (Fengel und Wegener 2003; Grosser 2007).

Ein weiteres charakteristisches Merkmal des Baumstammes ist die funktionelle Differenzierung der Gewebe. Grundsätzlich werden drei Haupttypen funktioneller Gewebe unterschieden: Festigungsgewebe zur Stabilisierung, Leitgewebe für den Transport von Wasser (H_2O) und Nährstoffen sowie Speichergewebe zur Einlagerung von Reservestoffen. Die Ausdifferenzierung der spezifischen Gewebetypen erfolgt in Anpassung an die physiologischen Anforderungen der jeweiligen Baumart. Deutliche Unterschiede sind dabei zwischen Nadel- und Laubbäumen erkennbar (Grosser 2007). Laubbäume, die überwiegend zu den zweikeimblättrigen Bedecktsamern (Angiospermen) gehören, verfügen über ein komplexes Leitgewebe mit weitleumigen Tracheen und spezialisierten Stützzellen. Die morphologische Anordnung und Größe der Gefäße ermöglicht zudem eine Einteilung in ringporige, zerstreutporige und halbringporige Laubhölzer. Ringporige Holzarten (wie Edelkastanie, Eiche, Esche und Ulme) besitzen im Frühholz besonders weite und ringförmig angeordnete Gefäße, denen zum Spätholz hin deutlich kleinere Gefäße folgen. Zerstreutporige Hölzer (wie Ahorn, Birke, Linde, Pappel und Rotbuche) zeigen dagegen über den gesamten Jahrring hinweg geringe Unterschiede in der Verteilung und Größe der Gefäße. Im Gegensatz zu den Laubbäumen zählen Nadelbäume meist zu den Nacktsamern (Gymnospermen) und besitzen ein anatomisch einfacheres Holz, in dem Tracheiden sowohl Leitungs- als auch Stützfunktionen übernehmen. Zusätzlich werden Harzkanäle als Schutzmechanismus gegen biotische Angriffe ausgebildet. In Nadelhölzern sind die Zellen des Frühholzes weitleumig und dünnwandig, während im Spätholz englumige, dickwandige Zellen dominieren. Diese Unterschiede führen zu den charakteristischen Farb- und Härteunterschieden innerhalb der Jahresringe.

Obwohl Angio- und Gymnospermen in ihrer anatomischen Struktur deutliche Unterschiede aufweisen, ist die chemische Zusammensetzung weitgehend ähnlich. Holz besteht überwiegend aus den polymeren Verbindungen Cellulose, Hemicellulose und Lignin, die gemeinsam das komplexe Netzwerk der Lignocellulose (Abb. 1) bilden (Petridis und Smith 2018). Diese Komponenten stellen die Hauptbestandteile der pflanzlichen Zellwände dar und verleihen dem Holz seine Stabilität. Je nach Baumart variiert jedoch deren Anteil sowie das Vorkommen von Nebenbestandteilen wie Strukturproteinen, Pektinen, Terpenen, Harzen und phenolischen Verbindungen (Fengel und Wegener 2003).

Der Hauptbestandteil von Lignocellulose und die häufigste Strukturfaser von Pflanzen ist Cellulose, die etwa 40–50 % der Trockenmasse ausmacht (Bidlack 1992; Eriksson et al. 2012). Die **Cellulose** besteht aus linearen, langkettigen Homopolysacchariden von D-Glucose-Untereinheiten (Abb. 1B), die durch β -1,4-glycosidische Bindungen miteinander verbunden sind (Sjöström 2013). Diese Homopolysaccharide bilden dichte Mikrofibrillen durch intermolekulare Wasserstoffbrücken-

bindungen und Van-der-Waals-Kräfte, deren Ausrichtung in den pflanzlichen Zellwandschichten unterschiedlich ist. Zwischen diesen teilweise kristallinen Cellulose-Mikrofibrillen sind Hemicelluloseeinheiten, aromatische Lignineinheiten oder Pektin eingelagert, was die komplexe und starre Struktur der Holzzellen bedingt (Bidlack 1992; Eriksson et al. 2012). Das kurze, komplexe Kohlenhydratpolymer **Hemicellulose** besteht aus einer Vielzahl von Monomeren wie D-Xylose, D-Mannose, D-Galactose, D-Glucose, L-Arabinose, 4-O-Methyl-Glucuronsäure, D-Galacturonsäure und D-Glucuronsäure (Abb. 1B) (Sjöström 2013). Diese Monomere sind durch β -1,4- und gelegentlich β -1,3-glycosidische Bindungen miteinander verbunden, welche eine amorphe Struktur verursachen. Die Hauptbestandteile der Hemicellulose variieren zwischen Baumarten. In Angiospermen dominieren Xylane und einige Glucomannane, während in Gymnospermen hauptsächlich Galactoglucomannane und Arabinoglucuronoxylan enthalten sind (Thompson 2000). **Lignin** stellt den besonders rekalzitranen Bestandteil der Lignocellulose dar (Higuchi 1990). Dieses aromatische Heteropolymer besteht aus Phenylpropaneinheiten (Abb. 1B), die durch Kohlenstoff-Kohlenstoff- und Arylether-Bindungen miteinander verbunden sind. Diese Bindungen entstehen durch enzymkatalysierte Radikalkopplung (Vanholme et al. 2010), was Lignin besonders resistent gegen den mikrobiellen Abbau macht, da es von hydrolytischen Enzymen nur schwer oder gar nicht aufgespalten werden kann.

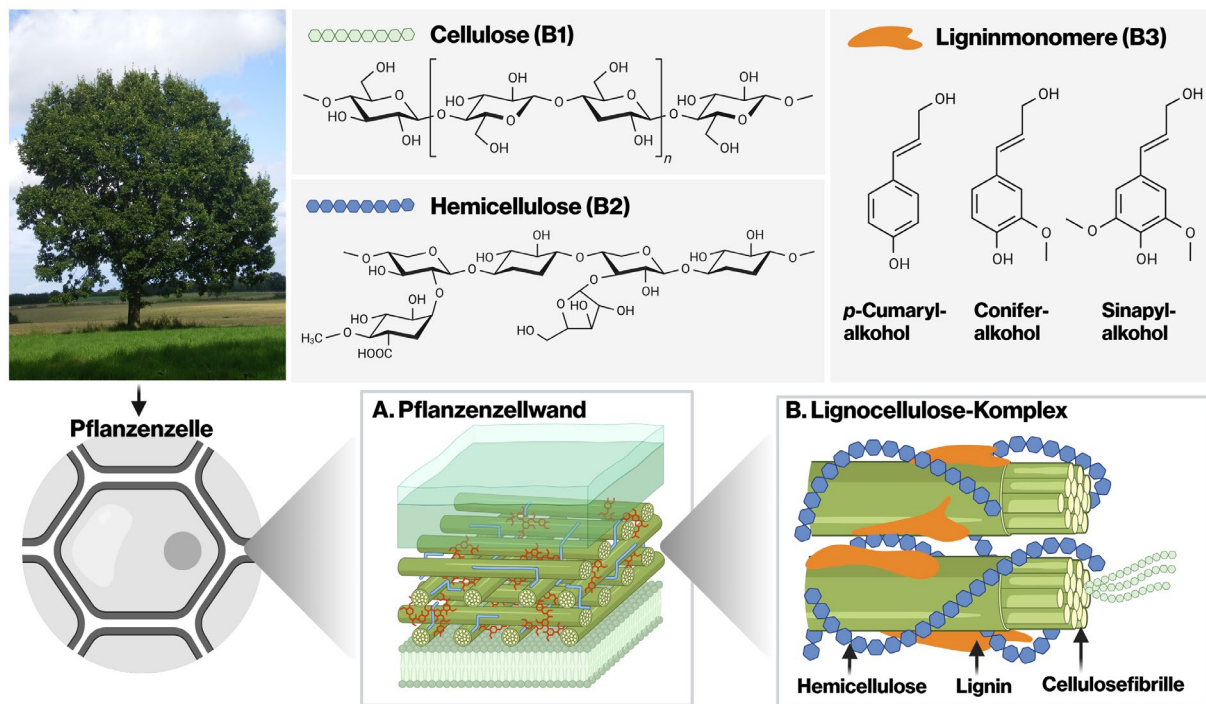


Abbildung 1. Vereinfachte schematische Darstellung der pflanzlichen Zellwand und des Lignocellulose-Komplexes. Die **Pflanzenzellwand (A)** setzt sich aus verschiedenen Schichten zusammen: Mittellamelle, Primärwand, Sekundärwand und Tertiärwand (von innen nach außen). Ihre Hauptbestandteile sind Cellulose, Hemicellulose, Pektin und Lignin sowie Strukturproteine und verschiedene Extraktstoffe. Das lineare Homopolysaccharid **Cellulose (B1)**, das komplexe Kohlenhydratpolymer **Hemicellulose (B2)** und das Heteropolymer **Lignin (B3)** bilden gemeinsam das komplexe Netzwerk der **Lignocellulose (B)** (modifiziert nach Petridis und Smith (2018) und erstellt in BioRender. Kipping, L. (2024) BioRender.com/y22a679).

1.2 Holzzeretzende Pilze und ihre ökophysiologische Einteilung

Totholz dient als Lebensraum für zahlreiche Organismen, darunter Pilze, Prokaryoten, Nematoden und Arthropoden (Seibold et al. 2019; Baldrian et al. 2016; Moll et al. 2018), sowie für Säugetiere, Amphibien und Vögel (Rondeux und Sanchez 2010; Baldrian 2017). Die Gesamtheit dieser Arten, die innerhalb des abgegrenzten Lebensraums Totholz miteinander interagieren, wird als Totholzbiozönose bezeichnet. Innerhalb dieser Biozönose nehmen Pilze eine zentrale Rolle ein, da sie zum Abbau von Lignocellulose befähigt sind. Mithilfe eines breiten Repertoires an extrazellulären Enzymen und radikalbasierten Oxidationsmechanismen können sie sowohl die polymeren Kohlenhydrate als auch Lignin abbauen (Floudas et al. 2012; Stokland et al. 2012; Lundell et al. 2014). Die artspezifischen Präferenzen der Pilze für bestimmte Lignocellulosekomponenten führen während der Zersetzung zu charakteristischen Veränderungen der physikochemischen Eigenschaften (Freschet et al. 2012) und der verbleibenden Farbe des Holzes. Entsprechend dieser Unterschiede wird die Pilzfäule in die Fäulnistypen Weiß-, Braun- und Moderfäule eingeteilt (Abb. 2) (Stokland et al. 2012).

Weißfäulepilze gehören zum Phylum Basidiomycota und werden überwiegend der artenreichen Klasse der *Agaricomycetes* zugeordnet (Kijpornyongpan et al. 2022). Sie spalten Lignin und verstoffwechseln teilweise Hemicellulose und Cellulose (Hatakka und Hammel 2011). Für den effizienten Abbau des aromatischen Polymers Lignin produzieren Weißfäulepilze die notwendigen Peroxidasen mit hohem Redoxpotential sowie Peroxid-produzierende Enzyme und Laccasen (Riley et al. 2014; Lundell et al. 2014; Martínez et al. 2018). Zudem besitzen sie kohlenhydrataktive Enzyme, wie lytische Polysaccharid-Monooxygenasen (LPMOs), Glycosidhydrolasen und Esterasen, um gleichzeitig Hemicellulose und Cellulose zu modifizieren (Lundell et al. 2014; Couturier et al. 2018). Es werden zwei Formen der Weißfäule unterschieden: die simultane Weißfäule und die selektive Weißfäule. Bei der simultanen Weißfäule werden Cellulose, Hemicellulose und Lignin in vergleichbarer Geschwindigkeit abgebaut (Schwarze et al. 2000). Dieser Typ wird häufig bei Angiospermen beobachtet. Bei der selektiven Weißfäule wird bevorzugt Lignin zersetzt, während Cellulose und Hemicellulose vorerst unverändert bleiben (Blanchette 1984). Dies führt zu dem charakteristischen weißen Aussehen des zersetzten Holzes (Abb. 2B) (Hatakka und Hammel 2011).

Braunfäule (Destruktions- oder Würfelfäule) wird ausschließlich durch Pilze der Basidiomycota (Ordnungen der Polyporales, Gloeophyllales und Boletales) verursacht und tritt, mit wenigen Ausnahmen, nur bei Gymnospermen auf (Krah et al. 2018a). Die charakteristischen Veränderungen des Holzes, wie die dunkel bis braune Verfärbung und würfelartigen Risse entlang der Holzfasern (Abb. 2A), entstehen durch modifiziertes Lignin und angereichertes Eisen (Jellison et al. 1997; Hatakka und Hammel 2011). Im Gegensatz zum enzymatischen Abbau von Weißfäulepilzen besitzen Braunfäulepilze weniger lignocellulolytische Enzyme (Floudas et al. 2012). Insbesondere fehlen ihnen die hochredoxen Peroxidasen (Kohler et al. 2015), weshalb das Lignin höchstens modifiziert wird, beispielsweise durch Demethylierung (Kirk 1975). Ebenso werden nur wenige hydrolytische Enzyme zum Abbau von Polysacchariden eingesetzt (Eastwood et al. 2011). Stattdessen erfolgt der schnelle und effektive Abbau von Cellulose und Hemicellulosen durch den Einsatz hochreaktiver Oxidationsmittel. Dazu gehören niedermolekulare freie Radikale, einschließlich der durch die Fenton-Reaktion gebildeten Hydroxylradikale (Jellison et al. 1997; Arantes et al. 2012).



Abbildung 2. Fäulnistypen der Holzzerstörung und ihre typischen physikochemischen Veränderungen. (A) Braunftäule: bevorzugter Celluloseabbau unter Verbleib von modifiziertem Lignin, was zu einer braunen Verfärbung und würfelartigen Rissen im Holz führt. (B) Basidiomycetale Weißfäule: Abbau des modifizierten Lignins, wobei faserige Cellulose zurückbleibt und das Holz ein weißliches Aussehen erhält. (C) Ascomycetale Moderfäule: Celluloseabbau in der sekundären Zellwand, wodurch das Holz eine bräunlich-graue, schwammige Konsistenz annimmt (Fotos: eigene Aufnahmen, 2025).

Die dritte Form der Holzfäule, die auch an lebenden Bäumen vorkommt, ist die **Moderfäule**. Sie wird hauptsächlich beim Phylum Ascomycota (Ordnungen der *Xylariales*, *Sordariales*) beobachtet (Blanchette et al. 2004). Moderfäulepilze zersetzen bevorzugt Cellulose und Hemicellulose der sekundären Zellwand, was die bräunlich-graue, schwammige Konsistenz des Totholzes bedingt (Abb. 2C) (Savory 1954; Stokland et al. 2012). Darüber hinaus sind Ascomycota der Familie *Xylariaceae* in der Lage, sowohl Polysaccharide durch die Verwendung verschiedener Glycosidhydrolasen als auch teils Lignin durch Feruloylsterase und Laccase zu modifizieren und abzubauen (Liers et al. 2006).

1.3 Enzymatischer und hydrolytischer Totholzabbau der Pilze

Unabhängig davon, ob es sich um stark lignifiziertes Holz oder weniger widerstandsfähiges Pflanzenmaterial wie Laub handelt, unterliegt deren Zersetzung denselben grundlegenden Prozessen (Swift et al. 1979). Dazu zählt die (i) physikalische Fragmentierung, die durch Austrocknung oder tierische Aktivitäten wie die Nahrungssuche verursacht wird. Diese Fragmentierung erleichtert die Besiedlung des Totholzes durch Mikroorganismen und begünstigt mikrobielle Prozesse, die eine Schlüsselrolle in der Zersetzung einnehmen. Diese Mikroorganismen geben durch die (ii) heterotrophe Respiration organisch gebundenen Kohlenstoff in Form von CO_2 in die Atmosphäre ab (Magnússon et al. 2016; Covey et al. 2016). Parallel dazu erfolgt die (iii) biologische Fragmentierung, bei der saprotrophe Mikroorganismen die polymeren Holzbestandteile in lösliche Komponenten spalten. Diese können anschließend im H_2O gelöst und ausgewaschen werden (Harmon et al. 1986). Im Verlauf der Zersetzung verschiebt sich die Beteiligung der einzelnen Prozesse. Zu Beginn werden leicht verfügbare Substrate wie Zucker, Stärke und Aminosäuren rasch von der Bodenfauna und endophytischen Pilzen abgebaut (Adair et al. 2008; van der Wal et al. 2016; Song et al. 2017). Entsprechend überwiegt die heterotrophe Respiration, während die Auswaschungsprozesse noch marginal sind (Kahl 2008; Lagomarsino et al. 2021). Mit fortschreitender Zersetzung und dem einhergehenden Feuchtigkeitsverlust des Holzes dominieren saprotrophe Pilze und Prokaryoten (Baldrian et al. 2016; Moll et al. 2018). Diese saprotrophen Mikroorganismen spalten die Lignocellulose enzymatisch (Lundell et al. 2014), was zu einem deutlichen Masseverlust (Kahl 2008) und einer zunehmenden Fragmentierung des Holzes führt (Harmon et al. 1986; Herrmann et al. 2015).

Insbesondere saprotrophe Pilze besitzen die Fähigkeit, sowohl polymere Polysaccharide als auch das heterogene, aromatische Lignin mit seinen unterschiedlichen Vernetzungen und Seitengruppen zu spalten (Higuchi 1990; Baldrian et al. 2016). Die hierfür sekretierten Enzyme zählen zu den „*plant cell wall degrading enzymes*“ (PCWDE) und sind in der CAZy-Datenbank („carbohydrate-active enzymes“)

verzeichnet. Diese Datenbank klassifiziert kohlenhydrataktive Enzyme (CAZymes) anhand von Sequenz- und Strukturähnlichkeiten in mehrere Familien (Drula et al. 2022). Zu diesen Familien gehören Glycosidhydrolasen („*glycoside hydrolases*“ – GH), Kohlenhydrat-Esterasen („*carbohydrate esterases*“ – CE), Polysaccharid-Lyasen („*polysaccharide lyases*“ – PL), Glycosyltransferasen („*glycosyl transferases*“ – GT) und Oxidoreduktasen mit ligninolytischen Aktivitäten sowie Hilfsaktivitäten („*auxiliary activities*“ – AA) (Lombard et al. 2014).

1.3.1 Oxidativer Abbau von Lignin und Lignocellulose

Zu den ligninmodifizierenden und ligninabbauenden Enzymen gehören Oxidoreduktasen, wie die Laccasen (AA1) und die Peroxidasen der Klasse II (AA2). Unterstützt wird deren Aktivität durch Reaktionsprodukte von Oxidoreduktasen der AA3-Familie, die neben Lignin auch Cellulose angreifen (Abb. 3). **Laccasen** (CAZy-Subfamilie AA1) sind Phenoloxidasen, die zur Superfamilie der Multikupferoxidasen gehören (Solomon et al. 1996). Sie werden hauptsächlich von ligninolytischen Basidiomycota und Ascomycota, aber auch von pflanzenpathogenen Arten gebildet (Baldrian 2006; Hoegger et al. 2006). Laccasen besitzen ein niedriges Redoxpotential (Solomon et al. 1996) und katalysieren daher selektiv die Oxidation der phenolischen Untereinheiten des Lignins, wobei O₂ als Elektronenakzeptor dient (Abb. 3) (Käärik 1965). Nichtphenolische Untereinheiten weisen im Gegensatz dazu ein höheres Redoxpotential auf und sind für eine direkte Oxidation durch Laccasen unempfindlich (Bourbonnais und Paice 1990; Singh et al. 2023). Die indirekte Oxidation nichtphenolischer Strukturen kann jedoch in Anwesenheit eines geeigneten Redox-Mediators erfolgen, was letztlich zur Depolymerisierung des Lignin-Polymers führt (Baiocco et al. 2003).

Die Oxidoreduktasen der ligninmodifizierenden Häm-Peroxidasen (CAZy-Subfamilie AA2) (Lombard et al. 2014) werden größtenteils von Weißfäulepilzen gebildet (Glenn et al. 1983; Martínez 2002). Diese **Klasse-II Peroxidasen** katalysieren die Oxidation zahlreicher Substrate unter Verwendung eines Elektronenakzeptors, wie Wasserstoffperoxid (H₂O₂) oder organischer Peroxide (Abb. 3). Dabei reduziert der Elektronenakzeptor das Enzym, welches anschließend zur Bildung von oxidierten oder gekoppelten (oligomeren) Produkten führt (Mäkelä et al. 2021). Funktionell werden die Manganperoxidasen (MnP), Ligninperoxidasen (LiP) und Versatile Peroxidasen (VP) unterschieden. Aufgrund ihrer Fähigkeit, Elektronen von ligninähnlichen-aromatischen Strukturmolekülen zu abstrahieren, werden sie als Peroxidasen mit hohem Redoxpotential kategorisiert (Ruiz-Duenas et al. 2009; Hofrichter et al. 2010). Generische Peroxidasen (GP) von Pilzen sind ebenfalls häm-einschließende Enzyme, denen jedoch die Manganbindungsstelle oder das Redoxzentrum an der Proteinoberfläche fehlt. Aufgrund dieser strukturellen Eigenschaften sind sie nicht in der Lage, Lignineinheiten zu oxidieren, und gehören zu den Peroxidasen mit niedrigem Redoxpotential (Ruiz-Duenas et al. 2013). Weiter Enzymgruppen innerhalb der Peroxidase-Subklasse, die bislang jedoch nicht der AA2-Subfamilie zugeordnet sind, umfassen die „*dye-decolorizing*“ Peroxidase (DyP) und die unspezifische Peroxidase (UPO). DyPs ermöglichen die effiziente Oxidation von Farbstoffen und Aromaten (Linde et al. 2015; Adamo et al. 2022). UPOs werden ebenfalls dem Ligninabbau zugeordnet (Liers et al. 2013; Kellner et al. 2014) und katalysieren ein breites Spektrum von Peroxid-abhängigen Oxyfunktionalisierungsreaktionen, wie die Epoxidierung/Hydroxylierung von aromatischen Ringen und Alkylketten, Ethen-Spaltungen, sowie Oxidationen von Alkoholen, Aldehyden und Phenolen (Hofrichter et al. 2015).

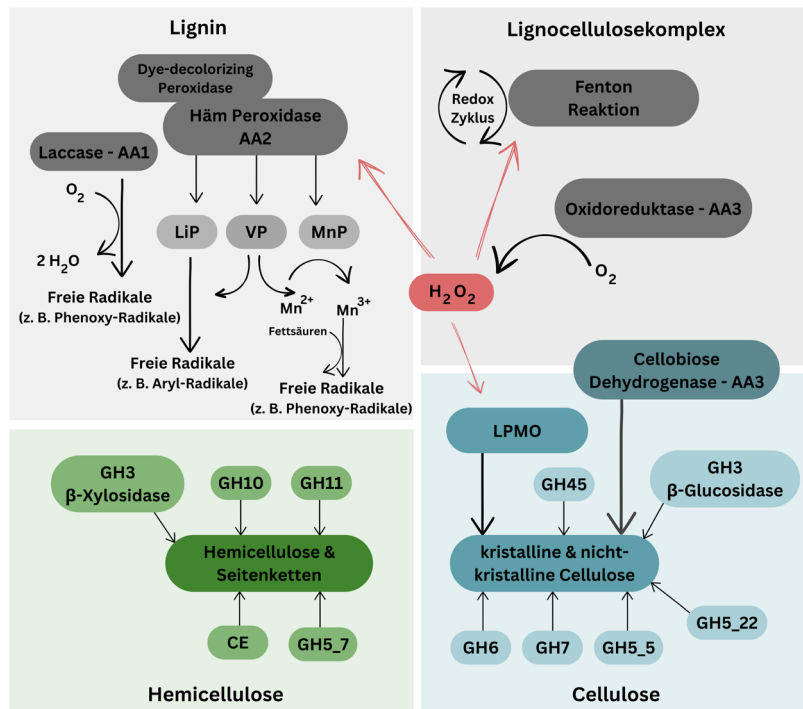


Abbildung 3. Auswahl prozessrelevanter Enzyme von saprotrophen Pilzen für den Abbau des Lignocellulosekomplexes. Zu den ligninmodifizierenden und ligninabbauenden Enzymen zählen Oxidoreduktasen, wie Laccasen (AA1) und Häm-Peroxidasen der Klasse II (AA2). Dieser Prozess wird durch Peroxid-produzierende Oxidoreduktasen der CAZyme-Familie AA3 unterstützt. Cellulose und Hemicellulose werden hydrolytisch durch Glycosidhydrolasen (GHs) sowie oxidativ durch Cellobiose-Dehydrogenasen und kupferabhängige lytische Polysaccharid-Monooxygenasen (LPMOs) abgebaut (modifiziert nach Lundell et al. (2014)).

Unterstützende Enzyme des Lignocelluloseabbaus sind die **Oxidoreduktasen der FAD-anhängigen Glucose-Methanol-Cholin-Superfamilie** (CAZy-Subfamilie AA3) (Cavener 1992). Diese Enzyme wirken indirekt durch die Reduktion von niedermolekularen Bestandteilen. Zu ihren Hauptprodukten gehören extrazelluläres H_2O_2 , das durch die Oxidation von O_2 entsteht, und Hydrochinon (H_2Q), das infolge der Reduktion von Chinonen mittels Dehydrogenase-Aktivitäten gebildet wird (Abb. 3) (Sützl et al. 2018). Das extrazelluläre H_2O_2 (Daniel et al. 2007; Martinez et al. 2009) aktiviert anschließend die ligninmodifizierenden Klasse-II Peroxidasen (AA2) und die lytischen Polysaccharid-Monooxygenasen (LPMO) (Bissaro et al. 2017). H_2Q kann ebenfalls als direkte Elektronenquelle für LPMOs fungieren (Li et al. 2021). Beide Hauptprodukte sind zudem an der Fenton-Reaktion beteiligt, die den Lignocelluloseabbau anregt (Hammel und Cullen 2008). Innerhalb der AA3-Subfamilien unterstützen die Arylalkohol-Oxidasen (AA3_2), die Alkohol-(Methanol)-Oxidasen (AA3_3) und Pyranose 2-Oxidasen (AA3_4) den Lignocelluloseabbau (Lombard et al. 2014), während die Cellobiose-Dehydrogenase (AA3_1) gezielt am Celluloseabbau beteiligt ist (Kracher und Ludwig 2016).

1.3.2 Enzymatische Hydrolyse und Oxidation der Polysaccharide

In der Literatur wurden ursprünglich zwei Systeme zum Abbau von Pflanzenzellen unterschieden: das oxidative ligninolytische System, das für die Lignindepolymerisation ausschlaggebend ist, und das hydrolytische System, das den Kohlenhydratabbau steuert (van den Brink und de Vries 2011; Rytioja et al. 2014). Während die Enzyme des Kohlenhydratabbaus durch ihre hydrolytische Aktivität eine subtile Spezifität zeigen, zeichnen sich die oxidativen ligninolytischen Enzyme durch die Erzeugung hochreaktiver und unspezifischer freier Radikale aus. Neben diesen ursprünglichen Systemen existieren jedoch auch alternative Enzyme für den Kohlenhydratabbau, welche die oxidative Spaltung von Cellulose katalysieren (Levasseur et al. 2013). Zu diesen Enzymen gehören die zuvor genannte

Cellobiose-Dehydrogenase und die kupferabhängige **lytische Polysaccharid-Monooxygenase** (LPMO) (Stepnov et al. 2022). Die kupferhaltige LPMO spaltet die glycosidischen Bindungen von Polysacchariden wie Cellulose (Quinlan et al. 2011), Chitin (Bissaro et al. 2018) und Xylan (Couturier et al. 2018) durch Oxidation (Abb. 3). Der exakte Wirkungsmechanismus ist jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt. Es wird angenommen, dass die katalytische Aktivität der LPMOs die Anwesenheit von O₂ oder H₂O₂ sowie eines externen Reduktionsmittels erfordert (Quinlan et al. 2011; Forsberg et al. 2019). Die Aktivierung des Enzyms ermöglicht anschließend die Spaltung der β -1,4-Glycosidbindung zwischen Celluloseketten (Beeson et al. 2012; Bissaro et al. 2017).

Zum hydrolytischen System des Kohlenhydratabbaus gehören die **Glycosidhydrolasen** (CAZy-Familie GH), eine der größten und strukturell vielseitigsten Enzymfamilien der CAZymes (Lombard et al. 2014). Diese Enzyme sind für die Hydrolyse und/oder Umlagerung von glycosidischen Bindungen in Glykokonjugaten, Oligo- und Polysacchariden verantwortlich (Henrissat 1991). Der vollständige enzymatische Abbau von Cellulose wird durch folgende Glycosidhydrolasen (Cellulasen) ermöglicht: Endoglucanasen, Cellobiohydrolasen und β -Glucosidasen (Abb. 3). Diese Enzyme hydrolysieren und spalten die β -1,4-Verknüpfungen in amorphen Regionen der Celluloseketten an beliebigen Positionen (Teeri 1997; Kleywegt et al. 1997; Baldrian und Valášková 2008). Die amorphen Bereiche der Cellulosemikrofibrillen werden durch Endoglucanasen (GH5_5, GH12, GH45) hydrolysiert. Die Cellobiohydrolasen greifen die Enden der Celluloseketten an, wobei die verschiedenen Untergruppen synergistisch wirken (Zhang et al. 2022). Entweder schneiden Cellobiohydrolasen an den nichtreduzierenden Enden (GH6) oder den reduzierenden Enden (GH7) der Celluloseketten ab (Floudas et al. 2012). Die verbleibende Cellobiose (Oligosaccharide) wird schließlich durch β -Glucosidase (GH1, GH3, GH5_22) zu monomerer Glucose gespalten (Eriksson et al. 2012).

Die Spaltung aller weiteren Polysaccharide, darunter Hemicellulosen, erfordert aufgrund ihrer Seitenketten zusätzliche Enzyme wie Xylanasen, Xyloglucanasen, Mannosidasen und Galactosidasen (Abb. 3). Zu den bekannten Xylanasen gehören GH10 und GH11, welche die β -1,4-Bindungen des Xylans im Hemicellulose-Rückgrad spalten (Labourel et al. 2016). Die resultierenden Xylooligosaccharide werden durch β -Xylosidasen (GH3) zu Monosacchariden abgebaut. Xyloglucanasen unterteilen sich in unspezifische (GH5_7, GH12) und spezifische Enzyme (GH74), wobei letztere keine Aktivität gegenüber Carboxymethylcellulose und β -Glucan zeigen (Martinez-Fleites et al. 2006; Gloster et al. 2007). Um Hemicellulose effizient abzubauen, wird die Hydrolyse von Xylanen und Mannanen durch weitere Enzyme unterstützt. Zu diesen zählen die **Kohlenhydrat-Esterasen** (CAZy-Familie CE), die Ester-basierte Modifikationen von Mono-, Oligo- und Polysacchariden entfernen. Indem sie die De-O- oder De-N-Acylierung von Polysacchariden spalten, können diese Enzyme den Abbau dieser Polymere beschleunigen, den Zugang für Glycosidhydrolasen erleichtern (Christov und Prior 1993) und bei der Verzuckerung von Biomasse helfen. Esterasen, die den Lignin-Kohlenhydrat-Komplex angreifen, werden der CAZy-Subfamilie CE1 (Acetyl-Xylan & Feruloyl-Esterase) und CE16 (Acetyl-Esterase) zugeordnet. Es existieren weitere kohlenhydrataktive Enzyme, die im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht berücksichtigt werden.

1.4 Stand der Totholzforschung in gemäßigten Breiten

Aus bisherigen Laboruntersuchungen und Feldversuchen konnten bereits fundierte und allgemeingültige Erkenntnisse zur Totholzzersetzung gewonnen werden. Unabhängig von den klimatischen, geographischen oder methodischen Rahmenbedingungen zeigen sich dabei universelle Einflussfaktoren, die den Zersetzungsprozess steuern. Diese Einflussfaktoren werden hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Ökosystemfunktion in **intrinsische** und **extrinsische Faktoren** unterteilt (Schaefer 2012). Intrinsische Faktoren umfassen Eigenschaften, die der biologischen Einheit – in diesem Fall dem Totholz – innewohnen. Dazu zählen die Baumarten mit ihren charakteristischen Holzeigenschaften, die Fragmentgröße der Holzbestandteile sowie das jeweilige Zerfallsstadium (Weedon et al. 2009; Kahl et al. 2017; Hu et al. 2018). Extrinsische Faktoren bezeichnen Einflüsse, die von außen auf das ökologische System einwirken. Hierzu gehören abiotische Umweltfaktoren, wie Temperatur und Feuchtigkeit (Herrmann und Bauhus 2013), sowie biotische Einflussfaktoren, die aus Wechselwirkungen mit anderen Organismen hervorgehen. Letztere schließen anthropogene Einflüsse ein, wie die Landnutzungsintensität oder den Bewirtschaftungsgrad von Wäldern und Grünlandflächen (Blaser et al. 2013). Insgesamt resultiert daraus ein komplexes Zusammenspiel, in dem diverse Einflussfaktoren die Totholzzersetzung, Einzelprozesse und die Struktur der beteiligten Totholzbiozöten formen.

Der folgende Abschnitt gibt einen Überblick über den aktuellen Forschungsstand zur Totholzzersetzung in gemäßigten Breiten. Ergänzend werden zentrale Methoden zur Untersuchung der Zersetzungsprozesse vorgestellt.

1.4.1 Methoden und Versuchsdesigns in der Totholzforschung

In der Totholzforschung existieren methodische Ansätze, die entweder die Gesamtzersetzung, spezifische Einzelprozesse oder die Artengemeinschaften untersuchen. Die große Herausforderung besteht jedoch in der Analyse dieser Zersetzungsprozesse über diverse Regionen, Ökosysteme und Klimazonen hinweg. Bislang konzentrieren sich viele Studien auf kleinräumige Areale, da integrative und standardisierte Studiendesigns, die für großflächige Vergleiche notwendig sind, häufig nur eingeschränkt realisierbar sind.

Methoden zur quantitativen Bewertung der Zersetzungsraten analysieren die Volumenreduktion des Totholzes über definierte Zeiträume hinweg (Russell et al. 2015). Dazu zählt die visuelle Einordnung des Zersetzungsgrades, beginnend bei festem Totholz von frisch abgestorbenen Bäumen bis hin zum lockeren Mulmholz. Ein weiterer Ansatz ist die dynamische Verlustmessung, bei der die Veränderung des Totholzmaterials im Verlauf des Zersetzungsprozesses erfasst wird. Zu Beginn und in regelmäßigen Abständen werden dafür die Gesamtmasse, das Volumen oder die Dichte (Masse im Verhältnis zum Volumen) des Totholzes bestimmt (Russell et al. 2015).

Demgegenüber stehen methodische Verfahren, die sich auf einzelne Zersetzungsprozesse konzentrieren. Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung lassen sich beispielsweise durch die Bestimmung des Lignin-, Kohlenstoff-, Stickstoff- oder Phosphorgehalts erfassen. Zur Analyse des Artenreichtums der Totholzgemeinschaften werden Fruchtkörperanalysen, Kultivierungsansätze oder molekularbiologische Verfahren wie die Hochdurchsatzsequenzierung eingesetzt (Halbwachs et al. 2016; Kahl et al. 2017; Krah et al. 2018b; Moll et al. 2018). Direkte Messungen der Emissionsraten des Totholzes liefern zudem wertvolle Einblicke in die Aktivität der holzzersetzenden Mikroorganismen, da diese bei der heterotrophen Respiration CO₂ emittieren (Harmon et al. 1986). Ein weiteres Forschungsfeld befasst sich mit dem enzymatischen Abbau des lignocellulosehaltigen Holzes. Diese Prozesse werden bislang vorrangig in Laborstudien unter kontrollierten Bedingungen untersucht,

häufig unter Verwendung von Reinkulturen holzabbauender Pilze (Fackler et al. 2006; Hofrichter et al. 2010; Liers et al. 2011; Hahn et al. 2013). Die Übertragbarkeit derartiger Ergebnisse auf natürliche Systeme ist jedoch nur eingeschränkt möglich. Die Metaproteomik eröffnet in diesem Zusammenhang neue Perspektiven, da sie eine detaillierte Analyse sowohl der funktionellen als auch der taxonomischen Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften erlaubt (Hettich et al. 2012). Dennoch mangelt es bislang an umfassenden Feldstudien, die diesen Ansatz im Kontext der natürlichen Totholzzersetzung systematisch anwenden.

1.4.2 Intrinsischer Einfluss der Baumartenidentität und substratspezifischer Eigenschaften

Zu den zentralen Einflussfaktoren von Zersetzungsprozessen zählen intrinsische Eigenschaften, also innere, systemeigene Merkmale (Weedon et al. 2009; Freschet et al. 2012; Hu et al. 2018). Im Fall von Totholz werden diese durch die Baumart und deren spezifische Holzeigenschaften, wie die chemische Zusammensetzung und die morphologische Struktur, geprägt (Kahl et al. 2017). Je nach Baumart besiedeln daher unterschiedliche Mikroorganismen das Totholz, was zu individuellen Totholzbiozönosen führt (Purahong et al. 2018b; Leonhardt et al. 2019; Yang et al. 2022). Die jeweilige Artenvielfalt dieser Biozönosen spiegelt sich schließlich in der Effizienz des mikrobiellen Abbaus wider (Kahl et al. 2015; Warner et al. 2017) und übt dadurch einen indirekten Einfluss auf die Zersetzungsraten aus (Kahl et al. 2017; Harmon et al. 2020).

Baumarten der Gymnospermen weisen generell geringere Zersetzungsraten auf als Angiospermen (Weedon et al. 2009). Ein wesentlicher Grund hierfür liegt in den Eigenschaften des Lignins, das in Gymnospermen im Vergleich zu Angiospermen schwerer oxidierbar ist. Das Lignin der Gymnospermen besteht zu über 90 % aus Guaiacyl-Einheiten, während der Anteil bei Angiospermen lediglich zwischen 0 und 33 % liegt (Higuchi 2006). Diese Guaiacyl-Einheiten machen das Lignin besonders kompakt, was den enzymatischen Angriff erschwert (Hatakka and Hammel, 2011). Das Lignin der Angiospermen enthält einen höheren Anteil an Sinapyl-Einheiten, die leichter abgebaut werden (Higuchi 2006). Neben den Gerüst- und Stützsubstanzen Lignin, Cellulose und Hemicellulose enthält Holz sogenannte Extraktstoffe. Hierbei handelt es sich um Zwischenprodukte des Stoffwechsels lebender Zellen, die als Energielieferanten, chemische Schutzstoffe (Biozide) und Katalysatoren für den pflanzlichen Stoffwechsel (metallische Enzymbestandteile) dienen (Fengel und Wegener 2003). Bei Gymnospermen bestehen diese Extraktstoffe hauptsächlich aus Terpenen und ihren Derivaten, die das Pilzwachstum und die Abbauaktivität hemmen (Pearce 1996). Im Gegensatz dazu ist die chemische Zusammensetzung der Extraktstoffe bei Angiospermen vielfältiger. Sie reicht von harzähnlichen Stoffen aus Kohlenhydratgummi im Kirschbaum (Pearce 1996), die möglicherweise keinen Einfluss auf die Fäulnis haben, bis hin zu phenolischen Verbindungen (z. B. Quercetin) und Tanninen in der Eiche, die das Pilzwachstum hemmen (Aloui et al. 2004).

Die baumartspezifische Nährstoffverfügbarkeit beeinflusst ebenfalls die Zersetzungsraten. Eine Stickstoff-Limitierung gekoppelt mit einem hohen Ligningehalt (Weedon et al. 2009) sowie ein hohes Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnis (Taylor et al. 1989) führen zu einem verlangsamten Abbau von Pflanzenmaterial. Stickstoffarme Materialien sind folglich auf exogene Stickstoffquellen, wie den Boden oder Stickstoff-fixierende Bakterien, angewiesen (Bonanomi et al. 2017; Roy et al. 2023). Untersuchungen zu weiteren Nährstoffen und Metallen wie Phosphor, Calcium, Kalium, Magnesium, Mangan und Eisen liefern je nach Waldökosystem und Studiendesign teilweise heterogene Ergebnisse (Kaspari et al. 2007; Bonanomi et al. 2010; Kahl et al. 2017). In tropischen und gemäßigten Wäldern haben Makronährstoffe wie Phosphor, Calcium und Kalium häufig einen positiven Einfluss auf die Totholzzersetzung (Geffen et al. 2010; Kahl et al. 2017). In mediterranen Wäldern hingegen wird ein

geringer bis negativer Zusammenhang vermutet (Bonanomi et al. 2021). Mikronährstoffen wie Natrium, Mangan, Eisen, Zink und Kupfer wurde bisher nur geringfügig Aufmerksamkeit geschenkt. Beispielsweise soll Mangan die Aktivität der Manganperoxidase, eines Schlüsselenzyms im Ligninabbau, steigern (Fujii et al. 2013). Natriumverbindungen wird häufig eine toxische Wirkung auf Pflanzen sowie in hohen Konzentrationen auf Insekten und Tiere zugeschrieben. In moderaten Konzentrationen beeinflussen sie die Pilz- und Insektenaktivität jedoch positiv und fördern somit die Zersetzungsrate von Blättern und Holz (Kaspari et al. 2014).

Neben chemischen Unterschieden weisen Baumarten auch morphologische Merkmale auf, welche die Zersetzungsraten beeinflussen (Cornwell et al. 2009; Kahl et al. 2017). Ein entscheidender Faktor ist dabei die Fragmentgröße des Totholzes (Kahl et al. 2017; Leonhardt et al. 2019). Mit zunehmendem Durchmesser steigt der Anteil an Kernholz, was die Zersetzung verlangsamt (Harmon et al. 1986). Ein weiterer Einflussfaktor ist die anfängliche Holzdichte. Baumarten mit geringer Dichte zersetzen sich schneller als solche mit hoher Holzdichte. Die Abnahme der Holzdichte erfolgt gemäß der artspezifischen Ausgangsdichte bei Gymnospermen langsamer als bei Angiospermen (Cornwell et al. 2009; Bani et al. 2018). Darüber hinaus ist die Porosität des Holzes relevant. Zerstreutporige Angiospermen weisen die höchsten Zersetzungsraten auf, während ringporige Angiospermen ähnliche Abbauraten wie Gymnospermen aufzeigen (Edelmann et al. 2023). Interessanterweise wirken sich diese morphologischen Unterschiede maßgeblich auf die Methan (CH_4)-Emissionen in lebenden Bäumen aus (Moisan et al. 2024). Ein erhöhter Kernholzanteil sowie eine gesteigerte Holzdichte und Porosität begünstigen die CH_4 -Emissionen durch methanogene Archaeen (Covey und Megonigal 2019; Yip et al. 2019). Es wird angenommen, dass vergleichbare Effekte ebenfalls im Totholz auftreten, insbesondere in den frühen Stadien des Zersetzungsprozesses. Für ein umfassendes Verständnis dieser Zusammenhänge sind jedoch weiterführende Untersuchungen erforderlich.

1.4.3 Extrinsischer Einfluss definiert durch die Ökosysteme Wald und Grünland

Abiotische Umweltfaktoren umfassen klimatische Einflüsse (wie Temperatur, Licht, Feuchtigkeit, Niederschläge und Wind), edaphische Faktoren (physikalische und chemische Bodeneigenschaften) sowie geografische Merkmale (Lage, Exposition und Neigung des Geländes) (Schaefer 2012). Auf Grundlage dieser Faktoren lassen sich einheitliche Großklimabereiche, sogenannte Biome, abgrenzen (Schaefer 2012). Charakterisiert werden diese durch ähnliche Hauptmerkmale, die vorherrschend durch das Klima, die Geologie und die lebenden Organismen definiert werden. Biome können wiederum mehrere Ökosysteme und Lebensräume umfassen. Ein Ökosystem wird dabei als funktionales System verstanden, in dem lebende Organismen miteinander interagieren und in Wechselwirkung mit ihrer unbelebten Umgebung stehen.

Die Untersuchungsflächen dieser Arbeit liegen in der gemäßigten Zone Europas und umfassen die Biome bzw. die Ökosysteme Wald und Grünland. Wälder sind Flächen mit hoher Baumdichte. Nach ökologischer Definition entsteht ein Wald, wenn die Bäume so dicht stehen, dass sich ein typisches Waldinnenklima entwickelt (Murray et al. 2025). Dieses ist durch ausgeglichene Temperaturen, geringere Luftbewegung und Lichtintensität sowie eine erhöhte Luftfeuchtigkeit im Vergleich zu offenen Landschaften gekennzeichnet (Ehbrecht et al. 2019; De Frenne et al. 2019). Wälder bieten vielfältige Lebensräume für zahlreiche Tier- und Pflanzenarten, was eine hohe Biodiversität und komplexe Stoffkreisläufe ermöglicht. Grasland hingegen umfasst offene Regionen, die von Gräsern und krautigen Pflanzen dominiert werden und nur spärlichen oder keinen Baumwuchs aufweisen (Dixon et al. 2014). Charakteristisch für Graslandschaften sind ein warmes, oft eher trockenes Klima, ein offener Himmel mit hoher Lichtverfügbarkeit sowie fruchtbare Böden und eine vielfältige Vegetation (Brandt

et al. 2010). Diese Ökosysteme zeichnen sich durch eine hohe Produktivität, aber auch durch eine rasche Reaktion auf Umweltveränderungen aus (Shorohova und Kapitsa 2014; Harmon et al. 2020). Der Begriff Grasland subsumiert sowohl natürliche, ursprüngliche Grasländer (Urgrasland) als auch vom Menschen geschaffene Kulturgrasländer (Grünland). Letztere entstanden durch intensive Landwirtschaft ohne standortschonende Bewirtschaftung in Regionen, deren Biome vorrangig aus Wäldern bestanden (Dirkx 1998; Centeri et al. 2016).

1.4.3.1 Abiotische Umweltfaktoren: Temperatur, Feuchtigkeit und Bodeneigenschaften

Die Totholzzersetzung wird von den abiotischen Umweltfaktoren geprägt. In der aktuellen Forschung wird dabei zunehmend der dominante Einfluss extrinsischer Faktoren (Herrmann und Bauhus 2013; Harmon et al. 2020) gegenüber der Relevanz der Baumart für die Totholzzersetzung diskutiert (Herrmann et al. 2015; Hu et al. 2018). Die multivariate Auswertung von Edelmann *et al.* (2023) zeigte, dass insbesondere Bodeneigenschaften, Temperatur und Niederschlag signifikante Auswirkungen auf den sukzessiven Massenverlust in Wäldern haben. Im Grünland liegt der Forschungsschwerpunkt zwar überwiegend auf der Zersetzung von Laub und Wurzeln, doch auch hier sind klimatische Bedingungen wie Temperatur und Niederschlag zentrale Einflussgrößen auf die Zersetzungsraten (Aerts 1997; Portillo-Estrada et al. 2016). Allerdings manifestieren sich zwischen beiden Ökosystemen heterogene Wirkungen der abiotischen Einflussfaktoren. Das Grünland reagiert empfindlicher auf Umwelteinflüsse als Wälder (Blanco et al. 2023) und unterliegt schnelleren Veränderungen der lokalen Wetterlage (Shorohova und Kapitsa 2014; Harmon et al. 2020). Durch seine Offenheit ist es zudem stärker der Photodegradation durch direkte Sonneneinstrahlung ausgesetzt (Brandt et al. 2010). Hingegen gewährleistet das Kronendach in Wäldern ein stabileres Mikroklima. Dieses reduziert die maximale Lufttemperatur, erhöht die Luftfeuchtigkeit und beeinflusst dadurch die Bodeneigenschaften positiv (von Arx et al. 2012). Diese unterschiedlichen Mikroklimata prägen ökosystemspezifische mikrobielle Gemeinschaften (Santos-Silva et al. 2011; Lang et al. 2023), deren Totholzbiozöosen wiederum indirekt die Zersetzungsprozesse beeinflussen (A'Bear et al. 2014).

Die Aktivität der Mikroorganismen korreliert dabei stark mit Umweltfaktoren wie Temperatur und Feuchtigkeit (Bradford et al. 2014). Steigende Temperaturen fördern die mikrobielle Respiration im Totholz (Herrmann und Bauhus 2013; Mukhortova et al. 2021). Besonders in der mittleren Zersetzungsphase sind die CO₂-Emissionsraten stark temperaturabhängig (Ohtsuka et al. 2014). Bakterien und Pilze bevorzugen Temperaturen im Bereich von 25 bis 30 °C. Außerhalb dieses Temperaturbereiches besaßen Bakterien eine gute Anpassungsfähigkeit an höhere Temperaturen, während Pilze niedrigere Temperaturen besser tolerieren können (Pietikäinen et al. 2005). Neben optimalen Temperaturen sind für die mikrobiellen Zersetzungsprozesse ebenfalls H₂O und O₂ essenziell (Brischke und Alfredsen 2020). Eine höhere Totholzfeuchte und höhere Niederschläge führen zu gesteigerten CO₂-Emissionsraten (Herrmann und Bauhus 2013; Hu et al. 2020). Dabei wurden steigende Zersetzungsraten beobachtet, solange die Holzfeuchte zwischen 20 und 80 % (Vol./Vol.) lag (Cornelissen et al. 2012a). Überschreitet der H₂O-Gehalt jedoch 55 % im Kernholz, kann dies zu O₂-Mangel führen und anaerobe Bedingungen fördern, die möglicherweise zur CH₄-Produktion beitragen (Wang et al. 2017; Covey und Megonigal 2019). Dabei bietet das Holzinnere aufgrund seiner O₂-armen Bedingungen ein potenzielles Habitat für methanogene Mikroorganismen, insbesondere bei erhöhter Feuchtigkeit (Covey et al. 2012; Hietala et al. 2015). Erste Studien haben Zusammenhänge zwischen der Zersetzung und den CH₄-Emissionsraten von Totholz nachgewiesen (Covey et al. 2016; Warner et al. 2017). Die genauen Auswirkungen von Temperatur und Feuchtigkeit auf die CH₄-Emissionen von zersetzenden Mikroorganismen wurden bisher vorrangig in Bodenproben untersucht (Liu et al. 2019; Zhang et al. 2020). Eine Studie zur Zersetzung von Birke (*Betula*) und Lärche (*Larix*) belegte, dass die

CH₄-Produktion und der CH₄-Verbrauch auch im Totholz von Feuchtigkeit und Temperatur abhängen (Mukhortova et al. 2021). Überschreitet die Lufttemperatur in frühen Zersetzungsphasen 15 °C, fungiert das Totholz als CH₄-Quelle (Mukhortova et al. 2021). Zudem beschleunigt der Bodenkontakt des Totholzes die Zersetzung, was mit einer erhöhten CO₂-Emission sowie einer Verlagerung zur CH₄-Produktion einhergeht (Oberle et al. 2018).

1.4.3.2 Biotische Einflussfaktoren: Waldbewirtschaftungsintensität und Landnutzungsintensität

Die Landschaft in Deutschland wird überwiegend von Laubwäldern sowie gemischten Nadel- und Laubwäldern geprägt. Allerdings wurden fast alle Waldbestände im Laufe der letzten Jahrhunderte durch biotische Einflüsse, insbesondere anthropogene Eingriffe, verändert (Bengtsson et al. 2000; Europe und Unece 2015). Bereits seit dem frühen Mittelalter kam es zur gezielten Entwaldung, um offene Waldstrukturen und Grünlandflächen zu schaffen (Dirkx 1998). Diese Flächen dienen heute vor allem als Weideland oder landwirtschaftliche Nutzflächen (Vera et al. 2006; Centeri et al. 2016) und prägen mittlerweile einen erheblichen Teil der deutschen Kulturlandschaft (Bohn et al. 2000). Die heutigen Wälder werden von den Baumarten Fichte (*Picea*), Kiefer (*Pinus*), Buche (*Fagus*) und Eiche (*Quercus*) dominiert (Polley et al. 2010). Einige dieser Baumarten – darunter *Quercus*, *Fagus* und *Picea* – befinden sich gemeinsam mit Ahorn (*Acer*), Linde (*Tilia*) und Ulme (*Ulmus*) in geringen Anteilen auch auf Grünlandflächen. Die einzelnen Bäume dienen dabei als Schattenspende und Nahrungsquelle für Mensch und Tier (Centeri et al. 2016). Neben Waldweiden werden Grünlandflächen zudem als Streuobstwiesen genutzt, auf denen Bäume gezielt angepflanzt wurden.

Die Intensität der Waldbewirtschaftung hat erhebliche Auswirkungen auf die Biodiversität von Flora und Fauna und beeinflusst somit die Funktionsweise des gesamten Ökosystems (Meyer und Schmidt 2011; Schulze et al. 2016). In bewirtschafteten Wäldern stellt die Ernte lebender Bäume eine der Hauptaktivitäten dar, wodurch sowohl die Baumartenvielfalt als auch die maximale Bestandsdichte reduziert werden (Pretzsch 2009). Der damit einhergehende Rückgang des Kronendaches verändert die klimatischen Bedingungen im Waldinneren (Paillet et al. 2010). Zudem reduziert die regelmäßige Holzentnahme den Eintrag organischer Stoffe in den Boden und verändert die Qualität und Quantität des Totholzes verglichen mit unbewirtschafteten Wäldern. Diese von der Bewirtschaftung induzierten strukturellen und mikroklimatischen Veränderungen fungieren als Lebensraumfilter und wirken sich auf die Biodiversität in Wäldern aus (Gossner et al. 2016b). Davon betroffen ist auch die Diversität der Totholzbiozöten (Blaser et al. 2013), wobei eine intensive Bewirtschaftung häufig einen negativen Einfluss auf die saprotrophen Mikroorganismen hat (Purahong et al. 2014; Betts et al. 2017). Im Gegensatz dazu bieten unbewirtschaftete Wälder oder solche mit natürlicher Dynamik, wie der Nationalpark Bayerischer Wald, wertvolle ökologische Nischen für bedrohte Arten (Müller et al. 2011). Allerdings sind solche Wälder anfälliger für natürliche Störungen wie Stürme, Brände oder Schädlingsbefall, was häufig zu einer erhöhten Menge an abgestorbenem Pflanzenmaterial und Totholz führt (Kurz et al. 2008; Hendriks et al. 2020; BMEL 2022). Die anschließende Zersetzung dieses Materials bewirkt eine verstärkte Freisetzung von Kohlenstoff, welche die Speicherung durch die lebenden Pflanzen übersteigen kann. Diese Unterschiede in der Waldbewirtschaftung spiegeln sich letztlich in der mikrobiellen Produktivität beim Totholzabbau wider (Paletto et al. 2014) und beeinflussen indirekt die Prozesse und die Geschwindigkeit der Totholzzersetzung (Arnstadt et al. 2016a).

Die Auswirkungen lokaler Landnutzung und Landschaftspflege auf Artengemeinschaften, wie sie für Wälder beschrieben wurden, werden ebenfalls im Grünland beobachtet (Attwood et al. 2008; Allan et al. 2014; Manning et al. 2015). Im landwirtschaftlich genutzten Grünland werden ein drastischer

Rückgang des Artenreichtums (Newbold et al. 2015; Beckmann et al. 2019) und eine Homogenisierung der mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Gemeinschaften festgestellt (Gossner et al. 2016a). Einerseits wirkt der Rückgang des Pflanzenreichtums über kaskadenartige Interaktionen (Simons et al. 2014), andererseits beeinflussen Bewirtschaftungspraktiken, wie Mähen oder Viehweiden, direkt die Grünlandfauna (Humbert et al. 2009; Socher et al. 2012). Zusätzlich zu lokalen Landnutzungsintensitäten, wie Düngung, Beweidung und Bodenbearbeitung, beeinflusst die umgebende Landschaft die Artenvielfalt (Reitalu et al. 2010). Die oberirdische Artenvielfalt im Grünland profitiert dabei von der Artenvielfalt der umgebenden Landschaften, während weniger mobile, unterirdische Organismen positiv mit einer hohen permanenten Waldbedeckung in der Umgebung korrelieren (Le Provost et al. 2021). Besonders deutlich zeigt sich dieser Zusammenhang bei den Zersetzungsraten, die auf Grünlandflächen in unmittelbarer Nähe zu Wäldern erhöht sind (Smith und Peay 2021). Insgesamt scheint der Einfluss der Landnutzung auf Ökosystemfunktionen, einschließlich der Zersetzung, im Grünland stark über Veränderungen in der Biodiversität der Artengemeinschaften zu wirken.

1.4.4 Totholzbiozöten und funktionelle Mechanismen der Totholzzersetzung

Wie bereits dargelegt, unterliegen die Artenvielfalt und Aktivität der Totholzbiozöten intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren (Blaser et al. 2013; Baldrian 2017; Kahl et al. 2017; Leonhardt et al. 2019; Yang et al. 2022). Zur Untersuchung dieser Zusammenhänge und zur Erfassung der Artenvielfalt wird häufig die Fruchtkörperkartierung eingesetzt. In den gemäßigten Breiten – insbesondere in Deutschland – werden die überwiegenden Fruchtkörper den Basidiomycota zugeordnet, insbesondere den *Polyporales*, *Agaricales*, *Russulales*. Die häufigsten Vertreter der Ascomycota entstammen den Ordnungen *Xylariales* und *Helotiales* (Krah et al. 2018b; Zibold et al. 2024). Ergänzend liefern Hochdurchsatzsequenzierungen konkrete Daten über Pilze und Prokaryoten (Hoppe et al. 2016; Moll et al. 2018; Purahong et al. 2018c). Diese zeigen, dass die Artenvielfalt der Totholzbiozöte größer ist als bisher angenommen, wobei bestimmte Arten ausgeprägte Präferenzen für spezifische Wirtsbaumarten aufweisen (Purahong et al. 2018b). Solche substrat- und ressourcenspezifischen Besiedler deuten auf spezialisierte Organismen hin, die unterschiedliche Funktionen im Zersetzungsprozess erfüllen (Moll et al. 2021a).

Ein funktionelles Merkmal saprotropher Mikroorganismen besteht darin, tote organische Substanz als Energie- und Nährstoffquelle zu nutzen und in anorganische Verbindungen zu mineralisieren (Schaefer 2012). Dafür nutzen sie leistungsstarke Enzyme. Laborstudien ergaben, dass die entsprechenden Enzyme an der Spaltung von polymeren Polysacchariden und dem heterogenen, aromatischen Lignin beteiligt sind (Higuchi 1990; Baldrian 2006). Arnstadt et al. (2016b, a) erweiterten dieses Wissen durch eine umfassende Untersuchung, die erstmals die Enzymaktivitäten im natürlichen Totholz von Rotbuche (*Fagus sylvatica*), Fichte (*Picea abies*) und Waldkiefer (*Pinus sylvestris*) analysierte. Die Ergebnisse belegen, dass Laccasen und Peroxidasen maßgeblich am Ligninabbau beteiligt sind. Ihre Sekretion folgt jedoch einem variablen Muster, das durch komplexe Wechselwirkungen zwischen den Holzeigenschaften und der Struktur der Pilzgemeinschaften bestimmt wird (Arnstadt et al. 2016b). Zudem sind Basidiomycota der Familie *Meruliaceae* eng mit der ligninolytischen Manganperoxidase-Aktivität assoziiert (Leonhardt et al. 2019). Für hydrolytische Enzyme, die den Kohlenhydratabbau ermöglichen, liegen Untersuchungen aus gemäßigten Breiten von Baldrian et al. (2016) vor. Diese bestätigen die Aktivitäten hydrolytischer Enzyme wie Phosphatase, Cellobiohydrolase, Chitinase, β -Glucosidase und β -Xylosidase im natürlichen Totholz.

Die Verteilung und Aktivität lignocellulolytischer Enzyme variieren in Abhängigkeit von den Baumarten. Ligninolytische Enzyme wie Laccasen und Peroxidasen überwiegen in Angiospermen, während Hydrolasen in allen Arten von morschem Holz zu finden sind (Noll et al. 2016). Diese Unterschiede sind jedoch nicht allein durch die Wirtsspezifität der Pilzgemeinschaften erklärbar. Obwohl sich die Artengemeinschaften zwischen den Baumarten unterscheiden, erfolgt die Tothholzzersetzung, einschließlich des Ligninabbaus, grundsätzlich in allen Baumarten. Dies deutet darauf hin, dass ein breites Spektrum lignocellulolytischer Enzyme stets vorhanden ist, jedoch durch unterschiedliche Taxa produziert wird. Die Koexistenz verschiedener Taxa, die ähnliche Funktionen ausführen können, wirft die Frage nach einer möglichen funktionellen Redundanz auf. Diese beschreibt die Fähigkeit verschiedener mikrobieller Taxa, gleiche oder ähnliche Funktionen innerhalb einer Gemeinschaft auszuführen (Wohl et al. 2004; Glassman et al. 2018). Für weit verbreitete Funktionen, wie die Atmung, den Gesamtkohlenstoffabbau und die Biomasseproduktion, ist dies bereits bekannt (Louca et al. 2018). Solche Funktionen zeigen eine bemerkenswerte Resistenz gegenüber Veränderungen in der taxonomischen Zusammensetzung. Dieses Phänomen wird als Entkopplung von Funktion und Taxonomie bezeichnet (Louca et al. 2016). Um dies jedoch eindeutig zu belegen, sind detaillierte Untersuchungen der Tothholzgemeinschaften erforderlich, insbesondere in Bezug auf die enzymatischen Zersetzungsprozesse und Auswirkungen taxonomischer Verschiebungen auf die Ökosystemfunktion.

1.5 Zielsetzung und Forschungsfragen

Ziel dieser Arbeit ist es, die Totholzzersetzung unter natürlichen Bedingungen in unterschiedlichen Regionen und Ökosystemtypen systematisch zu untersuchen. Im Mittelpunkt steht die Erfassung der Einflussfaktoren und inwiefern komplexe Wechselwirkungen mit der Diversität und funktionellen Aktivität der Totholzbiozönosen bestehen. Die Totholzzersetzung wird durch intrinsische Einflussfaktoren wie die Baumart und extrinsische Einflussfaktoren wie Klima und anthropogene Einflüsse bestimmt (Weedon et al. 2009; Herrmann und Bauhus 2013; Blaser et al. 2013; Kahl et al. 2017; Harmon et al. 2020). Regionale Studien heben vor allem die Bedeutung intrinsischer Einflussfaktoren für die Ökosystemfunktion hervor, beschränken sich jedoch meist auf einzelne Regionen oder Klimazonen, was ihre Generalisierbarkeit einschränkt. Im Gegensatz dazu zeigen globale Analysen, dass Unterschiede in der Totholzzersetzung primär auf extrinsische Einflussfaktoren wie Klima, Ressourcenverfügbarkeit oder anthropogene Eingriffe zurückzuführen sind (Seibold et al. 2021).

Aus diesem Forschungsstand ergeben sich drei zentrale Forschungsfragen, die einen kohärenten und mehrdimensionalen Untersuchungsansatz bilden. Betrachtet wird die Totholzzersetzung sowohl im Hinblick auf den Gesamtprozess, über die mikrobielle Aktivität als Einzelprozess, bis hin zu den spezifischen lignocellulolytischen Abbauprozessen der beteiligten Mikroorganismen. Zur gezielten Beantwortung dieser Forschungsfragen werden spezifische Hypothesen entwickelt und die Ergebnisse jeweils in separaten Publikationen dokumentiert.

Forschungsfrage 1: Wie unterscheiden sich die Einflussfaktoren der Totholzzersetzung – insbesondere Baumart, Umweltfaktoren und Managementintensität – zwischen Wald- und Grünlandökosystemen, und inwieweit sind die im Wald identifizierten Faktoren auch im Grünland wirksam?

H1.1: Die Zersetzungsrate von Totholz (gemessen am Masseverlust) ist in Wäldern signifikant höher als im Grünland, da Wälder durch ihre spezifischen Ökosystembedingungen eine größere Diversität saprotropher Mikroorganismen begünstigen.

H1.2: Die Baumart des Totholzes (intrinsischer Faktor) beeinflusst die Totholzzersetzung in beiden Ökosystemen (Wald/Grünland) signifikant, wobei insbesondere Baumarten mit hohem Ligninanteil (Gymnospermen) langsamer abgebaut werden als solche mit niedrigerem Ligninanteil (Angiospermen).

H1.3: Extrinsische Faktoren wie Umweltfaktoren und Managementintensität haben im Grünland einen stärkeren Einfluss auf die Totholzzersetzung als im Wald, da dort das Kronendach ein ausgeglicheneres und vergleichsweise stabileres Mikroklima bedingt, wodurch die Wirkung extrinsischer Faktoren abgemildert wird.

Ziel dieser Forschungsfrage ist es, die Totholzzersetzung unter Berücksichtigung der jeweiligen Ökosystembedingungen im Wald und im Grünland vergleichend zu untersuchen. Im Mittelpunkt stehen dabei die unterschiedlichen Auswirkungen intrinsischer und extrinsischer Einflussfaktoren sowie die Übertragbarkeit waldspezifischer Faktoren auf Grünlandökosysteme. Hierfür werden standardisierte Holzklötze von 13 Baumarten auf insgesamt 300 Untersuchungsflächen in drei geographischen Regionen und in beiden Ökosystemtypen ausgelegt. Nach einer Expositionsdauer von etwa einem Jahr wird der Masseverlust als Maß für die Zersetzungsrate bestimmt und hinsichtlich relevanter Einflussfaktoren ausgewertet. Die detaillierten Ergebnisse sind in der **Publikation 1** sowie im **Kapitel 3.1** dargestellt.

Forschungsfrage 2: Haben extrinsische Einflussfaktoren (Umweltfaktoren, Managementintensität) im Vergleich zu intrinsischen Faktoren (Baumart, substratspezifische Eigenschaften) einen stärkeren Einfluss auf die mikrobielle Aktivität der Totholzbiozönosen während des Zersetzungsprozesses in Wald- und Grünlandökosystemen?

H2.1: Die mikrobielle Aktivität (gemessen an der CO₂-Emission) korreliert in beiden Ökosystemen positiv mit dem Masseverlust des Totholzes, wobei diese Korrelation im Wald aufgrund eines höheren Artenreichtums saprotropher Mikroorganismen stärker ausgeprägt ist als im Grünland.

H2.2: Die extrinsischen Faktoren bzw. spezifischen Ökosystembedingungen des Waldes und Grünlandes sind von größerer Bedeutung für die mikrobielle Aktivität (CO₂-Emission) der Totholzbiozönosen als für den Masseverlust.

H2.3: Anaerobe Bedingungen im Totholz, die insbesondere bei höherer Holzfeuchte auftreten, fördern die Aktivität methanogener Mikroorganismen, wodurch vermehrt Methan (CH₄) als Nebenprodukt der Totholzzersetzung freigesetzt wird.

Die zweite Forschungsfrage fokussiert die mikrobielle Aktivität als zentralen Einzelprozess der Totholzzersetzung. Ziel ist es, zu untersuchen, wie sich die relative Bedeutung intrinsischer und extrinsischer Faktoren verändert, wenn ausschließlich ein isolierter Prozess der Zersetzung betrachtet wird. Zur methodischen Vergleichbarkeit werden erneut standardisierte Holzklotze von 13 Baumarten ausgelegt. Diesmal auf insgesamt 100 Untersuchungsflächen in beiden Ökosystemtypen, jedoch auf eine Region beschränkt. Die mikrobielle Aktivität wird anhand der CO₂- und CH₄-Emissionsraten ermittelt, und die Ergebnisse werden in der **Publikation 2** und im **Kapitel 3.2** diskutiert.

Forschungsfrage 3: Welche saprotrophen Pilze sind die Hauptakteure beim Totholzabbau und welche funktionellen Mechanismen werden durch ihre lignocellulolytischen Enzyme (Laccasen, Peroxidasen, Oxidoreduktasen und Glycosidhydrolasen) gesteuert?

H3.1: Basidiomycota sind die Hauptakteure der Totholzzersetzung, da sie über ein breites Spektrum an Enzymen verfügen, die sowohl Lignin als auch Cellulose effizient abbauen können.

H3.2: Funktionelle Interaktionen zwischen verschiedenen lignocellulolytischen Pilzen, insbesondere durch den kombinierten Einsatz von Oxidoreduktasen und peroxidabhängigen Enzymen, ermöglichen simultane und komplementäre Abbauprozesse des Totholzes.

H3.3: Trotz der Wirtsspezifität zeigen saprotrophe Pilze eine hohe funktionelle Redundanz hinsichtlich der eingesetzten Abbauenzymfamilien.

Die dritte Forschungsfrage befasst sich mit den funktionellen Beiträgen einzelner Organismen innerhalb der Totholzbiozönosen. Ziel ist es, die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen der Zersetzung auf funktioneller Ebene zu erfassen. Zur Charakterisierung der mikrobiellen Pilzgemeinschaften im Totholz sowie ihrer Rolle beim Lignocelluloseabbau wird die Metaproteomik eingesetzt. Die hierfür gewonnenen Proben stammen von Totholzstämmen von 12 Baumarten aus Waldökosystemen, die bereits über 8½ Jahre dem Zersetzungsprozess unterlagen. Die detaillierten Ergebnisse sind in der **Publikation 3** und im **Kapitel 3.3** zusammengefasst.

2 Untersuchungsflächen, Material und Methoden

Die vorliegenden Experimente sind Teilprojekte (FunWood IV, BEL-FFD-HZG) des Totholz-Experiments BELongDead (*Biodiversity Exploratories Longterm Deadwood*), welches im Rahmen der Biodiversitäts-Exploratorien etabliert wurde (Fischer et al. 2010).

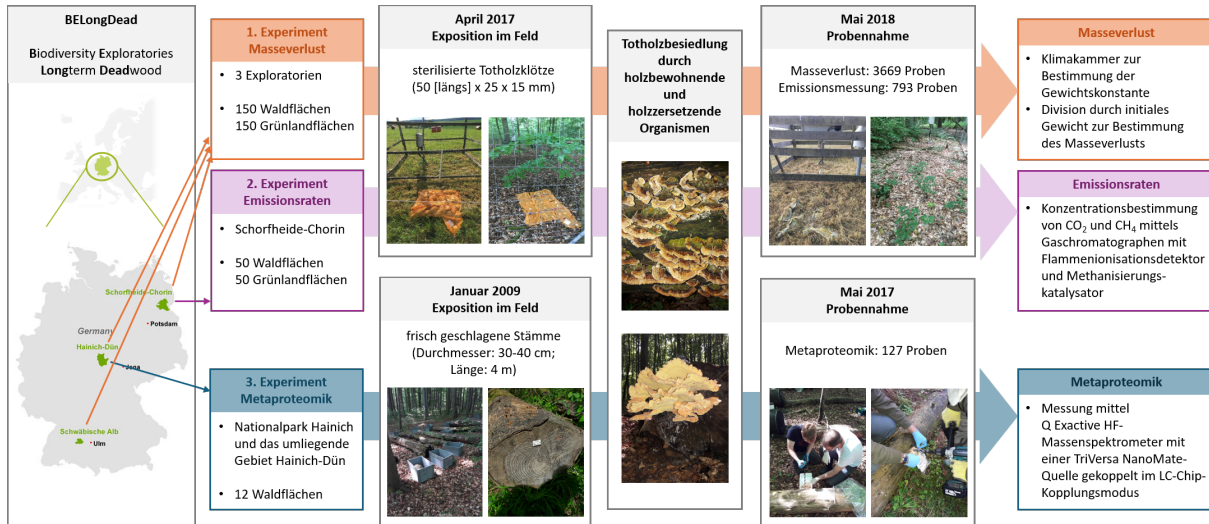


Abbildung 4. Überblick über die drei Experimente zur Untersuchung der Forschungsfragen und Hypothesen. Im Rahmen des BELongDead-Projekts wurden Experimente in drei Regionen Deutschlands mit jeweils zwei Ökosystemen durchgeführt. Zur Untersuchung der ersten beiden Forschungsfragen wurden im Jahr 2017 sterilisierte Totholzklötze ausgelegt. Etwa ein Jahr später wurden diese eingesammelt und für die Bestimmung des Masseverlusts und der Emissionsraten verwendet. Für die dritte Forschungsfrage wurden Proben von Totholzstämmen entnommen, die 8½ Jahre im Wald exponiert waren. Diese Proben dienten der Metaproteom-Analyse (Fotos: Harald Kellner, Nico Jehmlich, Matthias Noll).

2.1 Biodiversitäts-Exploratorien

Die Biodiversitäts-Exploratorien sind ein großangelegtes, langfristiges Forschungsprojekt, das die Wechselwirkungen zwischen Biodiversität und Ökosystemprozessen in Abhängigkeit von Waldbewirtschaftungs- und Landnutzungsintensitäten untersucht. Das Projekt umfasst drei Regionen in Deutschland: den Nationalpark Hainich-Dün (Mitteldeutschland, Thüringen), die UNESCO-Biosphärenreservate Schorfheide-Chorin (Norddeutschland, Brandenburg) und die Schwäbische Alb (Süddeutschland, Baden-Württemberg). Zwischen 2006 und 2009 wurden in diesen Regionen bzw. Exploratorien jeweils 50 standardisierte Untersuchungsflächen im Wald und Grünland eingerichtet und einer umfassenden Inventur unterzogen (Tab. 1; weitere Einzelheiten siehe Fischer et al. (2010)).

Auf allen Untersuchungsflächen wurden umfassende Bodeninventuren der Wald- und Grünlandflächen durchgeführt. Zusätzlich wurden die Waldbewirtschaftungsform und die Hauptbaumarten erfasst sowie die Landnutzungsintensität durch Befragungen von Landwirten und Landbesitzern ermittelt. Um die Waldbewirtschaftungsintensität zu bewerten, wurde ein Waldbewirtschaftungsintensitätsindex (ForMI) definiert. Dieser ist die Summe aus folgenden Komponenten: dem Anteil des lebenden Holzvolumens nicht standortheimischer Baumarten (Inonat), dem Anteil des geernteten Holzvolumens (Iharv) und dem Anteil des Totholzvolumens mit Sägeschnitten (ldwcut) (Kahl und Bauhus 2014). Für Grünlandflächen wurde ein Landnutzungsintensitätsindex (LUI) definiert (Vogt et al. 2019), der die Summe der standardisierten Komponenten Mähaktivität, Beweidungsaktivität und Düngeaktivität erfasst (Blüthgen et al. 2012).

Seit der Initiierung des Projekts werden zudem täglich Wetterdaten aufgezeichnet (Tab. 1), wodurch eine Charakterisierung der Umweltfaktoren ermöglicht wird. Im Zentrum jeder Untersuchungsfläche

befindet sich entsprechend ein 3 x 3 m großes Wetterdokumentationssystem (Klimastation), welches der täglichen Erfassung der folgenden Wetterdaten dient: die relative Luftfeuchtigkeit (% Vol./Vol.) in 2 m Höhe über dem Boden, die Bodenfeuchtigkeit (% Vol./Vol.) in 10 cm Tiefe, die Lufttemperatur (°C) in 2 m Höhe, die Bodentemperatur (°C) in 5, 10, 20 und 50 cm Tiefe und der pH-Wert des Bodens.

Tabelle 1. Informationen zu den Biodiversitäts-Exploratorien. Diese umfassen drei großräumige Exploratorien in Deutschland: Schorfheide-Chorin, Nationalpark Hainich-Dün und Schwäbische Alb. Die Regionen unterscheiden sich in ihrer landschaftlichen Beschaffenheit und in den klimatischen Bedingungen, deren mittlere Reichweite (min – max) für den Expositionszeitraum des Holzklötze-Experiments dargestellt ist. Charakteristisch für alle Exploratorien ist die land- und forstwirtschaftliche Nutzung mit variierenden Managementintensitäten. Zur Bewertung dieser Managementintensitäten wurden für jede Untersuchungsfläche der Waldbewirtschaftungsintensitätsindex (ForMI) oder der Landnutzungsintensitätsindex (LUI) ermittelt.

Regionen	Schorfheide-Chorin	Nationalpark Hainich und das umliegende Gebiet „Hainich-Dün“	Schwäbische Alb
Fläche	1300 km ²	1300 km ²	422 km ²
Höhendifferenz	3 – 140 m ü. NN	258 – 550 m ü. NN	460 – 860 m ü. NN
Niederschlag pro Jahr	480 – 580 mm	500 – 800 mm	700 – 1000 mm
Vorrangiger Waldtyp	Kiefern-Traubeneichen-Wälder, Buchen- und Buchenmischwälder	Buchen- und Buchenmischwälder	Buchen- und Buchenmischwälder, Fichtenwälder
Grünlandflächen	Großräumige Acker- und kleinere Grünlandflächen	Grünlandflächen und Wacholderheiden	Wiesen, Schafweiden und Halbtrockenrasen
Bodentyp	Leptosol, Cambisol	Cambisol, Stagnosol, Vertisol, Luvisol	Lehmige und schluffige Tone
Besonderheiten	eiszeitlich geprägte Jungmoränenlandschaft mit Seen, zahlreichen Kleingewässern und Mooren	Größte zusammenhängende Laubwaldgebiet (39 % sind bewaldet)	Kleinräumiges Mosaik von Wäldern mit dazwischen liegenden Grünlandflächen
Einflussfaktoren			
Boden pH	3.4 – 7.3	3.9 – 7.5	3.3 – 7.1
Bodenfeuchtigkeit (%)	11.4 – 43.4	15.2 – 43.9	8.5 – 21.7
Bodentemperatur (°C)	7.8 – 13.0	6.1 – 12.4	9.4 – 12.3
Relative Luftfeuchte (%)	77.5 – 89.7	76.0 – 90.6	79.2 – 87.3
Lufttemperatur (°C)	8.2 – 11.3	8.7 – 11.8	9.9 – 12.3
Charakteristische Managementtypen	Großflächiger Holzeinschlag im Wald (früher Kahlschlag); Extensive Grünlandbewirtschaftung, überwiegend gemähte Weiden mit Rinderbeweidung, Schafbeweidung auf Trockenrasen	In Forstgenossenschaften organisierte Auslesewälder (sog. "Plenterwald"); extensiv bewirtschaftetes, von Schafen beweidetes Grünland, das Wacholderheiden bildet	Wanderschäfferei
Bereich des ForMI	0.0 – 2.8	0.0 – 2.2	0.0 – 2.3
Bereich des LUI	0.6 – 3.3	0.2 – 3.3	0.9 – 1.5

2.2 Untersuchung des Masseverlusts und der Emissionsraten

Zur Beantwortung der ersten Forschungsfrage (Masseverlust) und der zweiten Forschungsfrage (Emissionsraten) wurden Totholzklötze von 13 gemäßigten Baumarten untersucht (Abb. 4). Diese umfassten neun Angiospermen: Ahorn (*Acer* spp.), Birke (*Betula pendula* Roth), Hainbuche (*Carpinus betulus* L.), Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.), Eberesche (*Fraxinus excelsior* L.), Pappel (*Populus* spp.), Wildkirsche (*Prunus avium* L.), Eiche (*Quercus* spp.) und Linde (*Tilia* spp.). Die Gymnospermen beinhalteten: Europäische Lärche (*Larix decidua* Mill.), Gemeine Fichte (*Picea abies* L., H. Karst.), Waldkiefer (*Pinus sylvestris* L.) und Douglasie (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.), Franco). Für jede Baumart wurden Duplikate der Totholzklötze auf insgesamt 300 Untersuchungsflächen verteilt, wobei in jeder Region 50 Wald- und 50 Grünlandflächen genutzt wurden. Insgesamt wurden für den Masseverlust 3900 Holzklötze in allen Regionen und für die Emissionsraten 1900 Holzklötze in der Region Schorfheide-Chorin ausgelegt. Um die immense Probenanzahl und den umfangreichen Versuchsaufbau vergleichbar zu gestalten, wurden alle Holzklötze in den gleichen Abmaßen (50 [Längs]

x 25 x 25 mm) aus dem Splintholz eines Baumes erstellt. Zudem wurde jeder Holzklotz vor seiner Exposition mittels Gamma-Bestrahlung sterilisiert, um die endophytischen Mikroorganismen zu inaktivieren (Sharman und Smith 1970; Song et al. 2017; Muszynski et al. 2021) und einheitliche Ausgangsbedingungen für die Besiedlung der Totholzproben in den Exploratorien zu realisieren.

Nach einer ca. einjährigen Exposition (Schorfheide-Chorin: 397 Tage, Hainich-Dün: 460 Tage, Schwäbische Alb: 414 Tage) wurden die Totholzklötze wieder eingesammelt und mit einer Bürste von anhaftender Erde und Pilzmyzel gereinigt. Ein Holzklotz wurde für das erste Experiment zur Bestimmung des Masseverlustes verwendet. Dieser Totholzklötz wurde in einer Klimakammer bei Temperaturen von $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ getrocknet und die Gewichtskonstante bestimmt. Der prozentuale Masseverlust wurde anschließend berechnet, indem die Gewichtskonstante durch das initiale Gewicht vor dem Ausbringen in die Exploratorien dividiert wurde. Der zweite Holzklotz diente zur Bestimmung der Emissionsraten im zweiten Experiment. Hierfür wurden die Totholzklötze direkt aus dem Feld in eine 100 mL Glasflasche überführt und gasdicht verschlossen. Nach einer Inkubationszeit von etwa 90 min wurden 3 mL des Gasgemisches mithilfe einer gasdichten Spritze in ein evakuiertes 3 mL-Fläschchen (Exetainer®) überführt. Die Gasproben wurden mit einem Gaschromatographen (8610C, SRI Instruments, Torrance, USA) mit Flammenionisationsdetektor analysiert, der an einen Methanisierungskatalysator gekoppelt war. Die absoluten CO_2 - und CH_4 -Konzentrationen wurden mit der Software *PeakSimple* ermittelt. Anschließend wurden die Emissionsraten berechnet, indem die Konzentrationen nach 90 min Inkubation mit den anfänglichen atmosphärischen Konzentrationen verglichen, auf das Gesamtvolumen des Glasgefäßes extrapoliert und schließlich in Relation zur Masse der Holzklötze gesetzt wurden.

Die statistischen Analysen und Visualisierungen beider Experimente erfolgten in R 4.0.2 (Core Team 2016). Zur Untersuchung der Einflussfaktoren für den Masseverlust und die Emissionsraten wurden lineare gemischte Modelle verwendet, die mit der *lmer*-Funktion des *lmerTest*-Pakets (Kuznetsova et al. 2017) berechnet wurden. Im ersten Modell wurde die Abhängigkeit des Masseverlusts und der Emissionsraten vom Ökosystem (Wald/Grünland), der Region, der Managementintensität und der Baumart getestet. Um detailliertere Einblicke zu erhalten, wurden in einem zweiten Modell die spezifischen Holzeigenschaften, Umweltfaktoren und Komponenten der Managementintensität separat für die Wald- und Grünlandökosysteme untersucht. Aufbauend auf diesen Experimenten führten Moll et al. (2024) eine Metabarcoding-Analyse der Holzklötze der Baumarten *Fagus*, *Pinus* und *Picea* durch. Diese extern erhobenen Daten liefern wichtige Informationen zur Artenvielfalt der Totholzbiozönosen und wurden in die Diskussion einbezogen.

2.3 Metaproteomische Analyse der Totholzgemeinschaften

Das dritte Experiment untersuchte die taxonomische und funktionelle Zusammensetzung der Totholzgemeinschaften zur Beantwortung der dritten Forschungsfrage. Dafür wurden Baumstämme der oben genannten 13 Baumarten verwendet, die bereits im Januar 2009 frisch geschlagen und in den Exploratorien platziert worden waren (Abb. 4). Nach etwa 8½ Jahren Zersetzungszeit erfolgte im Mai 2017 die Probennahme – mit Ausnahme der *Carpinus*. Dazu wurden mit einem Schlangenbohrer (Durchmesser 2 cm) Holzspäne entnommen. Ein Teil der Proben wurde für eine Metabarcoding-Analyse genutzt, um die Artenvielfalt anhand charakteristischer kurzer DNA-Sequenzen zu bestimmen. Hierfür wurde die genomische DNA aus den pulverisierten Holzproben mithilfe eines Quick-DNA-Kits isoliert. Die ITS2-Regionen (Internal Transcribed Spacer) wurden anschließend mit standardisierten Pilz-Primerpaaren (fITS7/ITS4) amplifiziert und sequenziert (Leonhardt et al. 2019; Moll et al. 2021a). Diese Ergebnisse dienten als Datengrundlage für die anschließende Metaproteom-Analyse, die das

gesamte Proteinkomplement der Proben untersuchte. Dafür wurde der zweite Teil der Holzspäne zu einem feinen Puder homogenisiert, die Zellen lysiert und die Proteine anschließend durch Phenol extrahiert. Die extrahierten Proteine wurden mit Trypsin proteolytisch zu Peptiden gespalten. Das aufgereinigte Peptidlysate wurde anschließend in der nanoHPLC (UltiMate 3000 RSLCnano, Dionex, Thermo Fisher Scientific) separiert. Die nachfolgende massenspektrometrische Analyse der eluierten Peptidlysate erfolgte mit einem Q Exactive HF-Massenspektrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), das im LC-Chip-Kopplungsmodus mit einer TriVersa NanoMate-Quelle (Advion, Ltd., Harlow, UK) verbunden war (Kipping et al. 2020).

Zur Proteinidentifizierung wurden die gemessenen MS/MS-Spektren mit der Software *Proteome Discoverer* (v2.5, Thermo Scientific) gegen die erstellte Datenbank bioinformatisch abgeglichen. Diese Datenbank war speziell auf holzbewohnende und -assoziierte Pilze ausgerichtet und basierte auf den häufigsten Pilzarten der zugehörigen Metabarcoding-Analyse sowie dem aktuellen Wissen über Fruchtkörper in gemäßigten Wäldern. Die meisten Genome stammten aus großen Genomsequenzierungsprojekten wie dem DOE-JGI Mycocosm (Grigoriev et al. 2014) und den Sequenzierungsanalysen innerhalb des BELongDead Experiments der letzten zehn Jahre (Büttner et al. 2017, 2019; Reina et al. 2019). Ergänzend wurden die Genome der Pilze *Hypholoma capnoides*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Ischnoderma benzoinum* und *Megacollybia platyphylla* sequenziert. Insgesamt umfasste die Datenbank 84 Pilztaxa, davon 45 Ascomycota und 39 Basidiomycota. Nach der Proteinidentifizierung wurden die Proteine mit dem Tool *Pout2Prot* (Schallert et al. 2022) gruppiert und mit dem Tool *Prophane* (Schiebenhoefer et al. 2020) taxonomisch und funktionell annotiert. Die Quantifizierung der Proteingruppen erfolgte innerhalb des *Prophane*-Workflows anhand des normalisierten spektralen Abundanzfaktors (NSAF), der aus den Peptid-Spektralübereinstimmungen berechnet wurde. Die nachfolgende Metaproteom-Auswertung konzentrierte sich ausschließlich auf die zersetzenden Pilzgemeinschaften und deren lignocellulolytischen Enzymapparat. Die berücksichtigten extrazellulären Enzyme, die am Lignocelluloseabbau beteiligt sind, sind im Anhang im Enzymverzeichnis zusammengefasst und wurden entsprechend der CAZy-Datenbank (Lombard et al. 2014) kategorisiert. Die statistische Auswertung und Visualisierung dieser Ergebnisse erfolgten mit der Software R 4.0.2 (Core Team 2016). Zur Berechnung der funktionellen Redundanz wurde die *uniqueness*-Funktion des *adiv*-Pakets verwendet (Pavoine 2020).

3 Synopsis

3.1 Ökosystemspezifische Einflussfaktoren der Totholzzersetzung

Im ersten Experiment wurden die Zersetzungsraten anhand des Masseverlusts von sterilisierten Holzklötzen nach einjähriger Exposition in den Exploratorien quantifiziert (Abb. 5). Zur Untersuchung des intrinsischen Einflusses auf die Ökosystemfunktion wurde Holz von 13 verschiedenen Baumarten aus gemäßigten Breiten verwendet. Diese Holzklötze wurden in unterschiedlichen Ökosystemen (Wald und Grünland) sowie in verschiedenen Regionen (Schorfheide-Chorin, Nationalpark Hainich und Umgebung, Schwäbische Alb) ausgelegt und anschließend von der regionalen Biodiversität besiedelt. Die jeweiligen Umweltbedingungen und Landnutzungs- bzw. Waldbewirtschaftungsintensitäten dieser Regionen und Ökosysteme wurden dokumentiert und als extrinsische Einflussfaktoren der Zersetzung berücksichtigt.



Abbildung 5. Überblick des Experiments zur Beantwortung der 1. Forschungsfrage. Im Jahr 2017 wurden standardisierte Totholzklötze in allen drei Biodiversitäts-Exploratorien ausgelegt. Nach etwa einem Jahr wurden diese eingesammelt und der Masseverlust ermittelt.

Die Baumart gilt als entscheidender Einflussfaktor für die Ökosystemleistung der Totholzzersetzung, was insbesondere für Wälder nachgewiesen wurde (Weedon et al. 2009; Kahl et al. 2017). Das vorliegende Experiment bekräftigt die Abhängigkeit des Masseverlusts von den Baumarten (Anhang, Tab. A1). Von den 13 untersuchten Baumarten verzeichneten die vier Gymnospermen den geringsten Masseverlust (Abb. 6). Unter den Angiospermen zeigten ringporige Baumarten wie *Fraxinus* und *Quercus* ähnliche Masseverlustraten wie Gymnospermen, während zerstreutporige Angiospermen den höchsten Masseverlust aufwiesen (Abb. 6). Ein ähnliches Muster der Zersetzungsraten wurde in einer Studie zur sukzessiven Totholzzersetzung innerhalb der Biodiversitäts-Exploratorien beobachtet (Edelmann et al. 2023). Der Einfluss der Baumarten wird auf deren substratspezifische Holzeigenschaften zurückgeführt. Dieses Experiment ergab, dass ein hoher Gehalt an Lignin und Phenol den Masseverlust verzögerte, wohingegen Kohlenstoff, Calcium und Schwefel diesen förderten (Anhang, Tab. A2). Da Lignin ein sehr rekalcitrantes Polymer ist, sind spezifische Enzyme für dessen Abbau erforderlich, um schließlich Pflanzenmaterial als Kohlenstoff- oder Nährstoffquelle zu nutzen (Lundell et al. 2014; Arnstadt et al. 2016b). Entsprechend wird die Totholzzersetzung durch einen höheren Ligningehalt verlangsamt, sowie von der Zusammensetzung des Lignins beeinflusst. Speziell die Lignin-Komponenten von Gymnospermen sind durch einen höheren Gehalt an Guaiacyl-Untereinheiten enzymatisch schwerer zu spalten als das Lignin von Angiospermen (Higuchi 2006; Warner et al. 2017). Die dafür benötigten ligninolytischen Enzyme werden von hochspezialisierten Mikroorganismen sekretiert, die in den frühen Zersetzungsstadien nur in geringer Anzahl vorkommen und erst mit fortschreitender Zersetzung die Biozönosen dominieren (Baldrian et al. 2016; Moll et al. 2018; Pastorelli et al. 2020). Daher nutzen mikrobielle Holzgemeinschaften zunächst leicht abbaubare

und zugängliche Kohlenstoffverbindungen (van der Wal et al. 2016; Song et al. 2017). Dies würde für einen positiven Zusammenhang zwischen dem Masseverlust und dem Kohlenstoffgehalt sprechen, wie er in diesem Experiment beobachtet wurde (Anhang, Tab. A2). Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass bei der statistischen Analyse der Gesamtkohlenstoffgehalt der jeweiligen Baumarten einbezogen wurde. Eine Differenzierung in leicht abbaubare und komplexe Kohlenstoffverbindungen erfolgte nicht. Wie in früheren Studien gezeigt (Kahl et al. 2017), beeinflussten zudem die Makronährstoffe Schwefel und Calcium den Masseverlust positiv. Schwefel und schwefelhaltige Verbindungen wie Cystein, Sulfonat und Sulfat beschleunigen die Zersetzungsraten durch Förderung des Wachstums und der Vermehrung des Pilzmyzels (Schmalenberger et al. 2011). Calcium wird die Bildung von Oxalat-Salz durch heterotrophe Pilze und Bakterien zugeschrieben, welches zur Aufrechterhaltung des mikrobiellen Metabolismus unter ungünstigen Bodenbedingungen dient (Cromack et al. 1979). Zudem führen erhöhte Säuregehalte zur Auslaugung von Calcium, was die Pflanzenmembran durchlässiger macht (Zhao et al. 1987). Der genaue Wirkmechanismus von Calcium ist jedoch nicht eindeutig geklärt (Silver und Miya 2001), da konträre Effekte auf die Zersetzung beobachtet wurden (Bonanomi et al. 2021). Darüber hinaus hemmen hohe Konzentrationen phenolischer Extrakte (z. B. Quercitin) die Aktivität extrazellulärer Enzyme und verlangsamen somit den enzymatischen Abbau von Lignin und Polysacchariden (Valette et al. 2017). Dies trifft insbesondere auf Baumarten wie *Fraxinus*, *Prunus* und *Quercus* zu, die hohe initiale Phenolgehalte aufweisen (Kahl et al. 2017) und in diesem Experiment unter den Angiospermen die geringsten Masseverluste aufwiesen.

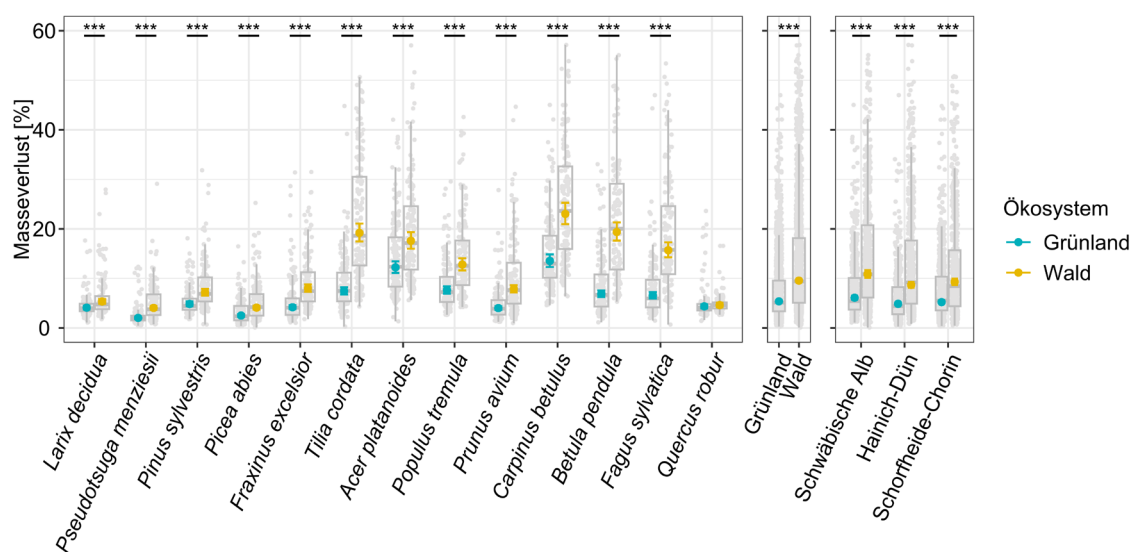


Abbildung 6. Prozentualer Masseverlust der 13 Baumarten gemäßiger Breiten. Die Tothholzklotze ($n = 3669$) wurden in verschiedenen Ökosystemen und Regionen über einen Zeitraum von etwa einem Jahr exponiert. Graue Boxplots zeigen die gemessenen Feldbeobachtungsdaten, während in Gelb/Blau die modellbereinigten Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle der einzelnen Mittelwerte dargestellt sind. Signifikante Unterschiede im Massenverlust wurden auf der Grundlage des linear gemischten Modells unter Verwendung der Methode von Satterthwaite ermittelt. Signifikanzwerte $\leq 0,001$ sind mit *** dargestellt.

Eine Besonderheit dieses Experiments ist die gleichzeitige Untersuchung des Masseverlusts in einem weiteren Ökosystem, dem Grünland. Dort war der Masseverlust um 43,9 % geringer als im Wald (Abb. 6), was sich in signifikanten Unterschieden für alle Baumarten widerspiegelte – mit Ausnahme von *Quercus*. Diese Ergebnisse bekräftigen, dass auch im Grünland Tothholzzersetzung stattfindet, und stützen zugleich die Hypothese **H1.1**, die einen höheren Masseverlust im Wald im Vergleich zum Grünland postulierte. Die Ursache für diese Differenz liegt vermutlich in den individuellen Tothholzbiozönosen, insbesondere den saprotrophen Mikroorganismen, die durch die Gamma-Strahlung ausschließlich von den lokalen Bodengemeinschaften geprägt wurden. Das Vorkommen

von Saprophyten mit lignocellulolytischen Fähigkeiten ist für Waldökosysteme gut dokumentiert (Baldrian et al. 2016; Leonhardt et al. 2019). Für saprotrophe Organismen im Grünland spricht deren Entstehungsgeschichte. Die meisten Grünlandflächen in Deutschland sind durch Entwaldung entstanden (Hejcman et al. 2013), wodurch diese Böden weiterhin ein geeignetes Substrat für saprotrophe Organismen bieten (Kaiser et al. 2016). Dementsprechend finden sich im Grünland bekannte saprotrophe Mikroorganismen, die typischerweise in Wäldern vorkommen. Zu diesen Arten zählen beispielsweise die Ascomycota *Pezizella*, *Tetracladium*, *Mollisia*, *Hypoxylon* und *Cladosporium* sowie die Basidiomycota *Mycena*, *Coprinellus*, *Cotylidia* und *Trichoderma* (Deacon et al. 2006; Francioli et al. 2021; Harder et al. 2024). Eine Studie aus der Schwäbischen Alb belegte sogar, dass saprotrophe Pilze mineralische Grünlandflächen besiedeln und dort effizient an der Zersetzung beteiligt sind (Kandeler et al. 2019). Mit zunehmender Distanz vom Wald kommt es allerdings zu einer Verschiebung und einem Rückgang der saprotrophen Organismen (Smith und Peay 2021). Den eindeutigen Nachweis für deren Besiedlung der untersuchten Holzklötze im Grünland ermöglichte die Studie von Moll et al. (2024). Die dort durchgeführte Metabarcoding-Analyse detektierte saprotrophe Mikroorganismen in Holzklötzen von *Fagus*, *Pinus* und *Picea* aus beiden Ökosystemen. Gleichzeitig zeigten sich jedoch für jedes Ökosystem individuelle Totholzbiozöosen. Während die Bakteriengemeinschaften zwischen Wald und Grünland ähnlich waren, unterschieden sich die Pilzgemeinschaften deutlich, besonders im Hinblick auf die saprotrophen Pilze. Diese Unterschiede sind höchstwahrscheinlich auf die lokale Substratverfügbarkeit und die daraus resultierenden Bodengemeinschaften zurückzuführen. In Wäldern stellt Totholz eine bedeutende Kohlenstoffquelle dar und bietet eine optimale Umgebung für die Entwicklung lokaler saprotropher Pilze. Im Gegensatz dazu sind die zersetzenden Mikroorganismen im Grünland effizienter an die Nutzung von Kohlenstoff aus toten Wurzeln angepasst (Crowther et al. 2019). Die Spezialisierung der Pilze im Wald führte folglich zu einem effizienteren Masseverlust und untermauert die Hypothese **H1.1** erneut. Bemerkenswert ist, dass die Totholzzersetzung, trotz des generell niedrigeren Masseverlusts im Grünland, in beiden Ökosystemen von der Baumart bestimmt wurde (Anhang, Tab. A1). Die gleichen substratspezifischen Holzeigenschaften wie der Gehalt an Lignin, Phenol und Makronährstoffen (Anhang, Tab. A2) beeinflussten den Masseverlust ökosystemübergreifend. Damit wird auch die Annahme der Hypothese **H1.2** bestätigt, der zufolge intrinsische Holzmerkmale die Zersetzung in beiden Ökosystemen steuern.

Die Gesamtleistung der Totholzzersetzung wurde zudem durch extrinsische Einflussfaktoren geprägt. Unter den Umweltfaktoren waren die Feuchtigkeit und der Boden-pH relevant, daneben die verschiedenen Regionen mit ihrem charakteristischen Mikroklima. Frühere Studien belegten bereits, dass die Beschaffenheit des Bodens die Zersetzungsraten beeinflusst (Minnich et al. 2021). In diesem Experiment bestand ein negativer Zusammenhang, wobei ein höherer Boden-pH mit einem geringeren Masseverlust in Wäldern einherging. Die Feuchtigkeit wirkte dagegen positiv auf den Masseverlust. Ausschlaggebend waren dabei die Luftfeuchtigkeit im Wald und die Bodenfeuchtigkeit im Grünland (Anhang, Tab. A2). Möglicherweise bedingt die schnellere Veränderung der lokalen Wetterlage im Grünland (Shorohova und Kapitsa 2014; Harmon et al. 2020), dass die Bodenfeuchtigkeit dort eine größere Rolle spielte, während im Wald die hohe Baumdichte den Einfluss der Luftfeuchtigkeit verstärkte (Ehbrecht et al. 2019; De Frenne et al. 2019). Damit zeigt sich, dass das Mikroklima – geprägt durch Umweltfaktoren und geographische Merkmale – ebenfalls ein wichtiger Einflussfaktor ist, was durch die signifikanten Unterschiede des Masseverlusts zwischen den drei Regionen bestärkt wurde. Die Region Schwäbische Alb wies den größten Masseverlust auf, gefolgt von Schorfheide-Chorin und Hainich-Dün (Abb. 6). Trotz der höchsten jährlichen Niederschlagsraten in der Schwäbischen Alb waren die gemessenen Feuchtigkeitswerte im Boden und in der Luft ähnlich oder teilweise geringer als in den

anderen Regionen (Tab. 1). Die Feuchtigkeit begünstigt einerseits die Aktivität der zersetzenden Mikroorganismen, andererseits können zu hohe Feuchtigkeitsgehalte im Holz zu O_2 -Mangel führen und somit die Zersetzungsraten hemmen (Sierra et al. 2017). Die regional variierenden Masseverluste wurden vermutlich auch durch die Temperaturen beeinflusst (Edelmann et al. 2023). Im Jahr des Experiments waren die durchschnittlichen Luft- und Bodentemperaturen in der Region Schwäbische Alb am höchsten, was mit den dort höchsten Masseverlusten einherging. Bereits geringfügige Temperaturerhöhungen können den Masseverlust stark steigern (Chambers et al. 2000). Es ist jedoch festzuhalten, dass die Region Schorfheide-Chorin, abweichend vom hier betrachteten Zeitraum, im Durchschnitt die höchsten Temperaturen aufweist. In Übereinstimmung mit den hohen Durchschnittstemperaturen verzeichnete Edelmann *et al.* (2023) in der Region Schorfheide-Chorin nach 9½ Jahren auch die höchsten Abbauraten. Dies verdeutlicht, dass dieses Experiment mit kurzer Expositionsdauer von nur einem Jahr stärker von Kurzzeiteffekten geprägt war.

Überraschenderweise hatten die anthropogenen Managementintensitäten in den frühen Zersetzungsphasen keine Auswirkungen, weder die Landnutzung im Grünland noch die Waldbewirtschaftung im Wald (Anhang, Tab. A2). Möglicherweise war der einjährige Expositionszeitraum zu kurz, um signifikante Unterschiede durch die Managementintensitäten erkennen zu können. Dies deckt sich mit einer Studie, die zeigte, dass frühe Zersetzungsstadien in unterschiedlich bewirtschafteten Waldtypen vorkommen, während fortgeschrittene Stadien häufiger in natürlicheren Wäldern auftreten (Asplund et al. 2024). Zudem verdeutlichen andere Experimente sehr komplexe und variable Reaktionen der Zersetzungsraten auf anthropogene Einflüsse (Latterini et al. 2023; Guo et al. 2025), wobei die Waldstruktur oft nur einen kleinen Teil der Variabilität erklärt (Edelmann et al. 2023). Schlussfolgernd kann die Hypothese **H3** nur teilweise bestätigt werden. Von den extrinsischen Faktoren hatten lediglich die Umweltfaktoren einen Einfluss auf die Ökosystemfunktion. Dieser Einfluss resultierte primär aus unterschiedlichen Niederschlagsmengen, die durch die spezifischen Ökosystembedingungen und regionalen Unterschiede entstanden. Der geringe Einfluss extrinsischer Faktoren auf den Masseverlust stützt zudem die Hypothese **H1.2**, wonach die initiale Totholzzersetzung überwiegend von den intrinsischen Eigenschaften der Baumarten bestimmt wird.

3.2 Intrinsische versus extrinsische Einflussfaktoren der mikrobiellen Aktivität in Totholzbiozösen



Abbildung 7. Überblick des Experiments zur Beantwortung der 2. Forschungsfrage. Im Jahr 2017 wurden standardisierte Totholzklotze im Biodiversitäts-Exploratorium Schorfheide-Chorin ausgelegt. Nach etwa einem Jahr wurden diese eingesammelt und die Emissionsraten von Kohlendioxid (CO_2) und Methan (CH_4) analysiert.

Aufbauend auf dem ersten Experiment wurde der mikrobielle Abbau als eigenständiger Prozess der Totholzzersetzung untersucht. Dafür dienten die CO_2 - und CH_4 -Emissionsraten der Holzklotze als

Indikatoren für die Aktivität der Totholzbiozöten. Die Messungen erfolgten an Proben aus der Region Schorfheide-Chorin des Holzklötze-Experiments zum Masseverlust (Abb. 7). Nach einem Jahr im Wald und im Grünland wurden die Emissionsraten erfasst und anschließend in Beziehung zu intrinsischen Holzeigenschaften sowie extrinsischen Einflussfaktoren gesetzt.

3.2.1 Beziehung zwischen Emissionsraten und Masseverlust

Insgesamt emittierten alle Holzklötze sowohl CO₂ als auch CH₄, wobei die CH₄-Emissionsraten um drei Zehnerpotenzen geringer ausfielen. Beide Gase entstehen bei der mikrobiellen Atmung, wenn Mikroorganismen organisches Material zersetzen und dabei Kohlenstoff in Form von CO₂ oder CH₄ freisetzen (Harmon et al. 1986; Magnússon et al. 2016; Lagomarsino et al. 2021). Die gemessenen Emissionsraten dienen somit als Indikatoren für die respiratorische Aktivität der Totholzbiozöten. Im Gegensatz dazu repräsentiert der Masseverlust die Gesamtheit der Zersetzungsprozesse, zu denen neben dem mikrobiellen Abbau einschließlich der Respiration auch Fragmentierung und Auswaschungsprozesse zählen (Harmon et al., 1986). Durch die Kombination beider Messwerte können folglich Rückschlüsse auf den Beitrag des mikrobiellen Abbaus zur Totholzzersetzung gezogen werden.

Im vorliegenden Experiment wurde ein positiver Zusammenhang zwischen den CO₂-Emissionsraten und dem Massenverlust festgestellt (Abb. 8). Die Stärke dieses Zusammenhangs variierte jedoch zwischen den untersuchten Baumarten. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits von Roy *et al.* (2023) gemacht, die berichteten, dass Angiospermen eine stärkere positive Korrelation zwischen Masseverlust und CO₂-Emissionen aufweisen als Gymnospermen. Diese Unterschiede werden vermutlich durch die jeweiligen Totholzbiozöten verursacht, deren Artenvielfalt und Diversität in Abhängigkeit von der Baumartenidentität variieren (Purahong et al. 2018b). Insgesamt deutet die Zunahme des Masseverlusts in Verbindung mit einer gesteigerten mikrobiellen Atmung darauf hin, dass der Großteil der Mikroorganismen am Totholzabbau beteiligt war (Witkamp 1966; Pastorelli et al. 2020). Weitere Studien stützen diese Beobachtung und zeigten, dass eine höhere Abundanz von Totholzbewohnern die Emissions- und Zersetzungsraten steigert (Kahl et al. 2015; Pastorelli et al. 2020). Zu beachten ist jedoch, dass die gemessenen Emissionsraten lediglich den Zeitpunkt der Probennahme widerspiegeln, während der Masseverlust die Zersetzungsprozesse über die gesamte Expositionsdauer abbildet. Zusätzlich unterliegen die CO₂-Emissionsraten jährlichen Schwankungen (Yang et al. 2016) und Umweltfaktoren wie Temperatur und Feuchtigkeit (Herrmann und Bauhus 2013). Um den Einfluss der Umweltfaktoren über die verschiedenen Untersuchungsflächen hinweg zu standardisieren, wurden die Emissionsmessungen in gasdichten Gefäßen unter Laborbedingungen durchgeführt. Diese Methode führte jedoch gleichzeitig zu Abweichungen von den tatsächlichen *in situ* Bedingungen, weshalb die Emissionsraten als Näherungswerte für die mikrobiellen Aktivitäten zu interpretieren sind. Trotz dieser Einschränkungen bleibt die Aussagekraft der Ergebnisse erhalten. Entsprechend der Hypothese **H2.1** bestand ein direkter Zusammenhang zwischen der mikrobiellen Aktivität und dem Masseverlust: Je höher die Aktivität der saprotrophen Mikroorganismen in der Totholzbiozöten, desto größer waren die Zersetzungsraten. Dies wird durch den Vergleich der beiden Ökosysteme bestätigt, indem sowohl der Masseverlust als auch die CO₂-Emissionsraten im Wald höher ausfielen als im Grünland (Abb. 8).

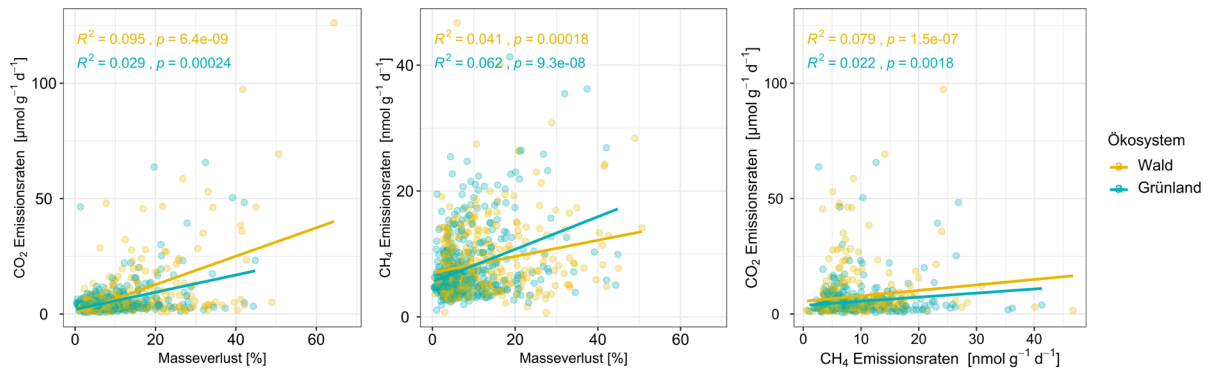


Abbildung 8. Korrelationen zwischen Masseverlust und Emissionsraten (CO₂ und CH₄) sowie zwischen den Emissionsraten beider Gase. Die Analysen umfassen 340 Holzklötze aus Wald- und 453 aus Grünlandökosystemen, die von 13 Baumarten gemäßigter Breiten stammten und etwa ein Jahr in der Schorfheide-Chorin exponiert wurden. Der Masseverlust zeigte positive Zusammenhänge mit den Emissionsraten beider Gase, während die Korrelation zwischen Emissionsraten von Kohlendioxid (CO₂) und Methan (CH₄) schwächer ausgeprägt war. Die gelben und blauen Linien repräsentieren die linearen Spearman-Korrelationen für Proben aus dem Wald bzw. dem Grünland, einschließlich entsprechender p-Werte.

Im Gegensatz zu den CO₂-Emissionsraten zeigten die CH₄-Emissionsraten sehr variable Zusammenhänge mit dem Masseverlust. Über alle Baumarten betrachtet, ließ sich eine geringe positive Korrelation beobachten (Abb. 8). Bei separater Analyse der einzelnen Baumarten wurde deutlich, dass dieser Effekt lediglich bei *Acer*, *Betula* und *Fagus* auftrat. Zudem war die positive Korrelation im Grünland stärker ausgeprägt, obwohl dort der Masseverlust insgesamt geringer war. Dies könnte auf eine Entkopplung der methanogenen Aktivitäten und CH₄-Produktion vom eigentlichen Zersetzungsprozess hindeuten. Die Unterschiede zwischen den CO₂- und CH₄-Emissionen lassen sich im Wesentlichen auf die beteiligten Mikroorganismen zurückführen. Während die CO₂-Produktion überwiegend aeroben Mikroorganismen zuzuordnen ist, entsteht CH₄ im Zuge der Methanogenese durch prokaryotische Archaeen unter anaeroben Bedingungen im Holz (Mukhin und Voronin 2009; Mäkipää et al. 2018). Es wird angenommen, dass dabei symbiotische Interaktionen stattfinden. Die methanogenen Archaea nutzen einfache Kohlenstoffverbindungen, die durch die Abbau- und/oder Fermentationsaktivität anderer Mikroorganismen, wie xylophage Insekten oder holzbewohnende Protisten und Pilze, gebildet wurden (Mukhin und Voronin 2009; Covey et al. 2016). Für die Existenz solcher Interaktionen spricht die gefundene Korrelation zwischen CO₂- und CH₄-Emissionsraten (Abb. 8), wie bereits von Mukhortova *et al.* (2021) beschrieben. Darüber hinaus gibt es Anhaltspunkte, dass saprotrophe Pilze zur CH₄-Produktion beitragen können, was als zusätzliche Methanquelle fungieren könnte (Lenhart et al. 2012; Ernst et al. 2022). Aus beiden Prozessen resultiert CH₄ als Abbauprodukt, das in die Atmosphäre abgegeben wird (Covey et al. 2012). Dies bestärkt die Feststellung einer partiellen CH₄-Produktion in jedem Holzklötz im vorliegenden Experiment. Gleichzeitig wird Totholz von Methanotrophen besiedelt (Mäkipää et al. 2018), die zur Reduktion von CH₄ beitragen. Unter aeroben Bedingungen wären deswegen auch methanotrophe Aktivitäten zu erwarten gewesen, insbesondere da methanotrophe Bakterien in den Holzklötzen nachgewiesen wurden (Moll et al. 2024). Diese Ergebnisse könnten auf den experimentellen Versuchsaufbau zurückzuführen sein, bei dem die Proben in geschlossenen Gefäßen inkubiert wurden. Für eine fundierte Aussage ist eine zusätzliche Quantifizierung des Anteils von Archaeen erforderlich. Archaea bestimmen einen Großteil der methanogenen Gemeinschaften (Yip et al. 2019), wurden jedoch von Moll *et al.* (2024) nicht erfasst.

3.2.2 Einflussfaktoren auf die CO₂-Emissionsraten

Von den untersuchten Einflussfaktoren erwiesen sich die Ökosysteme, die Baumarten, die Feuchtigkeit und anthropogenen Waldbewirtschaftungsintensitäten als ausschlaggebend für die CO₂-Emissionsraten (Anhang, Tab. A3). Durchschnittlich waren die CO₂-Emissionsraten im Grünland um 31,5 % geringer als im Wald (Abb. 9). Die höheren Emissionen im Wald lassen sich durch den größeren Anteil saprotropher Mikroorganismen mit lignocellulolytischen Fähigkeiten erklären (Moll et al. 2024). Obwohl die Differenz der CO₂-Emissionsraten zwischen den beiden Ökosystemen signifikant war, fiel sie geringer aus als beim Masseverlust, dessen Unterschied bei 43,9 % lag (Abb. 6). Dies unterstreicht, dass der mikrobielle Abbau zwar einen dominierenden Prozess der Totholzzersetzung darstellt (Lasota et al. 2018; Lagomarsino et al. 2021), der Masseverlust jedoch weitere Prozesse miteinschließt. Aus diesem Grund glichen sich die CO₂-Emissionsraten zwischen den Ökosystemen stärker an, während der Masseverlust im Wald merklich höher ausfiel. Eine weitere Erklärung dafür ist, dass nicht ausschließlich holzzersetzende, sondern auch holzbewohnende Mikroorganismen CO₂ produzieren. Die gemessenen Emissionsraten repräsentieren entsprechend die Gesamtatmung der mikrobiellen Totholzbiozönose. Bemerkenswert ist, dass die Holzklötze im Grünland einen höheren Artenreichtum an holzbesiedelnden OTUs (operational taxonomic units) von Pilzen und Bakterien aufwiesen als jene im Wald (Moll et al. 2024). Der geringere Artenreichtum im Wald trotz höherer Emissionsraten verdeutlicht, dass der Großteil der CO₂-Emissionen auf die Aktivität der saprotrophen Mitglieder der Totholzbiozönose zurückzuführen war. Alle weiteren Mikroorganismen waren nicht direkt am Totholzabbau beteiligt und übernahmen andere Ökosystemfunktionen. Ihr Beitrag zur mikrobiellen Atmung war entsprechend geringer, was erklärt, warum sich trotz höheren Artenreichtums im Grünland die CO₂-Emissionsraten denen des Waldes annäherten.

Der Einfluss der Baumarten wurde bereits durch frühere Studien belegt. Diese detektierten unterschiedliche CO₂-Emissionsraten zwischen Gymnospermen und Angiospermen (Kahl et al. 2015; Warner et al. 2017; Roy et al. 2023). Das vorliegende Experiment erweiterte diese Erkenntnisse auf eine größere Vielfalt von Baumarten und zeigte, dass die Unterschiede auf die jeweiligen substratspezifischen Holzeigenschaften zurückzuführen sind. In Wäldern förderten folgende Holzeigenschaften die CO₂-Emissionen: ein niedriger Ligningehalt, ein geringer Anteil an organischen Extraktstoffen sowie ein hoher Gehalt an Makronährstoffen (Anhang, Tab. A4). Diese baumartspezifischen Eigenschaften wurden bereits im Experiment zum Masseverlust beobachtet und belegen nun ihren Einfluss auf die Aktivität der zersetzenden Mikroorganismen im Wald. Auch für die Holzklötze im Grünland konnte ein Baumarteneffekt nachgewiesen werden. Es bestand jedoch nur ein negativer Zusammenhang mit der steigenden Holzdichte, während weitere Holzeigenschaften keinen signifikanten Einfluss hatten (Anhang, Tab. A4). Im Grünland könnte die Holzdichte aufgrund des geringeren Vorkommens saprotropher Mikroorganismen eine größere Bedeutung für die Besiedlung von Totholz haben. Diese Mikroorganismen können das Totholz für andere Mikroorganismen zugänglicher machen, indem sie spezifische Enzyme zum Lignocelluloseabbau sekretieren. In den Waldproben waren saprotrophe Mikroorganismen stärker vertreten (Moll et al. 2024), was vermutlich die Besiedlungsprozesse erleichterte. Diese Prozesse waren hingegen im Grünland reduziert, wodurch eine hohe initiale Holzdichte ein größeres Hindernis bei der Besiedlung durch Mikroorganismen darstellte. Insgesamt waren jedoch die CO₂-Emissionsraten und der damit verbundene mikrobielle Abbau in beiden Ökosystemen baumartspezifisch und bekräftigen somit die Substratspezifität der Mikroorganismen in Bezug auf die Baumart des Totholzes (Purahong et al. 2018b).

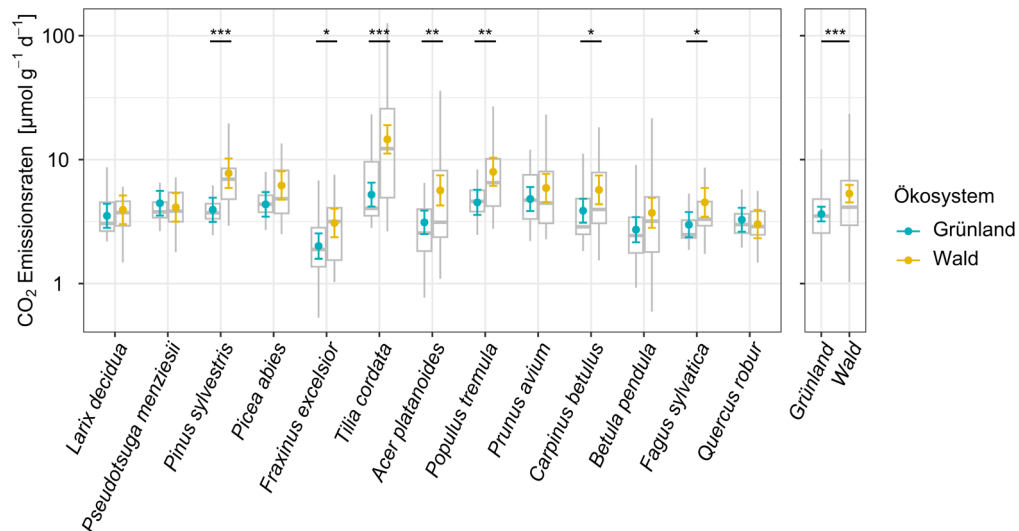


Abbildung 9. Kohlendioxid (CO₂) Emissionsraten von 13 Baumarten gemäßigter Breiten. Die Analysen basieren auf 340 Holzklötzen aus Wald- und 453 aus Grünlandökosystemen, die über einen Zeitraum von etwa einem Jahr in der Schorfheide-Chorin exponiert wurden. Graue Boxplots stellen die Feldbeobachtungsdaten dar, während in Gelb/Blau die modellbereinigten Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle der einzelnen Mittelwerte dargestellt sind. Signifikante Unterschiede innerhalb und zwischen Grünland- und Waldökosystem sind angegeben und basieren auf dem linear gemischten Modell nach der Methode von Satterthwaite. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

Zudem prägen lokale Lebensraumstrukturen die Umweltfaktoren, auf die mikrobielle Aktivitäten empfindlich reagieren (Bässler et al. 2010; Herrmann und Bauhus 2013; Müller et al. 2020). Im vorliegenden Experiment erhöhte eine gesteigerte Luftfeuchtigkeit die CO₂-Emissionsraten in Wäldern, während im Grünland eine höhere Bodenfeuchte von zentraler Bedeutung war (Anhang, Tab. 4). Ähnliche Zusammenhänge wurden bereits für den Masseverlust beobachtet und stützen die Vermutung, dass der Waldboden durch das Kronendach vor direkten Wettereinflüssen geschützt wird, während diese Schutzfunktion im Grünland fehlt. Dadurch variieren die Luftbedingungen im Grünland stärker, und das Wetter hat folglich einen direkteren Einfluss auf die Bodenfeuchtigkeit (Scharenbroch und Bockheim 2007). Zudem stellen Niederschlag und Bodenbedingungen bekannte Einflussfaktoren für die mikrobiellen Abbauprozesse in Wald (Olajuyigbe et al. 2012; Zelinka et al. 2020) und Grünland (Bontti et al. 2009) dar.

Es liegen Studien vor, die eine Reduktion der Abundanz und Diversität mikrobieller Destruenten bei zunehmender Managementintensität wahrnehmen (Gossner et al. 2014, 2016a; Purahong et al. 2014). Aufbauend darauf ergab dieses Experiment, dass sich anthropogene Veränderungen der Diversität in der Aktivität von Totholzbiozönosen widerspiegeln. Es wurde ein negativer Zusammenhang zwischen den CO₂-Emissionsraten und der Waldbewirtschaftungsintensität festgestellt, der in Wäldern mit einem hohen Anteil nicht-einheimischer Baumarten besonders stark ausgeprägt war (Anhang, Tab. 4). Wälder, die von einheimischen Baumarten wie *Fagus* und *Quercus* dominiert wurden, hatten im Vergleich zu Misch- oder Kiefernwäldern höhere CO₂-Emissionsraten. Jede Baumart stellt spezifische ökologische Nischen bereit, die vorrangig von Organismen mit entsprechender Spezialisierung besiedelt werden (Purahong et al. 2018b). Einheimische Baumarten scheinen ökologische Nischen zu bieten, die besser an die Bedürfnisse saprotropher Mikroorganismen angepasst sind. Nadelbäume wurden hingegen aus wirtschaftlichen Gründen angepflanzt (Schall und Ammer 2013; Kahl und Bauhus 2014) und bieten weniger geeignete Ressourcen für die lokalen mikrobiellen Gemeinschaften (Ayres et al. 2009). Besonders betroffen sind Mikroorganismen mit hoher Wirtsspezifität, wie Mutualisten und Destruenten (Lee et al. 2020; Moll et al. 2021a), die sehr empfindlich auf Veränderungen in der Vegetation reagieren (Lauber et al. 2008). Folglich hängt die Diversität saprotropher Mikroorganismen

stark von der lokalen Baumartenvielfalt ab, was darauf hindeutet, dass Wälder mit einheimischen Baumarten bevorzugt besiedelt werden. Zudem prägen die Blätter der Hauptbaumarten den Niederschlagseintrag in den Boden. Gymnospermen sorgen durch ihre Kronendächer für einen geringeren Niederschlagseintrag im Vergleich zu Angiospermen. Dies führt zu trockeneren Bodenbedingungen und einem geringeren Wasserabfluss (Augusto et al. 2015), was wiederum die mikrobielle Aktivität verändert. Diese Unterschiede könnten ein weiterer Grund sein, warum die CO₂-Emissionsraten in Wäldern mit einheimischen Baumarten gesteigert waren.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass extrinsische Einflussfaktoren eine größere Bedeutung für die mikrobielle Aktivität im Totholz haben als für den Masseverlust. Während der Masseverlust der Holzklötze überwiegend durch intrinsische Einflussfaktoren beeinflusst wurde, bestimmten sowohl intrinsische als auch extrinsische Faktoren die mikrobielle Aktivität. Darüber hinaus wurde die Diversität der totholzbewohnenden Gemeinschaften, die wesentlich zur mikrobiellen Aktivität beiträgt, von extrinsischen Bedingungen dominiert (Moll et al. 2024). Da aber nicht alle Mitglieder der Biozönose am Totholzabbau beteiligt sind, spielen extrinsische Einflussfaktoren zwar eine bedeutende, jedoch keine Schlüsselrolle für die CO₂-Emissionsraten. Die Hypothese **H2.2** kann somit nur teilweise bestätigt werden.

3.2.3 Totholz als CH₄-Quelle

Wie zuvor erwähnt, kann Totholz sowohl als potenzielle Senke oder Quelle für CH₄ fungieren (Mukhortova et al. 2021). Während einige Studien ein Gleichgewicht innerhalb der Totholzgemeinschaften zu Gunsten der oxidativen Zersetzung und des CH₄-Verbrauchs zeigten (Carmichael et al. 2024), wurde in anderen Studien ein hoher Anteil an Methanogenen festgestellt (Moll et al. 2018; Yip et al. 2019). Dieses Gleichgewicht zwischen CH₄-Produktion und -Verbrauch reagiert dabei empfindlich auf vielzählige Einflussfaktoren. Im vorliegenden Experiment waren alle Totholzklötze eine CH₄-Quelle (Abb. 10), was mit früheren Ergebnissen übereinstimmt (Covey et al. 2016; Lagomarsino et al. 2021; Mukhortova et al. 2021). Diese CH₄-Produktion wurde sowohl durch intrinsische Holzeigenschaften als auch extrinsische Einflussfaktoren begünstigt (Anhang, Tab. A5), insbesondere jene, die anaerobe Bedingungen im Holz fördern. Die betrachteten Ökosysteme hatten hingegen keinen signifikanten Einfluss. Die Hypothese **H2.3** kann somit größtenteils bestätigt werden, da CH₄ tatsächlich von den totholzbewohnenden Gemeinschaften produziert wurde und mit der Holzfeuchte in Zusammenhang stand. Die genaue Beteiligung an der Totholzzersetzung bleibt jedoch weiterhin unklar.

Der Zusammenhang zwischen CH₄-Emissionsraten und den Baumarten, wie bereits zuvor publiziert (Covey et al. 2016; Warner et al. 2017; Mukhortova et al. 2021), konnte auf bestimmte Holzeigenschaften zurückgeführt werden. Dabei stiegen die CH₄-Emissionen mit abnehmender Holzdichte und zunehmendem Schwefelgehalt an (Anhang, Tab. A4). Eine geringe Holzdichte erhöht die Wasserhaltekapazität des Totholzes (Přivětivý und Šamonil 2021), was die Bildung eines anoxischen Milieus begünstigt und wahrscheinlich die methanogene Aktivität fördert. Der Zusammenhang zwischen dem positiven Einfluss von Schwefel auf die CH₄-Emission ist hingegen bislang nicht vollständig verstanden. Methanogene Mikroorganismen sind für die CH₄-Freisetzung auf das Schlüsselenzym Methyl-Coenzym-M-Reduktase angewiesen (Thauer 1998), das empfindlich auf Schwefeldioxid und andere Schwefelverbindungen reagiert (Khan und Trottier 1978). Insbesondere nicht-bioverfügbare Schwefelverbindungen hemmen den methanogenen Abbau. Wird Schwefel jedoch in bioverfügbarer Form vorgefunden, kann er von den Mitgliedern der zersetzenden

Gemeinschaft direkt assimiliert werden (Schmalenberger et al. 2011) und den biologischen Abbau fördern.

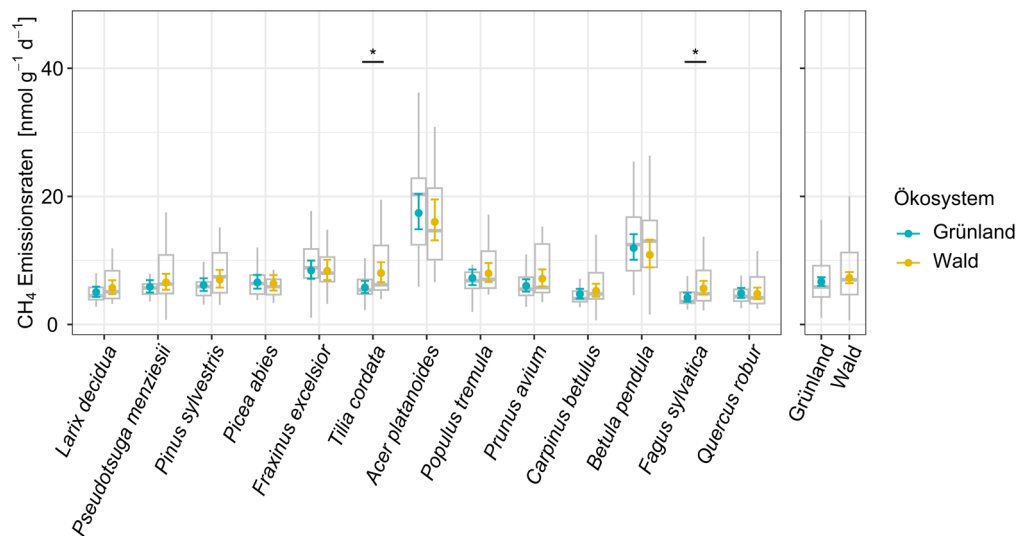


Abbildung 10. Methan (CH₄) Emissionsraten von 13 Baumarten gemäßiger Breiten. Die Analysen basieren auf 340 Holzklötzen aus Wald- und 453 aus Grünlandökosystemen, die über einen Zeitraum von etwa einem Jahr in der Schorfheide-Chorin exponiert wurden. Graue Boxplots stellen die Feldbeobachtungsdaten dar, während in Gelb/Blau die modellbereinigten Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle der einzelnen Mittelwerte dargestellt sind. Signifikante Unterschiede innerhalb und zwischen Grünland- und Waldökosystem sind angegeben und basieren auf dem linear gemischten Modell nach der Methode von Satterthwaite. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

Unter den Umweltfaktoren zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit und den CH₄-Emissionsraten der Holzklötze aus dem Grünland (Anhang, Tab. A5). Eine hohe Luftfeuchtigkeit begünstigt anoxische Bedingungen im Totholz und fördert dadurch methanogene Aktivitäten (Mukhortova et al. 2021). Im Gegensatz dazu wurden in Wäldern niedrigere CH₄-Emissionsraten bei hoher Lufttemperatur beobachtet. Verschiebungen im Temperaturregime haben direkte Auswirkungen auf die Zusammensetzung und Funktion der Archaeengemeinschaft (Conrad et al. 2009), einschließlich der dominanten Methanogenen und Methanotrophen. Sowohl die CH₄-Produktion als auch der CH₄-Verbrauch sind temperaturempfindlich und arbeiten gegenläufig (Mukhortova et al. 2021). Wird die Oxidation von CH₄ durch höhere Temperaturen stärker stimuliert als die Methanogenese, kann dies zu den beobachteten negativen Auswirkungen der Temperatur auf die CH₄-Produktion führen.

Zudem wurden die CH₄-Emissionsraten von den einzelnen Komponenten der Managementintensitäten - Totholzentnahme, Düngung und Beweidung - beeinflusst (Anhang, Tab. 5). Allerdings kompensierten sich diese Effekte gegenseitig, sodass die Gesamtheit der Managementintensitäten keinen Einfluss hatte (Anhang, Tab. A3). Insgesamt demonstrierte das Experiment, dass die CH₄-Emissionsraten sehr empfindlich auf extrinsische Einflüsse reagieren. Bereits kleinste Veränderungen können die Dynamik innerhalb der mikrobiellen Gemeinschaften so beeinflussen, dass entweder methanogene oder methanotrophe Aktivitäten überwiegen. Weiterführende Untersuchungen sind jedoch erforderlich, um zu klären, ob der experimentelle Versuchsaufbau die CH₄-Produktion begünstigt hat.

3.3 Funktionelle Mechanismen saprotropher Pilze beim Totholzabbau

Im dritten Experiment wurden Proben von 8½ Jahre altem Totholz aus der Region Hainich-Dün entnommen. Anschließend wurden die Pilzgemeinschaften und deren enzymatische Maschinerie für den vollständigen Lignocelluloseabbau mittels Metaproteomik analysiert (Abb. 11). Als Grundlage für die taxonomische und funktionelle Zuordnung diente das *a priori* Wissen über die Pilzgemeinschaft auf Fruchtkörperebene, molekulare Analysen (Purahong et al. 2018c; Leonhardt et al. 2019; Moll et al. 2021b; Rieker et al. 2022) und die Sequenzierung neuer Pilzgenome.

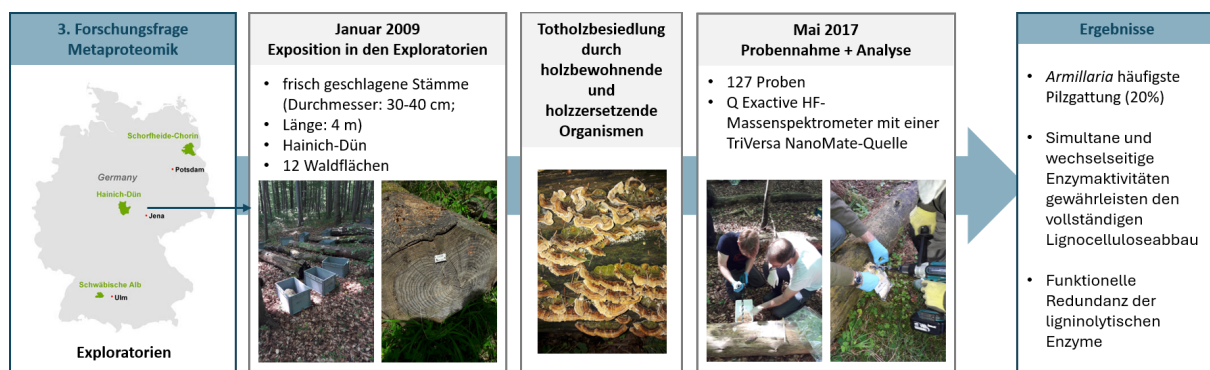


Abbildung 11. Überblick des Experiments zur Beantwortung der 3. Fragestellung. Dafür wurden mit einem Schlangenbohrer Proben von Totholzstämmen entnommen, die etwa 8½ Jahre im Wald exponiert waren. Diese Proben dienen der Metaproteom-Analyse zur Bestimmung der taxonomischen und funktionellen Zusammensetzung der Totholzbiozöten.

3.3.1 Ökophysiologische Struktur der Pilzgemeinschaften

Die taxonomische Charakterisierung der Pilzgemeinschaften basierte auf der Analyse von DNA-Sequenzen und der gesamten Proteinvierfalt. Einen ersten Überblick über die Totholzbiozöten ermöglichte die DNA-basierte Metabarcoding-Analyse. Dabei wurden 1184 OTUs über alle Totholzproben identifiziert, welche 389 verschiedene Pilzgattungen repräsentierten. Aus diesen wurden die häufigsten saprotrophen Pilze ausgewählt und mit bekannten Genomen aus aktuellen Forschungsdaten ergänzt. Daraus entstand ein Datensatz von 84 Pilzgattungen, darunter 45 Ascomycota und 39 Basidiomycota, der als Grundlage für die folgende Metaproteom-Analyse diente. Diese Methode erfasste das gesamte Proteinspektrum der Holzproben, wobei insgesamt 97.490 Pilzproteingruppen annotiert und den 84 Pilzgattungen zugeordnet werden konnten. Der Vergleich von DNA- und proteinbasierten Methoden wurde dadurch beeinflusst, dass diese aufeinander aufbauten. Die bemerkenswert hohe Übereinstimmung auf Gattungsebene, bestätigt durch einen Mantel-Test für die gepoolten Baumarten (Anhang Tab. A6), zeigte dennoch die Replizierbarkeit von DNA- und Proteinanalysen. Auf Ebene der relativen Ranghäufigkeit traten hingegen Unterschiede zwischen den beiden Methoden auf. So dominierte *Armillaria* (22,6 %) den metaproteomischen Ansatz, während die entsprechende OTU im Metabarcoding eine geringe Häufigkeit von 0,08 % aufwies. Diese Diskrepanz basiert vermutlich darauf, dass *Armillaria* aufgrund seiner großen ITS2-Sequenz schwerer zu amplifizieren ist und möglicherweise während der bioinformatischen Filterung im Metabarcoding entfernt wurde. Im Gegensatz dazu erreichte *Cadophora* eine Metabarcoding-Häufigkeit von 5,4 %, jedoch nur eine geringere Häufigkeit von 0,4 % im Metaproteom.

Im analysierten Metaproteom stellten Basidiomycota die dominierende Pilzgruppe dar und bestimmten etwa 67 % der nachgewiesenen Pilzpeptide. Diese Dominanz wurde bereits in früheren molekularbiologischen Untersuchungen ermittelt (Ottosson et al. 2015; Hoppe et al. 2016). Der Großteil der identifizierten Basidiomycota gehörte zu den Weißfäulepilzen, die 67,4 % der gesamten Proteinhäufigkeit ausmachten. Im Vergleich dazu entfielen nur 8,8 % auf Braunfäulepilze, 8,5 % auf

Moderfäulepilze und 15,3 % auf holzassoziierte endophytische und saprotrophe Pilze. Die detaillierte Analyse der Pilzgattungen ergab, dass die vorherrschende Gattung *Armillaria* ein bedeutender Vertreter der Basidiomycota ist. Diese Pilze sind sowohl aggressive Baumparasiten (z. B. Verursacher der Wurzelfäule) als auch leistungsstarke Destruenten (Sipos et al. 2017; Coetzee et al. 2018; Sahu et al. 2023). Sie besitzen ein großes Ausbreitungspotential, indem sie sich im Boden durch wurzelartige Rhizomorphe vermehren (Anderson und Kohn 1995) und anschließend Wurzeln oder Baumstämme besiedeln. Dabei verfügen sie über das gesamte enzymatische Repertoire für den Abbau holziger Biomasse, einschließlich Lignin (Sahu et al. 2023). Zu den nächsthäufigsten Gattungen gehörten beispielsweise *Fomitopsis*, *Hypholoma*, *Mycena*, *Ischnoderma*, *Antrodia*, *Resinicium*, *Trametes*, *Annulohyphoxylon*. Diese Gattungen sind bekannte Holzfäulepilze und in den gemäßigten Wäldern Eurasiens und Nordamerikas weit verbreitet (Wu und Mueller 1997; Lumbsch et al. 2008; Baldrian et al. 2016; Leonhardt et al. 2019).

Diese Ergebnisse stützen die in Hypothese **H3.1** formulierte Annahme, dass Basidiomycota die Hauptakteure bei der Totholzzersetzung sind. Sie untermauern damit frühere Studien, die auf der Analyse des Genoms oder Transkriptoms mikrobieller Totholzgemeinschaften basierten. Während diese Ansätze lediglich potenzielle oder indirekte Hinweise auf die funktionellen Aktivitäten der Organismen liefern, ermöglicht die Metaproteomik eine direkte Erfassung der funktionellen Aktivitäten. Die in dieser Untersuchung betrachteten Enzyme stammten aus der CAZy-Datenbank für kohlenhydrataktive Enzyme und gehören zur Gruppe der lignocellulolytischen CAZymes (Drula et al. 2022). Mit Ausnahme der Gattung *Sugiyamaella* konnte jede der metaproteomisch identifizierten Pilzgattungen mit der Sekretion dieser Enzyme assoziiert werden (Abb. 12). Die wichtigsten lignocellulolytischen CAZyme machten 2,6 % der funktionellen Proteingruppen des gesamten Metaproteoms aus. Den größten Anteil dieser Enzyme produzierte die Gattung *Armillaria*, die eine relative Häufigkeit von 0,6 % aufwies. Die Metaproteom-Analyse belegt somit, dass die Basidiomycota nicht nur häufig vertreten sind, sondern zudem aktiv am Totholzabbau beteiligt sind und damit essenzielle Akteure in diesem Prozess darstellen.

3.3.2 Lignocellulolytische Enzyme der pilzlichen Totholzbiozönosen

Die Untersuchung des enzymatischen Totholzabbaus konzentrierte sich auf den Lignocelluloseabbau. Daher wurden Enzyme der CAZy-Datenbank anhand ihrer Aktivitäten gegenüber Lignin, Cellulose und Hemicellulose sowie damit verbundenen Funktionen, wie der Peroxidproduktion, ausgewählt (Anhang: Enzymverzeichnis). Unter den identifizierten ligninolytischen Enzymen waren Laccasen (AA1) und Klasse-II-Peroxidasen (AA2), wobei letztere die zentrale Enzymgruppe für den Ligninabbau darstellten. Deren Aktivität wurde durch Reaktionsprodukte von Oxidoreduktasen der AA3-Familie unterstützt, die zugleich die abundanteste Enzymklasse über alle Holzproben waren. Vermutlich waren AA3-Enzyme so häufig vertreten, weil sie sowohl den Lignin- als auch den Celluloseabbau fördern. Der Kohlenhydratabbau wurde von einer Vielzahl hydrolytischer Enzyme katalysiert, insbesondere von β -Glucosidasen und Cellobiohydrolasen. Ergänzend wurden alternative Enzymklassen nachgewiesen, vor allem LPMOs, die eine oxidative Spaltung der Cellulose ermöglichten (Abb. 12).

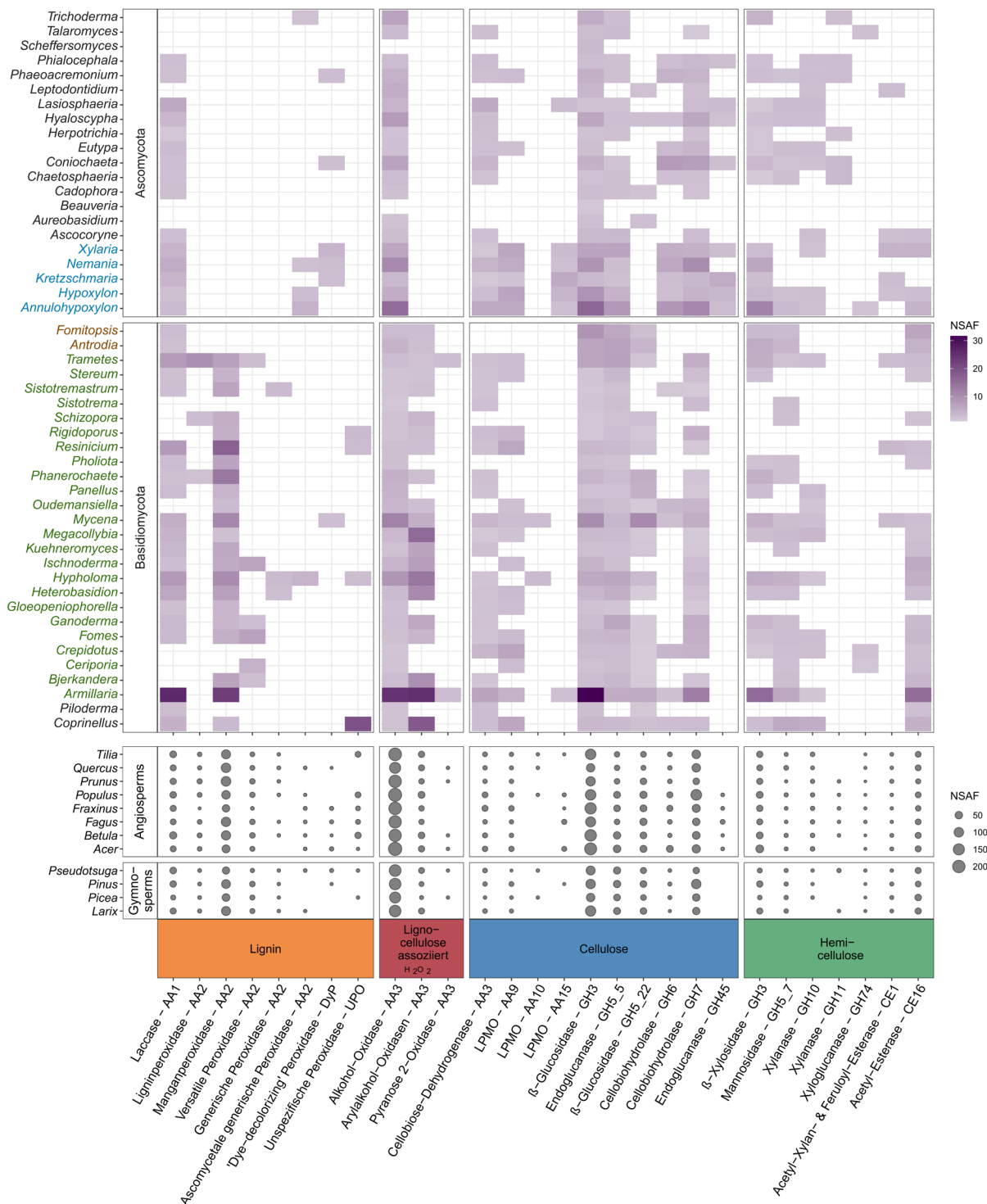


Abbildung 12. Heatmap der pilzlichen Gemeinschaften und deren lignocellulolytischen Enzyme (CAZyme). Dargestellt sind ausgewählte CAZymes, die entweder auf Lignin und/oder andere Aromaten, Cellulose und Hemicellulosen wirken oder unterstützende Funktionen im Zusammenhang mit der Modifikation und dem Abbau von Lignocellulose aufweisen (Lignocellulose-assoziert, H₂O₂-bildend); modifiziert nach Hage und Rosso (2021). Die CAZymes sind den jeweiligen Pilzgattungen aus der zugrundeliegenden Datenbank zugeordnet. Dabei sind Weißfäulepilze grün, Braunfäulepilze braun, Moderfäulepilze blau und andere saprotrophe Pilze schwarz gekennzeichnet. Zudem sind sie den zersetzenden Baumarten zugeordnet und unterteilt in Angiospermen und Gymnospermen. Jeder Wert stellt den mittleren NSAF (normalisierten spektralen Abundanzfaktor) dar.

Die größere Bedeutung für den Ligninabbau hatten jedoch die Klasse-II Peroxidasen (AA2). Die Manganperoxidase erwies sich als eines der abundantesten Enzyme in diesem Experiment (Abb. 12) und stammte von verschiedenen Basidiomycota (Hofrichter 2002; Lundell et al. 2014). Andere Klasse-II Peroxidasen, wie die Ligninperoxidase und Versatile Peroxidase, wurden lediglich von einzelnen

Basidiomycota gebildet und waren nur in geringen Mengen nachweisbar. Im Gegensatz zur Manganperoxidase sind diese Enzyme in den meisten Pilzgenomen seltener vertreten (Floudas et al. 2012; Ruiz-Dueñas et al. 2021). Die vorliegenden Ergebnisse bekräftigen somit die Schlüsselrolle der Manganperoxidase beim Ligninabbau durch Basidiomycota, was bereits in früheren Feldstudien und Laborexperimenten vermutet wurde (Hofrichter et al. 1999, 2010; Leonhardt et al. 2019). Das Vorkommen ascomycetaler Peroxidasen, wie die generische Peroxidase, UPO und DyP, war in den untersuchten Holzproben gering. Eine bemerkenswerte Ausnahme bildeten einige Moderfäulepilze der Ordnung *Xylariales* und zwei Phytopathogene, die DyP-Proteine in moderaten Mengen in Angiospermen sekretierten. Bisher konnte DyP nur aus dem ascomycetalen Moderfäulepilz *Xylaria grammica* isoliert werden (Kimani et al. 2021). Durch umfassende phylogenetische Analysen von Peroxidasen wurde jedoch das Vorkommen von DyP in weiteren Ascomycota belegt (Adamo et al. 2022; Yoshida und Sugano 2023).

Der ligninolytische Abbau wurde durch Oxidoreduktasen der CAZyme-Familie AA3 unterstützt, die über alle Holzproben hinweg die abundanteste Enzymklasse darstellten (Abb. 12). Den größten Anteil bestimmten die Alkohol-Oxidasen, daneben wurden Arylalkohol-Oxidasen und Cellobiose-Dehydrogenasen nachgewiesen. Bemerkenswerterweise wurden diese Enzyme von vielfältigen Pilzgattungen sekretiert, darunter sowohl Basidiomycota als auch Ascomycota. Dieses verbreitete Vorkommen beruht vermutlich auf ihrer umfassenden funktionalen Reichweite bei der Lignocellulolyse und ihren Interaktionen mit anderen Enzymen. Obwohl AA3-Oxidoreduktasen nicht direkt Lignocellulose spalten, reduzieren sie niedermolekulare Pflanzenbestandteile und erzeugen damit Elektronenquellen für lignocellulolytische Enzyme (Sütl et al. 2018). Eine wichtige Elektronenquelle ist extrazelluläres H_2O_2 (Daniel et al. 2007), das als Co-Substrat für Klasse-II Peroxidasen, LPMOs und die Fenton-Reaktion dient (Hammel und Cullen 2008; Bissaro et al. 2017). Die unterstützende Funktion der AA3-Enzyme im Ligninabbau wurde durch positive Korrelationen mit den detektierten Klasse-II Peroxidasen belegt (Anhang: Abb. A1). Dieser Zusammenhang zeigte sich insbesondere bei Basidiomycota aus angiospermen und gymnospermen Totholz. Bei Ascomycota dagegen korrelierte die hohe Sekretion von AA3-Enzymen nicht mit Klasse-II Peroxidasen. Dies könnte auf eine stärkere Beteiligung an der Aktivierung von LPMOs für den Celluloseabbau (Qin et al. 2023) oder an alternativen, radikalbasierten Mechanismen hinweisen (Hyde und Wood 1997). Insgesamt verdeutlichen diese Ergebnisse die zentrale Bedeutung der AA3-Oxidoreduktasen als unterstützendes Enzym beim ligninolytischen Abbau und deren ubiquitäres Vorkommen im Totholz gemäßigter Wälder.

Die Beteiligung der AA3-Oxidoreduktasen am Celluloseabbau wurde durch deren positive Korrelationen mit den LPMOs gezeigt (Anhang: Abb. A1). LPMOs sind kupferhaltige Biokatalysatoren, die als Monooxygenasen und Peroxygenasen/Peroxidasen fungieren können (Tandrup et al. 2018; Stepnov et al. 2022). Die Interaktion mit H_2O_2 -bildenden Enzymen wie den AA3-Oxidoreduktasen kann dabei den Celluloseabbau fördern. Zum Beispiel oxidiert die Cellobiose-Dehydrogenase (AA3) Zucker zu den entsprechenden Lactonen und gibt die abstrahierten Elektronen direkt an Partnerenzyme weiter oder reduziert O_2 zu H_2O_2 (Csarman et al. 2020; Wang et al. 2021). Das gebildete H_2O_2 versorgt wiederum die LPMOs und fördert deren Peroxygenase-Modus (Kont et al. 2020; Rieder et al. 2021), was zur Spaltung der β -1,4-Glycosidbindung von Cellulose führt (Beeson et al. 2012; Bissaro et al. 2017). Zusammenfassend katalysieren LPMOs den initialen Abbau kristalliner Cellulose durch oxidative Spaltung glycosidischer Bindungen und erhöhen zusätzlich die Effizienz hydrolytischer Cellulasen (Bissaro et al. 2018). In diesem Experiment gehörten die häufigsten LPMOs zur Familie AA9, wurden in allen Baumarten nachgewiesen und stammten neben Basidiomycota vor allem von Ascomycota der Gattung *Xylaria* (Abb. 12).

Die zuvor erwähnten Cellobiose-Dehydrogenasen und LPMOs sind am Celluloseabbau beteiligt und zählen zur alternativen Enzymklasse des Kohlenhydratabbaus. Der eigentliche Abbau wird hingegen von hydrolytischen Enzymen durchgeführt, die sowohl Cellulose als auch Hemicellulose spalten (Lundell et al. 2014). Für den Celluloseabbau sind vor allem Cellulasen entscheidend, die in Synergie mit LPMOs sowohl amorphe als auch kristalline Bereiche der Cellulose zersetzen (Martínez et al. 2017; Tokin et al. 2020). Cellulasen spalten dabei den amorphen Bereich der Cellulose durch das Zusammenspiel dreier zentraler Enzymgruppen: Endoglucanasen, Exoglucanasen (Cellobiohydrolasen) und β -Glucosidasen. Diese Enzymgruppen wurden in allen Holzproben nachgewiesen. Die Endoglucanasen (GH5_5), Cellobiohydrolasen (GH6 und GH7) und β -Glucosidasen (GH3 und GH5_22) wurden in großen Mengen von Ascomycota und Basidiomycota sekretiert (Abb. 12). Entsprechend kann angenommen werden, dass die Pilzgemeinschaft in allen Holzproben Cellulose vollständig zu Glucose metabolisierte. Hemicellulose, ein weiterer Bestandteil der Pflanzenzelle, ist sowohl hinsichtlich der Monomere als auch ihrer Bindungszusammensetzung wesentlich heterogener als die Cellulose. Entsprechend erfordert der hemicellulolytische Abbau eine größere Vielfalt an Enzymen. In geringem Umfang waren hemicellulolytische Enzyme wie Xylanasen (GH10, GH11), β -Xylosidasen (GH3), Mannosidasen (GH5_7) und Xyloglucanasen (GH74) in den Totholzproben vorhanden. Diese Enzyme spalten Monosaccharide wie Xylose und Mannose aus dem Rückgrat verschiedener Hemicellulose-Bausteine (Hori et al. 2018). Zudem wurde in den Totholzproben die Acetyl-Esterase (CE16) nachgewiesen (Abb. 12), welche Essigsäure aus acetylierten Xylose- oder Mannoseanteilen im Rückgrat der Hemicellulosen (Xylane, Glucomannane) freisetzt. Während der Verzuckerung schaffen Acetylgruppen in Xylanen und Mannanen sterische Hindernisse, die das Ausmaß der Hydrolyse begrenzen, indem sie die Bindung vieler hydrolytischer Enzyme verringern. Die Deacetylierung von Hemicellulosen ist daher eine Voraussetzung für ihre Verzuckerung, die wiederum wichtig für die Öffnung der Celluloseoberfläche für cellulolytische Enzyme ist (Zhang et al. 2011). Die in dieser Studie identifizierten cellulolytischen und hemicellulolytischen Enzyme sind bereits aus großen Genomsequenzierungsprojekten und zahlreichen Laborstudien bekannt (Baldrian und Valášková 2008; Leonhardt et al. 2019; Ruiz-Dueñas et al. 2021). Mit diesem Experiment konnten diese Enzyme nun erstmals in einem Feldversuch nachgewiesen werden.

Die Metaproteom-Analyse lieferte eine detaillierte Aufschlüsselung der lignocellulolytischen Enzyme und deren pilzlicher Herkunft. Wie bereits anhand der Artenvielfalt gesehen, dominierten Basidiomycota und produzierten einen erheblichen Anteil dieser Enzyme. Gleichzeitig waren zahlreiche Ascomycota am Celluloseabbau beteiligt. Die Hypothese **H3.1**, die Basidiomycota als primäre Akteure der Totholzzersetzung beschreibt, kann daher nur teilweise bestätigt werden.

3.3.3 Funktionelle Redundanz der lignocellulolytischen Enzyme trotz Wirtsspezifität

Die Metaproteom-Analyse ermöglichte die Identifizierung lignocellulolytisch aktiver Pilzgattungen, die direkt am Abbauprozess beteiligt waren. Diese Pilzgattungen produzierten in allen untersuchten Totholzproben die notwendigen Enzyme für den vollständigen Lignocelluloseabbau. Erst bei der detaillierteren Analyse der Enzymzusammensetzung und Pilzgattungen traten baumartspezifische Unterschiede hervor (Anhang, Tab. 7). Zum Zeitpunkt der Probennahme lagen die Totholzstämme bereits 8½ Jahre im Exploratorium und befanden sich in sehr variablen Zersetzungsstadien. Da sich im Verlauf der Zersetzung die Totholzbiozöten und deren funktionale Merkmale verändern (Boddy 2001; Fukasawa et al. 2009; Boddy und Hiscox 2016), wurde überprüft, ob der beobachtete Baumarteneffekt auf die taxonomische und funktionelle Diversität indirekt durch den Zersetzungsgrad beeinflusst wurde. Hierzu wurde für jede Holzprobe ein geschätzter Masseverlust berechnet, basierend auf Zerfallsmodellen aus Daten von 1.066 Stämmen des BELongDead-Experiments

(Edelmann et al. 2023). Die berechneten Masseverluste variierten baumartenspezifisch zwischen 17,1 % und 78,1 % (Anhang: Abb. A2), mit den geringsten Werten bei *Fraxinus* (34 ± 11 %) und höchsten bei *Betula* (67 ± 8 %) und *Fagus* (65 ± 3 %). Obwohl sowohl der geschätzte Masseverlust als auch die normalisierte Abundanz/NSAF der lignocellulolytischen Enzymklassen baumartenspezifische Unterschiede aufwiesen, ergab deren Korrelation keinen signifikanten Zusammenhang innerhalb der einzelnen Baumarten. Erst bei Vernachlässigung der Baumartidentität konnte ein positiver Zusammenhang zwischen Masseverlust und der summierten Abundanz/NSAF aller CAZymes festgestellt werden (Anhang: Abb. A2). Dieses Ergebnis unterstreicht, dass die Enzymzusammensetzung durch die Baumart geprägt wurde und nicht ausschließlich durch die Zersetzungsraten.

Der Einfluss der Baumarten wurde auf taxonomischer Ebene sowohl für die gesamte totholzbewohnende Pilzbiozönose anhand der Metabarcoding-Analyse als auch allein für die lignocellulolytisch aktiven Pilzgattungen auf Basis des Metaproteoms nachgewiesen (Anhang, Tab. 7). Beide Analysen wiesen insbesondere starke Unterschiede zwischen den Pilzbiozönosen von angiospermen und gymnospermen Totholzstämmen auf. Diese signifikanten Baumarteneffekte sprechen für eine Wirtsspezialisierung der Pilze (Purahong et al. 2018c, b). Jede Pilzart besetzt eine artspezifische ökologische Nische, die sich grundlegend von den Nischen anderer Arten im selben Habitat unterscheidet (Polechová und Storch 2008). Diese Nischensonderung ermöglicht eine effiziente Ressourcenaufteilung zwischen konkurrierenden Arten und spricht für hochspezialisierte, wirtsspezifische Organismen. Unklar bleibt jedoch, inwieweit Nischenüberlappungen zwischen konkurrierenden Arten toleriert werden. Diese Frage stellt sich, da innerhalb einer Holzprobe verschiedene Pilzgattungen entscheidende Enzyme für den Lignocelluloseabbau – wie Laccasen, Manganperoxidasen, Alkohol-Oxidasen, Endoglucanasen, Cellobiohydrolasen und β -Glucosidasen – produzierten. Konkurrenzen um die Ressource Totholz schienen in den Proben insbesondere zwischen totholzabbauenden Pilzen und totholzbewohnenden Pilzen zu bestehen. Gezeigt wurde dies durch die separate Betrachtung der gesamten Pilzbiozönosen und der CAZyme-aktiven Pilze. Eine erhöhte Artenanzahl der gesamten totholzbewohnenden Pilzgemeinschaft, gemessen anhand der OTUs in der Metabarcoding-Analyse, stand dabei im Verhältnis zu einer geringeren CAZyme-Enzymhäufigkeit (Abb. 13A). Je höher die Populationsdichte im Totholz, desto größer war die Konkurrenz für saprotrophe Pilze, was zu einer verringerten Produktion lignocellulolytischer Enzyme führte. Methodisch ist hinzuweisen, dass die Metabarcoding-Analyse auch „tote“ DNA erfasst, was die Ergebnisse beeinflussen haben könnte. Dennoch lässt dies Konkurrenzen innerhalb der Pilzgemeinschaften vermuten, was bereits in Laborversuchen zu unterschiedlichen Abbaustadien deutlich wurde (Fukasawa und Matsukura 2021). Im Gegensatz dazu deuten die Ergebnisse für die CAZyme-aktiven Pilzgattungen auf Koexistenz hin, die auf eine gewisse Nischenüberlappung schließen lassen. Die positive Korrelation zwischen den „aktiven“ enzymproduzierenden Pilzgattungen und den CAZyme-Enzymhäufigkeiten (Abb. 13A) bekräftigt, dass eine erhöhte Anzahl saprotropher Pilze mit einer gesteigerten Enzymproduktion assoziiert ist. Ähnliche positive Zusammenhänge wurden bereits in Feldstudien beobachtet, bei denen aktive holzzersetzende Arten eine erhöhte mikrobielle Aktivität aufwiesen (Kahl et al. 2015; Pastorelli et al. 2020). Es scheint, dass taxonomisch unterschiedliche Pilzarten koexistieren oder interagieren, um den Totholzabbau aufrechtzuerhalten. Für diese Koexistenz spricht das gleichzeitige Auftreten von cellulolytischen, hemicellulolytischen und ligninolytischen Enzymen in den Totholzproben. Zusätzlich deuten die positiven Korrelationen von AA3-Oxidoreduktasen mit Klasse-II Peroxidasen oder LPMO auf ineinandergreifende Wirkmechanismen der Enzyme hin. Bei der Analyse von Enzymen und Pilzarten basierend auf dem gleichen Metaproteom-Datensatz sind jedoch

Autokorrelationen nicht auszuschließen. Dies sollte berücksichtigt und durch ergänzende Methoden, wie beispielsweise Transkriptomik, überprüft werden. Trotzdem stützen diese Ergebnisse die Hypothese **H3.2**, welche simultane und gegenseitige Abhängigkeiten zwischen Pilzen und ihren enzymatischen Prozessen postulierte.

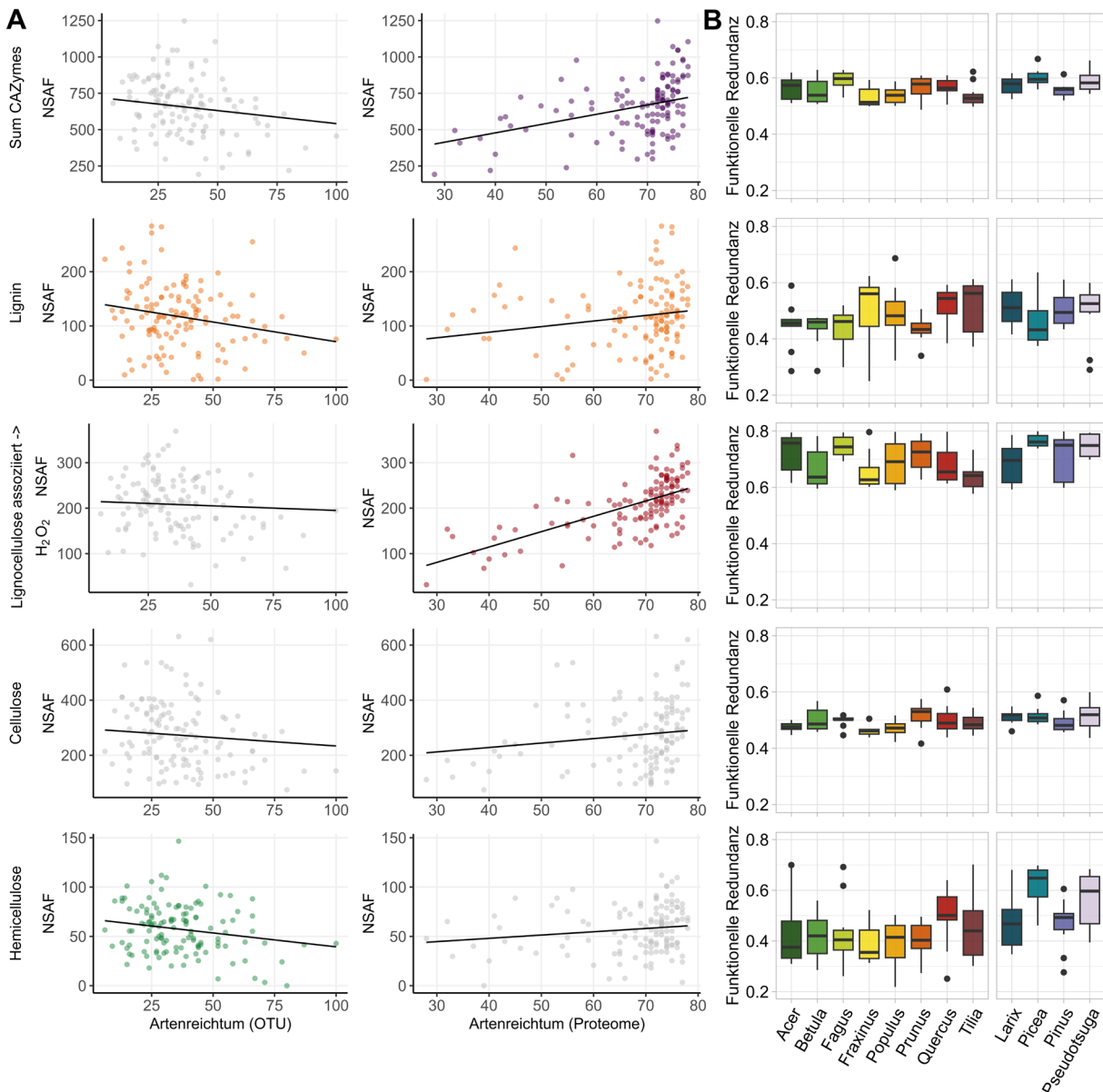


Abbildung 13. (A) Auswirkungen des Metabarcoding- und des Metaproteomik-basierten Pilzartenreichtums auf die Aktivität der CAzyme (NSAF - normalisierter spektraler Abundanzfaktor) und deren substratspezifische Enzymklassen. Die Linien stellen Anpassungen des linearen gemischten Modells dar, wobei die Baumart als Zufallsfaktor diente. Signifikante Beziehungen ($p < 0,05$) sind als farbige Punkte dargestellt, während graue Punkte nicht signifikante Beziehungen anzeigen. **(B) Die funktionelle Redundanz der lignocellulolytischen CAzyme** wurde für Baumarten und getrennt nach substratspezifischen Enzymklassen bewertet. Die Berechnung erfolgte gemäß Ricotta und Pavoine (2016), wobei die funktionelle Redundanz auf Gemeinschaftsebene bestimmt wurde.

Die Fähigkeit verschiedener Organismen, gleiche oder ähnliche Funktionen auszuführen, weist auf eine funktionelle Redundanz hin (Allison und Martiny 2008; Louca et al. 2018) und ist ein weithin anerkannter Mechanismus zum Erhalt von Ökosystemfunktionen (Louca et al. 2018; Mascarenhas et al. 2020). Bei der Totholzzersetzung gelten Weißfäulepilze und in gewissem Maße Braunfäulepilze und Weichfäulepilze als Hauptakteure. Veränderungen oder Manipulationen dieser Gemeinschaften dürften demnach nur begrenzte Auswirkungen auf den Zersetzungsprozess haben (Purahong et al. 2018a). Im vorliegenden Experiment lag der Fokus auf dem aktiven Anteil der Destruenten, indem nur die vorhandenen lignocellulolytischen Enzyme und ihr Pilzsprung analysiert wurden. Über alle Holzproben hinweg bestand eine gewisse funktionelle Redundanz für diese Enzyme (Abb. 13B), die sicherlich von Schlüsselenzymen wie Manganperoxidasen, Alkohol-Oxidasen und mehreren Hydrolasen angetrieben wurde. Die höchste funktionelle Redundanz wurde für H₂O₂-produzierende AA3-Oxidoreduktasen festgestellt (Abb. 13B). Da AA3-Oxidoreduktasen Peroxid als Co-Substrat für andere ligninolytische Enzyme wie Peroxidasen und LPMOs bereitstellen, erscheint dies weitgehend nachvollziehbar. Des Weiteren sind Genduplikationen für AA3-Oxidoreduktasen innerhalb eines Organismus bekannt (Taylor 2011; Sützl et al. 2018). Wird ein Enzym durch mehrere Gene kodiert, kann dies eine funktionelle Kompensation von Defiziten ermöglichen (Salame et al. 2013) und dient höchstwahrscheinlich der Anpassung von Pilzorganismen an unterschiedliche Ressourcen. Die weiteren lignocellulolytischen Enzyme kamen eher punktuell zum Einsatz, was sich in entsprechend geringeren funktionellen Redundanzen äußerte (Abb. 13B). Angesichts des ausgeprägten Baumarteneffekts und der damit verbundenen Spezialisierung der Pilzgemeinschaften war lediglich die Kerngemeinschaft funktionell ähnlich und setzte redundante Enzyme ein. Dies weist auf ein Zusammenspiel von Wirtsspezifität und funktioneller Redundanz der lignocellulolytischen Enzyme hin, wie es in der Hypothese **H3.3** postuliert wurde.

3.4 Synthese und Schlussfolgerung

Die zuvor beschriebenen Experimente wurden als Teilprojekt der BELongDead-Studie durchgeführt, um systematisch die Zersetzungsraten, die Rolle mikrobieller Aktivitäten und die funktionelle Beteiligung der Pilzgemeinschaften zu untersuchen. Trotz methodischer Unterschiede – wie der Einsatz von sterilen Holzklötzen mit einjähriger Exposition im Vergleich zu Holzstämmen mit 8½-jähriger Expositionsdauer – ermöglichte die Integration der Experimente in die Biodiversitäts-Exploratorien eine robuste und replizierbare Analyse. Dies gewährleistete sowohl die Bearbeitung einer hohen Probenanzahl im Holzklötze-Experiment als auch ein tiefgehendes, mechanistisches Verständnis des lignocellulolytischen Enzymapparats unter *in situ* Bedingungen.

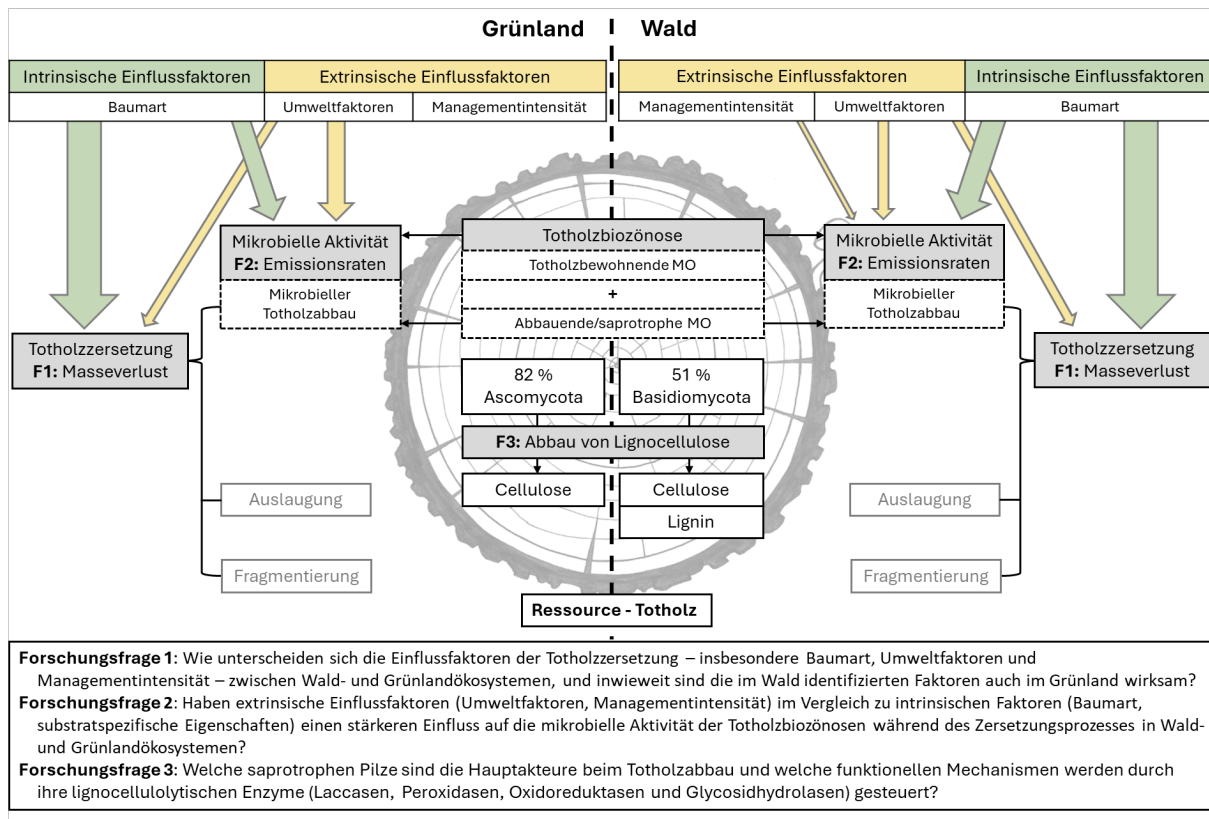


Abbildung 15. Zusammenfassung der drei Forschungsfragen. Im Rahmen der BELongDead-Studie wurden drei Experimente durchgeführt, um (F1) die Zersetzungsraten (Masseverlust), (F2) die mikrobiellen Aktivitäten (CO_2 -Emissionsraten) und (F3) die funktionelle Bedeutung von Pilzgemeinschaften (Metaproteom) systematisch zu untersuchen. Es zeigte sich, dass die Baumarten ökosystemübergreifend den Masseverlust beeinflussten. Hingegen wurden die mikrobiellen Aktivitäten durch ein Zusammenspiel von intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren gesteuert, insbesondere im Grünland. Zu den zentralen Akteuren des Totholzabbaus zählten die Basidiomycota, die einen erheblichen Anteil der lignocellulolytischen Enzyme produzierten, während Ascomycota vor allem Enzyme für den Celluloseabbau sekretierten. Ergänzt wurden diese Erkenntnisse durch Moll et al. (2024).

Diese Experimente erlaubten eine fundierte Beantwortung der aufgestellten Forschungsfragen und bilden die Grundlage für die Synthese. Zur ersten Forschungsfrage zeigte sich, dass die Effizienz der Zersetzung, gemessen am Masseverlust, primär durch die Baumart bestimmt wurde. Dieser intrinsische Einflussfaktor wirkte ökosystemübergreifend und beeinflusste auch im Grünland maßgeblich die Zersetzungsraten. Dabei waren die zugrundeliegenden substratspezifischen Holzeigenschaften in beiden Ökosystemen identisch. Die mikrobielle Aktivität wurde hingegen durch ein Zusammenwirken von intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren gesteuert, was die zweite Forschungsfrage beantwortet. Extrinsische Bedingungen, wie spezifische Umweltfaktoren und Managementintensitäten, hatten dabei einen stärkeren Einfluss auf die CO_2 -Emissionsraten als auf den Masseverlust. Dieser Effekt manifestierte sich insbesondere im Grünland. Die dritte Forschungsfrage zu den Hauptakteuren des Lignocelluloseabbaus wurde durch die metaproteomische Analyse beantwortet. Basidiomycota dominierten den Totholzabbau, da sie einen erheblichen Anteil der lignocellulolytischen Enzyme produzierten. Gleichzeitig trugen zahlreiche Ascomycota und Basidiomycota zur effizienten Metabolisierung von Cellulose bei. Dieses breite Enzymspektrum verdeutlichte die simultanen und gegenseitigen Abhängigkeiten, die für den vollständigen Abbau von Lignocellulose erforderlich sind. Insgesamt wurde der Totholzabbau durch ein Zusammenspiel von Wirtsspezifität und funktioneller Redundanz innerhalb der Pilzgemeinschaften geprägt.

3.4.1 Einfluss der ökosystemabhängigen Totholzbesiedlung auf die Zersetzungsprozesse

Untersucht wurde die Totholzzersetzung im Wald- und Grünlandökosystem mithilfe standardisierter Holzklötze, die vor der Exposition einer Gamma-Bestrahlung unterzogen wurden. Diese Behandlung eliminierte die im lebenden Holz vorhandenen Endophyten vollständig (Sharman und Smith 1970; Song et al. 2017) und ermöglichte eine gezielte Untersuchung der Totholzbesiedlung durch die Bodenmikrobiome von zwei sehr unterschiedlichen Ökosystemen. Beide Bodenmikrobiome weisen charakteristische Merkmale auf, die wiederum spezifische Ökosystemfunktionen bedingen. Die Zersetzung stellt eine gemeinsame Ökosystemfunktion dar, die das Vorkommen saprotropher Mikroorganismen voraussetzt. Es bestehen jedoch taxonomische und funktionelle Unterschiede zwischen den Saprophyten der beiden Ökosysteme, die auf den jeweiligen Zielsubstraten beruhen (Kaiser et al. 2016; Smith und Peay 2021). Im Grünland konzentriert sich die Zersetzung primär auf Wurzeln und Gräser, während Totholz nur in geringem Maße verfügbar ist. Folglich dominieren dort bakterielle Gemeinschaften, die effizienter labile Substrate abbauen (Crowther et al. 2019). Hingegen bieten Wälder eine optimalere Umgebung für Gemeinschaften mit einem genetischen Potential für den Lignocelluloseabbau (Argiroff et al. 2023).

Über die Herkunft saprotropher Mikroorganismen im Grünland sowie über deren Fähigkeit zum effizienten Ligninabbau ist bislang wenig bekannt. Einen ersten Hinweis für den gezielten Ligninabbau im Grünland lieferte die Studie von Smith und Peay (2021). Diese zeigte, dass saprotrophe Organismen, die eigentlich in Wäldern heimisch sind, aufgrund eines vorteilhaften Ausbreitungspotenzials angrenzende Lebensräume besiedeln können. Allerdings sanken sowohl die Besiedlungs- als auch die Zersetzungsraten der saprotrophen Pilze mit zunehmender Entfernung vom Wald. Es existieren weitere Belege für das Vorkommen saprotropher Mikroorganismen im Grünland (Kaiser 2016), wobei insbesondere seltenere, nicht-heimische Spezies am Ligninabbau beteiligt waren (Deacon et al. 2006). Diese Spezies wiesen eine höhere Gesamtaktivität auf, konnten ein breiteres Spektrum an Substraten nutzen und waren kompetitiver als die heimischen Mikroorganismen. Diese Eigenschaften sprechen für höhere Anpassungsfähigkeiten oder Generalität im Zersetzungsprozess und gehörten zu Pilzgattungen wie *Mycena*, *Trichoderma*, *Coprinellus* und *Aureobasidium* (Deacon et al. 2006; Francioli et al. 2021). Diese Pilzgattungen wurden ebenfalls in der externen Metabarcoding-Analyse des Holzklötze-Experiments für *Fagus*, *Pinus* und *Picea* nachgewiesen, in dessen Rahmen der Masseverlust und die Emissionsraten gemessen wurden (Moll et al. 2024). Unter den abundantesten Mikroorganismen in Wäldern waren typische Holzzersetzer wie *Mycena*, *Chaetosphaeria* und *Hyaloscypha*, während *Exophiala* und *Dinemasporium* dominanter im Grünland auftraten. Holzabbauende Generalisten und Endophyten wie *Coniochaeta*, *Phialocephala*, *Mollisia* und *Sistotrema* waren zu ähnlichen Anteilen in beiden Ökosystemen vertreten (Moll et al. 2024). Für einige dieser Gattungen konnte durch die Metaproteom-Analyse deren Beteiligung am lignocellulolytischen Totholzabbau festgestellt werden (Abb. 12). Dabei produzierten die Pilzgattungen *Mycena*, *Coniochaeta* und *Sistotrema* moderate Mengen der Enzyme Alkohol-Oxidase und β -1,4-Glucosidase. Somit bestärken diese Ergebnisse, dass der mikrobielle Holzabbau auch außerhalb seines typischen Ökosystems, dem Wald, stattfinden kann.

Trotz der Präsenz saprotropher Mikroorganismen im Grünland war der Masseverlust im Wald signifikant höher (Abb. 6). Gleichzeitig wiesen die Holzklötze im Grünland ähnlichere CO₂-Emissionsraten (Abb. 9) und einen höheren durchschnittlichen Artenreichtum auf (Moll et al. 2024). Die Kombination aus einem hohen Artenreichtum und einer mikrobiellen Aktivität, die sich jener im Wald annäherte, bei insgesamt geringeren Zersetzungsraten, deutet darauf hin, dass im Grünland weniger Saprotrophe das Totholz kolonisierten. Folglich trug lediglich ein geringer Anteil der

Gemeinschaft aktiv zur Zersetzung bei. Die Holzbesiedlung ist somit ein Wettbewerb um Ressourcen, definiert von dem genetischen Potenzial der Mitglieder sowie Konkurrenz und Interaktionen zwischen den Arten (Maynard et al. 2018; Fukasawa und Matsukura 2021; Argiroff et al. 2023). Genombasierte Studien publizierten bereits den positiven Zusammenhang zwischen den Zersetzungsraten und dem Potenzial der Pilzgemeinschaften für den Abbau pflanzlicher Biomasse (Floudas et al., 2012; Nagy et al., 2016; Riley et al., 2014). Der Artenreichtum kann daher bereits erste Hinweise auf die Funktionalität einer Gemeinschaft liefern. Entscheidend für die Zersetzungsraten sind jedoch die tatsächlich sekretierten lignocellulolytischen Enzyme.

Hinweise, inwieweit sich das genetische Potential der Pilzarten schlussendlich in den sekretierten Enzymen äußert, lieferte die Metaproteom-Analyse. Das Holzklötze-Experiment bekräftigend, nahm dabei mit steigendem Artenreichtum der gesamten totholzbewohnenden Pilzgemeinschaft (OTUs des Metabarcoding) die lignocellulolytische Enzymproduktion ab (Abb. 13). Ein solcher Zusammenhang wurde bereits beschrieben (Fukasawa und Matsukura 2021; Moll et al. 2024) und auf kompetitive Interaktionen innerhalb der Totholzbiozöten zurückgeführt (Smith und Peay 2021). Neben konkurrierenden Beziehungen bestehen zwischen den Arten auch förderliche Interaktionen und Komplementaritäten. Für die Totholzzersetzung bedeutet dies, dass die Ökosystemfunktion positiv mit dem steigenden Artenreichtum saprotropher Pilze korreliert. Für die Wurzelfäule wurde dies bereits gezeigt, insbesondere für Pilzgemeinschaften mit einem hohen genetischen Potenzial für den Abbau von Cellulose und Hemicellulose (Argiroff et al. 2023). Ergänzend dazu detektierte die Metaproteom-Analyse im Totholz einen positiven Trend zwischen den saprotrophen Pilzen und den lignocellulolytischen Enzymhäufigkeiten (Abb. 13). Voraussetzung für solche positiven Zusammenhänge sind eine gewisse Koexistenz und Interaktion der beteiligten Mikroorganismen. Um eine Koexistenz zu ermöglichen, haben sich die saprotrophen Pilze offenbar auf unterschiedliche Bestandteile der Lignocellulose spezialisiert, wodurch Nischenüberlappungen reduziert werden. Hierauf verweist das gleichzeitige Vorkommen von cellulolytischen, hemicellulolytischen und ligninolytischen Enzymen innerhalb der Totholzproben. Interessanterweise scheint diese Koexistenz sogar bis hin zu wechselseitigen Interaktionen optimiert worden zu sein, mit dem Ergebnis einer effizienteren Zersetzung. Ein Beispiel dafür sind die positiven Korrelationen zwischen H_2O_2 -produzierenden AA3-Oxidoreduktasen und peroxidabhängigen Enzymen (Anhang Abb. A1). Die AA3-Oxidoreduktasen erzeugen extrazelluläres H_2O_2 (Sütl et al. 2018), das entweder von Klasse-II-Peroxidasen der AA2-Familie oder von LPMOs als Substrat genutzt werden kann (Bissaro et al. 2017), wodurch der Lignocelluloseabbau gefördert wird. Zusätzlich bestanden positive Korrelationen zwischen Polysaccharid-abbauenden Enzymen und ligninolytischen Enzymen (Anhang Abb. A1). Da Lignin eng mit Cellulosemikrofibrillen verknüpft ist, erhöhen ligninolytische Enzyme in stark lignifizierten Substraten wie Holz die Zugänglichkeit der Polysaccharide für den mikrobiellen Abbau. Zusammenfassend deuten die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass saprotrophe Pilze eher in Konkurrenz zu holzbewohnenden Mikroorganismen stehen, während sie untereinander durch Koexistenz und Interaktionen zur Aufrechterhaltung von Ökosystemfunktionen, wie der Totholzzersetzung und dem Nährstoffkreislauf, beitragen.

3.4.2 Ökosystembedingte Gewichtung der intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren

Diese Arbeit untersucht 13 gemäßigte Baumarten repräsentativ für die intrinsischen Einflussfaktoren, wobei *Carpinus* in der Metaproteom-Analyse fehlte. Die zentrale Bedeutung der Baumart für die Zersetzungsprozesse wurde bereits belegt – sowohl für die Zersetzungsraten (Weedon et al. 2009; Freschet et al. 2012; Kahl et al. 2017; Hu et al. 2018; Edelmann et al. 2023), als auch für die Biodiversität der totholzbesiedelnden Gemeinschaften (Purahong et al. 2018b) und deren Aktivität gemessen an

den CO₂-Emissionsraten (Kahl et al. 2015; Warner et al. 2017; Harmon et al. 2020). Die vorliegenden Ergebnisse bestärken die Schlüsselrolle der Baumart für die Totholzzersetzung (Anhang, Tab. A2, A4). Bemerkenswert ist, dass dieser Einflussfaktor ökosystemübergreifend wirkte, wie das großangelegte Holzklötze-Experiment belegt. Sowohl im Wald als auch im Grünland beeinflussten die Baumarten den Masseverlust und die CO₂-Emissionen. Beide Prozesse wurden im Wald von denselben substratspezifischen Holzeigenschaften gesteuert. Im Grünland bestimmten diese Holzeigenschaften ebenfalls den Masseverlust, während auf die CO₂-Emissionen ausschließlich die Holzdichte einen messbaren Einfluss hatte (Anhang Tab. A4). Stattdessen zeigten extrinsische Faktoren einen zunehmend größeren Einfluss.

Warum jedoch unterlag der Masseverlust in beiden Ökosystemen denselben Holzeigenschaften, während im Grünland nur die Holzdichte die mikrobielle Aktivität bestimmte? Ziel der Zersetzung ist stets der vollständige Abbau abgestorbener, organischer Substanzen. Da sich die intrinsischen Eigenschaften des Substrats nicht durch das Ökosystem verändern, liegt es nahe, dass die Holzeigenschaften die grundlegenden Zersetzungsprozesse beeinflussen. Unterschiede ergeben sich vielmehr in der Geschwindigkeit der Zersetzung, welche in engem Zusammenhang mit der Diversität und Aktivität der mikrobiellen Gemeinschaften steht. Die Metabarcoding-Analyse der Holzklötze detektierte individuelle Biozönosen für die Ökosysteme (Moll et al. 2024). Während die Bakteriengemeinschaften in beiden Ökosystemen keine klaren Unterschiede aufwiesen, unterschieden sich die Pilzgemeinschaften deutlich. Im Grünland dominierten Ascomycota mit einem Anteil von über 80 %, während im Wald Basidiomycota, insbesondere *Agaricales*, mit über 50 % vorherrschten (Moll et al. 2024). Setzt man diese Ergebnisse in Beziehung zu den Metaproteomdaten zur Enzymaktivität, lassen sich Zusammenhänge zwischen Totholzbiozönosen und substratspezifischen Holzeigenschaften erkennen. Basidiomycota produzierten sowohl in Angiospermen als auch in Gymnospermen eine bedeutende Menge an ligninolytischen Enzymen, während diese bei Ascomycota eher auf Angiospermen beschränkt waren (Abb. 12). Cellulolytische Enzyme wurden hingegen von allen Fäulnisarten gebildet und waren in jeder Baumart vorhanden. Der hohe Anteil an Ascomycota war durchaus neu. Ihre cellulolytische Enzymaktivität war sogar in Angiospermen vergleichbar mit der von Basidiomycota (Abb. 12), was ihren wesentlichen Beitrag zum Celluloseabbau *in situ* unterstreicht (Chen et al. 2018). Cellulose als lineares Homopolysaccharid (Sjöström 2013) zählt zu den leichter zugänglichen Kohlenstoffverbindungen (van der Wal et al. 2016; Song et al. 2017) und wird von zahlreichen Mikroorganismen als Energiequelle genutzt (Lundell et al. 2014). Dies erklärt die vorangeschrittene Totholzzersetzung der Holzklötze in beiden Ökosystemen. Im Grünland war jedoch der Anteil an Basidiomycota, die für den Ligninabbau entscheidend sind (Lundell et al. 2014; Arnstadt et al. 2016b), reduziert. Ein verminderter Ligninabbau verlangsamt die Besiedlung durch weitere Organismen und könnte erklären, warum die CO₂-Emissionsraten im Grünland primär von der Holzdichte und nicht durch andere Holzeigenschaften beeinflusst wurden. Die Pilzbiozönosen im Wald, die reich an ligninolytischen Basidiomycota waren, zeigten stattdessen einen negativen Zusammenhang mit einem hohen Ligninanteil, sowohl für die Zersetzungsraten als auch für die mikrobielle Aktivität (Anhang Tab. A2, A4).

Die hochspezialisierten Totholzbiozönosen der Wälder unterliegen offenbar überwiegend intrinsischen Einflussfaktoren. Neben Lignin wirkten dort weitere Holzmerkmale wie Nährstoffgehalte und Holzdichte sowohl auf den Masseverlust als auch auf die CO₂-Emissionsraten (Anhang Tab. A2, A4). Demgegenüber stehen die saprotrophen Generalisten und rein totholzbewohnenden Mikroorganismen im Grünland, deren Aktivität vor allem durch die Holzdichte geprägt wurde. Dies deckt sich mit den CH₄-Emissionen, die nicht auf hochspezialisierte Saprophyten zurückzuführen sind

(Mukhin und Voronin 2009; Mäkipää et al. 2018) und in beiden Ökosystemen ausschließlich von Holzdichte und Schwefelgehalt bestimmt wurden (Anhang, Tab. A5). Stattdessen wurde die Ausbildung der anaeroben Bedingungen für die CH_4 -Produktion verstärkt durch Umweltfaktoren reguliert. Basierend auf diesen Ergebnissen stellt sich die Frage, ob extrinsische Faktoren insgesamt einen stärkeren Einfluss auf die nicht lignocellulolytischen, totholzbewohnenden Mikroorganismen ausüben. Die Ergebnisse von Moll et al. (2024) unterstützen diese Annahme, indem sie publizierten, dass die Diversität der Totholzbiozöten stärker von extrinsischen Faktoren als von der Baumart geprägt wird. Die Aktivität dieser mikrobiellen Biozöten wird wiederum auch durch Umweltfaktoren reguliert, da ihre Mitglieder artspezifische Feuchtigkeits- und Temperatur-Optima besitzen, innerhalb derer sie ihre maximale Aktivität erreichen (Pietikäinen et al. 2005; Cornelissen et al. 2012b). Vor allem hochspezialisierte Arten weisen eine geringe Nischenbreite auf und reagieren besonders sensibel auf Umweltveränderungen. Das Mikroklima im Grünland könnte demnach als Filter für hochspezialisierte Pilze gewirkt haben, was deren Anteil verringerte und den mikrobiellen Abbau stärker von extrinsischen Einflussfaktoren abhängig machte. Ein eindeutiger Nachweis ist jedoch schwierig, da die gemessenen Emissionsraten lediglich Momentaufnahmen der jeweiligen Gemeinschaft widerspiegeln und stark vom Messzeitpunkt abhängen. Insgesamt standen die Einflussfaktoren auf die Zersetzungsprozesse eng im Zusammenhang mit der Diversität und dem Spezialisierungsgrad der Arten. Hochspezialisierte Saprophyten sind dabei effizienter als Generalisten, jedoch oft wirtsspezifisch und an enge Umweltansprüche gebunden. Folglich bleibt die Baumart in den vorliegenden Experimenten ein zentraler Einflussfaktor für die Zersetzung, insbesondere für den Masseverlust und teilweise für die CO_2 -Emissionen.

3.4.3 Funktionale Redundanz lignocellulolytischer Enzyme als Grundlage der Stabilität von Ökosystemfunktionen

Jede ökologische Kategorie von Mikroorganismen verfügt über funktionelle Merkmale, die zu definierten Ökosystemfunktionen beitragen, und spezifische Anpassungsmechanismen, die beeinflussen, wie dieser Organismus auf anthropogene Einflüsse und Umweltveränderungen reagiert. Um die Ökosystemfunktionen unter diesen vielfältigen Einflüssen aufrechtzuerhalten, ist ein gewisses Maß an Resilienz und Widerstandsfähigkeit notwendig. Eine vorteilhafte Dynamik von Kolonisierung und Aussterben (Moor et al. 2021), aber auch funktionelle Redundanz innerhalb der Gemeinschaften (Biggs et al. 2020), sind dabei förderlich.

Konzeptionell betrachtet, wird der Grad der funktionellen Redundanz durch das betrachtete Ökosystem und von den jeweiligen Funktionen definiert. Weit verbreitete Funktionen wie Atmung, Gesamtkohlenstoffabbau und Biomasseproduktion zeigen häufig eine höhere Resistenz gegenüber Veränderungen in der taxonomischen Zusammensetzung als definierte Funktionen, wie der Abbau bestimmter Verbindungen (Louca et al. 2018). Die vorliegenden Experimente bestärken dieses Muster anhand der ubiquitären Funktion der Totholzzersetzung verglichen mit dem spezifischen Lignocelluloseabbau. Totholzzersetzung wurde sowohl im Wald als auch im Grünland beobachtet, obwohl sich die taxonomischen Gemeinschaften der beiden Ökosysteme deutlich unterscheiden. Die zugrunde liegende Ökosystemfunktion wird somit von saprotrophen, jedoch taxonomisch variablen Mikroorganismen ausgeübt. Dies verweist auf eine teilweise Entkopplung von Taxonomie und Funktion, wie sie bereits für das Meeresmikrobiom beschrieben wurde (Louca et al. 2016). Bestärkt wird die Entkopplung durch die Analyse der Einflussfaktoren. Die taxonomische Zusammensetzung der Holzklötze wurde vor allem von extrinsischen Faktoren bestimmt (Moll et al. 2024), welche zudem die mikrobielle Aktivität beeinflussten, jedoch nur begrenzte Auswirkungen auf die Gesamtleistung der

Zersetzung hatten. Hingegen wurden die Zersetzungsraten in beiden Ökosystemen vorwiegend von intrinsischen Einflussfaktoren gesteuert. Insgesamt deutet dies auf ein hohes Maß an funktioneller Redundanz für den Totholzabbau hin.

Im Vergleich dazu, konnte für den spezifischen Lignocelluloseabbau nur eine latente funktionelle Redundanz nachgewiesen werden (Abb. 13). Angesichts der hohen Anzahl an Mikroorganismen, welche potenziell an der Holzzersetzung beteiligt sind, wird die eigentliche Lignocellulolyse nur von wenigen spezialisierten Pilzen durchgeführt. Dies bestätigen sowohl das Holzklötze-Experiment als auch die Metaproteom-Analyse. Ersteres detektierte, dass spezialisierte Pilze bevorzugt Wälder besiedelten, während saprotrophe Generalisten im Grünland dominierten (Moll et al. 2024), was mit reduzierten Zersetzungsprozessen einherging (Abb. 6, 9). Einige dieser Generalisten wurden in der Metaproteom-Analyse identifiziert (Abb. 12), welche ergab, dass diese generalistischen Arten hochspezialisierten Pilzen funktionell ähneln. Pilzgattungen wie *Mycena*, *Coniochaeta*, und *Sistotrema* sekretierten moderate Mengen der Enzyme Alkohol-Oxidase und β -1,4-Glucosidase, was deren Beteiligung am lignocellulolytischen Totholzabbau, insbesondere für Cellulose, belegte. Die generalistischen Arten im Grünland scheinen damit das Fehlen hochspezialisierter Pilze teilweise kompensieren zu können, um so den Erhalt der Ökosystemfunktion zu ermöglichen. Ihre Besiedlung eines waldnahen Lebensraums deutet zudem auf vorteilhafte Kolonisierungsstrategien hin. Dies erfordert eine hohe Nischenbreite und geht mit einer geringeren Spezialisierung bezüglich ihrer Umweltansprüche einher (Schaefer 2012). Solche generalistischen Strategien sind jedoch oft mit einer reduzierten funktionellen Effizienz verbunden (Louca et al. 2018). Dies wurde auch durch die vorliegenden Experimente bestärkt. Während die Generalisten vorwiegend am Celluloseabbau beteiligt waren, fehlte ihnen gemäß Metaproteomanalyse die Spezialisierung für den Ligninabbau. Zusammenfassend lässt dies auf funktionale Redundanz im Lignocelluloseabbau schließen, jedoch nur latent, da die Zersetzungsraten im Grünland niedriger ausfielen. Bestärkt wurde dies durch das Metaproteom, das für die Enzyme des Ligninabbaus eine sehr geringe funktionelle Redundanz, für AA3-Oxidoreduktasen hingegen eine hohe Redundanz auswies (Abb. 13). Verständlich, da diese durch die H_2O_2 -Produktion mit dem Lignin- und Cellulose-Abbau interagieren. Neben ihrer Rolle im Zersetzungsprozess tragen Pilze auch zu zentralen Ökosystemfunktionen wie dem Nährstoffkreislauf und Mykorrhiza-Assoziationen bei und bilden komplexe Wechselwirkungen innerhalb der Ökosysteme. Faktoren wie die Stickstoffversorgung durch andere Mikroorganismen könnten dabei die Pilzaktivität beeinflussen. Entsprechend komplex ist die Verknüpfung von Funktion und Taxonomie für die Totholzzersetzung. Dies erschwert die Bewertung der funktionalen Redundanz und Widerstandsfähigkeit der Ökosystemfunktion. Dennoch liefern diese Experimente als erste *in situ* Studie detaillierte Einblicke in die molekularen Mechanismen der Holzzersetzung. Die Ergebnisse bieten eine Grundlage für zukünftige Untersuchungen zur Resilienz und Widerstandsfähigkeit von Ökosystemfunktionen, wie der Totholzzersetzung angesichts anhaltender Umweltveränderungen. Dies ist entscheidend für die Erhaltung der Gesundheit und Stabilität von Ökosystemen (Biggs et al., 2020).

3.5 Fazit

Totholz ist eine zentrale Quelle für Kohlenstoff und Nährstoffe, deren Zersetzung die Struktur von Ökosystemen formt und zahlreiche Ökosystemfunktionen beeinflusst. Ziel dieser Arbeit war es, die natürlichen Abbauprozesse von Totholz unter realistischen ökologischen Bedingungen umfassend zu untersuchen. Besonderes Augenmerk lag dabei auf den komplexen Wechselwirkungen zwischen intrinsischen und extrinsischen Einflussfaktoren sowie auf der Diversität und den enzymatischen Aktivitäten der an der Zersetzung beteiligten Gemeinschaften.

Diese Arbeit hebt sich von bisherigen Studien ab, indem sie eine breite Palette von Baumarten (Angiospermen: *Acer*, *Betula*, *Carpinus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Populus*, *Prunus*, *Quercus* und *Tilia*; Gymnospermen: *Larix*, *Picea*, *Pinus* und *Pseudotsuga*), zwei unterschiedliche Ökosysteme (Wald und Grasland) und drei geografische Regionen (Schorfheide-Chorin, Nationalpark Hainich und Schwäbische Alb) einbezieht. Diese Vielfalt ermöglichte eine hohe Generalisierbarkeit und Replizierbarkeit der Ergebnisse. Die Ergebnisse liefern wertvolle Einblicke in die komplexen Prozesse der Totholzzersetzung und zeigen, dass intrinsische Einflussfaktoren eine wesentliche Rolle spielen. Hervorzuheben ist, dass selbst im Grünland die Baumart einen signifikanten Einfluss auf die Zersetzung hat, was die ökosystemübergreifende Bedeutung dieses Faktors unterstreicht. Die Diversität und Aktivität der Totholzgemeinschaften wurden indes sowohl von der Baumart als auch, in stärkerem Maße, von extrinsischen Einflussfaktoren beeinflusst. Ein weiterer zentraler Beitrag dieser Arbeit liegt in der erstmaligen präzisen *in situ* Analyse bisher unbekannter molekularer Mechanismen, durch die Schlüsselenzyme identifiziert wurden, die essentiell für die lignocellulolytischen Abbauprozesse sind.

Mit diesen Erkenntnissen leistet die Arbeit einen bedeutenden Beitrag zum Verständnis der Kohlenstoffdynamik in Ökosystemen und bildet eine solide Grundlage für zukünftige Forschungen zur Resilienz und Anpassungsfähigkeit dieser Prozesse angesichts wachsender anthropogener Einflüsse.

4 Literaturverzeichnis

- A'Bear AD, Jones TH, Kandeler E, Boddy L (2014) Interactive effects of temperature and soil moisture on fungal-mediated wood decomposition and extracellular enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry* 70:151–158. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.017>
- Adair EC, Parton WJ, Del Grosso SJ, et al (2008) Simple three-pool model accurately describes patterns of long-term litter decomposition in diverse climates. *Global Change Biology* 14:2636–2660. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01674.x>
- Adamo M, Comtet-Marre S, Büttner E, et al (2022) Fungal dye-decolorizing peroxidase diversity: roles in either intra- or extracellular processes. *Appl Microbiol Biotechnol* 106:2993–3007. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11923-0>
- Aerts R (1997) Climate, Leaf Litter Chemistry and Leaf Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems: A Triangular Relationship. *Oikos* 79:439–449. <https://doi.org/10.2307/3546886>
- Allan E, Bosssdorf O, Dormann CF, et al (2014) Interannual variation in land-use intensity enhances grassland multidiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:308–313. <https://doi.org/10.1073/pnas.1312213111>
- Allison SD, Martiny JBH (2008) Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:11512–11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
- Aloui F, Ayadi N, Charrier F, Charrier B (2004) Durability of European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) against white rot fungi (*Coriolus versicolor*): relations with phenol extractives. *Holz Roh Werkst* 62:286–290. <https://doi.org/10.1007/s00107-004-0489-7>
- Anderson JB, Kohn LM (1995) Clonality in Soilborne, Plant-Pathogenic Fungi. *Annual Review of Phytopathology* 33:369–391. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.33.090195.002101>
- Arantes V, Jellison J, Goodell B (2012) Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Applied microbiology and biotechnology* 94:323–338
- Argiroff WA, Zak DR, Upchurch RA, et al (2023) Fungal community composition and genetic potential regulate fine root decay in northern temperate forests. *Mol Ecol* 32:2005–2021. <https://doi.org/10.1111/mec.16852>
- Arnstadt T, Hoppe B, Kahl T, et al (2016a) Dynamics of fungal community composition, decomposition and resulting deadwood properties in logs of *Fagus sylvatica*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Forest Ecology and Management* 382:129–142. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.10.004>
- Arnstadt T, Hoppe B, Kahl T, et al (2016b) Patterns of laccase and peroxidases in coarse woody debris of *Fagus sylvatica*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris* and their relation to different wood parameters. *Eur J Forest Res* 135:109–124. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0920-0>
- Asplund J, Nordén J, Kjønaas OJ, et al (2024) Long term effects of forest management on forest structure and dead wood in mature boreal forests. *Forest Ecology and Management* 572:122315. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.122315>
- Attwood SJ, Maron M, House APN, Zammit C (2008) Do arthropod assemblages display globally consistent responses to intensified agricultural land use and management? *Global Ecology and Biogeography* 17:585–599. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2008.00399.x>
- Augusto L, De Schrijver A, Vesterdal L, et al (2015) Influences of evergreen gymnosperm and deciduous angiosperm tree species on the functioning of temperate and boreal forests. *Biological Reviews* 90:444–466. <https://doi.org/10.1111/brv.12119>

- Ayres E, Steltzer H, Simmons BL, et al (2009) Home-field advantage accelerates leaf litter decomposition in forests. *Soil Biology and Biochemistry* 41:606–610. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.12.022>
- Baiocco P, Barreca AM, Fabbrini M, et al (2003) Promoting laccase activity towards non-phenolic substrates: a mechanistic investigation with some laccase–mediator systems. *Organic & biomolecular chemistry* 1:191–197
- Baldrian P (2017) Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews* 41:109–130. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw040>
- Baldrian P (2006) Fungal laccases—occurrence and properties. *FEMS microbiology reviews* 30:215–242
- Baldrian P, Valášková V (2008) Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiology Reviews* 32:501–521. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x>
- Baldrian P, Zrůstová P, Tláškal V, et al (2016) Fungi associated with decomposing deadwood in a natural beech-dominated forest. *Fungal Ecology* 23:109–122. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.07.001>
- Bani A, Pioli S, Ventura M, et al (2018) The role of microbial community in the decomposition of leaf litter and deadwood. *Applied Soil Ecology* 126:75–84. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.02.017>
- Bässler C, Müller J, Dziöck F, Brandl R (2010) Effects of resource availability and climate on the diversity of wood-decaying fungi. *Journal of Ecology* 98:822–832. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01669.x>
- Beckmann M, Gerstner K, Akin-Fajiye M, et al (2019) Conventional land-use intensification reduces species richness and increases production: A global meta-analysis. *Global Change Biology* 25:1941–1956. <https://doi.org/10.1111/gcb.14606>
- Beeson WT, Phillips CM, Cate JH, Marletta MA (2012) Oxidative cleavage of cellulose by fungal copper-dependent polysaccharide monooxygenases. *Journal of the American Chemical Society* 134:890–892
- Bengtsson J, Nilsson SG, Franc A, Menozzi P (2000) Biodiversity, disturbances, ecosystem function and management of European forests. *Forest Ecology and Management* 132:39–50. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00378-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00378-9)
- Betts MG, Wolf C, Ripple WJ, et al (2017) Global forest loss disproportionately erodes biodiversity in intact landscapes. *Nature* 547:441–444. <https://doi.org/10.1038/nature23285>
- Bidlack J (1992) Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. In: *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*. S 51–56
- Biggs CR, Yeager LA, Bolser DG, et al (2020) Does functional redundancy affect ecological stability and resilience? A review and meta-analysis. *Ecosphere* 11:e03184. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3184>
- Bissaro B, Isaksen I, Vaaje-Kolstad G, et al (2018) How a lytic polysaccharide monooxygenase binds crystalline chitin. *Biochemistry* 57:1893–1906
- Bissaro B, Røhr ÅK, Müller G, et al (2017) Oxidative cleavage of polysaccharides by monocopper enzymes depends on H₂O₂. *Nature chemical biology* 13:1123–1128
- Blanchette RA (1984) Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. *Applied and Environmental Microbiology* 48:647–653
- Blanchette RA, Held BW, Jurgens JA, et al (2004) Wood-Destroying Soft Rot Fungi in the Historic Expedition Huts of Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology* 70:1328–1335. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1328-1335.2004>

- Blanco JA, Durán M, Luquin J, et al (2023) Soil C/N ratios cause opposing effects in forests compared to grasslands on decomposition rates and stabilization factors in southern European ecosystems. *Science of The Total Environment* 888:164118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164118>
- Blaser S, Prati D, Senn-Irlet B, Fischer M (2013) Effects of forest management on the diversity of deadwood-inhabiting fungi in Central European forests. *Forest Ecology and Management* 304:42–48. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.04.043>
- Blüthgen N, Dormann CF, Prati D, et al (2012) A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. *Basic and Applied Ecology* 13:207–220. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.04.001>
- BMEL (2022) Der Wald in Deutschland - Ausgewählte Ergebnisse der vierten Bundeswaldinventur (Stand: Oktober 2024). Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), Berlin
- Boddy L (2001) Fungal community ecology and wood decomposition processes in angiosperms: from standing tree to complete decay of coarse woody debris. *Ecological Bulletins* 43–56
- Boddy L, Hiscox J (2016) Fungal ecology: principles and mechanisms of colonization and competition by saprotrophic fungi. *Microbiology Spectrum* 4:4–6. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0019-2016>
- Bohn U, Gollub G, Hettwer C, et al (2000) Karte der natürlichen Vegetation Europas, Maßstab 1: 2 500 000.[Map of the Natural vegetation of Europe. Scale 1: 2 500 000]. Bundesamt für Naturschutz, Bonn
- Bonanomi G, Cesarano G, Gaglione SA, et al (2017) Soil fertility promotes decomposition rate of nutrient poor, but not nutrient rich litter through nitrogen transfer. *Plant Soil* 412:397–411. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3072-1>
- Bonanomi G, Incerti G, Antignani V, et al (2010) Decomposition and nutrient dynamics in mixed litter of Mediterranean species. *Plant Soil* 331:481–496. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0269-6>
- Bonanomi G, Zotti M, Cesarano G, et al (2021) Decomposition of woody debris in Mediterranean ecosystems: the role of wood chemical and anatomical traits. *Plant and Soil* 460:263–280. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04799-4>
- Bontti EE, Decant JP, Munson SM, et al (2009) Litter decomposition in grasslands of Central North America (US Great Plains). *Global Change Biology* 15:1356–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01815.x>
- Bourbonnais R, Paice MG (1990) Oxidation of non-phenolic substrates: an expanded role for laccase in lignin biodegradation. *FEBS letters* 267:99–102
- Bradford MA, Warren II RJ, Baldrian P, et al (2014) Climate fails to predict wood decomposition at regional scales. *Nature Clim Change* 4:625–630. <https://doi.org/10.1038/nclimate2251>
- Brandt LA, King JY, Hobbie SE, et al (2010) The Role of Photodegradation in Surface Litter Decomposition Across a Grassland Ecosystem Precipitation Gradient. *Ecosystems* 13:765–781. <https://doi.org/10.1007/s10021-010-9353-2>
- Brischke C, Alfredsen G (2020) Wood-water relationships and their role for wood susceptibility to fungal decay. *Appl Microbiol Biotechnol* 104:3781–3795. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10479-1>
- Büttner E, Gebauer AM, Hofrichter M, et al (2017) Draft genome sequence of the wood-degrading ascomycete *Kretzschmaria deusta* DSM 104547. *Genome Announcements* 5:e01076-17. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01076-17>
- Büttner E, Liers C, Hofrichter M, et al (2019) Draft genome sequence of *Xylaria hypoxylon* DSM 108379, a ubiquitous fungus on hardwood. *Microbiology Resource Announcements* 8:e00845-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00845-19>

- Carmichael MJ, Martinez M, Bräuer SL, Ardón M (2024) Microbial Communities in Standing Dead Trees in Ghost Forests are Largely Aerobic, Saprophytic, and Methanotrophic. *Curr Microbiol* 81:229. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03767-w>
- Cavener DR (1992) GMC oxidoreductases: a newly defined family of homologous proteins with diverse catalytic activities. *Journal of molecular biology* 223:811–814
- Centeri C, Renes H, Roth M, et al (2016) Wooded Grasslands as Part of the European Agricultural Heritage. In: Agnoletti M, Emanuelli F (Hrsg) *Biocultural Diversity in Europe*. Springer International Publishing, Cham, S 75–103
- Chambers JQ, Higuchi N, Schimel JP, et al (2000) Decomposition and carbon cycling of dead trees in tropical forests of the central Amazon. *Oecologia* 122:380–388. <https://doi.org/10.1007/s004420050044>
- Chen S, Xiong B, Wei L, et al (2018) The Model Filamentous Fungus *Neurospora crassa*: Progress Toward a Systems Understanding of Plant Cell Wall Deconstruction. In: Fang X, Qu Y (Hrsg) *Fungal Cellulolytic Enzymes: Microbial Production and Application*. Springer, Singapore, S 107–134
- Christov LP, Prior BA (1993) Esterases of xylan-degrading microorganisms: production, properties, and significance. *Enzyme and microbial technology* 15:460–475
- Coetzee MPA, Wingfield BD, Wingfield MJ (2018) *Armillaria* root-rot pathogens: species boundaries and global distribution. *Pathogens* 7:83. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040083>
- Conrad R, Klose M, Noll M (2009) Functional and structural response of the methanogenic microbial community in rice field soil to temperature change. *Environmental Microbiology* 11:1844–1853. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01909.x>
- Core Team R (2016) A language and environment for statistical computing (Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing) Retrieved from www.R-project.org
- Cornelissen JC, Sass-Klaassen U, Poorter L, et al (2012a) Controls on Coarse Wood Decay in Temperate Tree Species: Birth of the LOGLIFE Experiment. *AMBIO* 41:231–245. <https://doi.org/10.1007/s13280-012-0304-3>
- Cornelissen JHC, Sass-Klaassen U, Poorter L, et al (2012b) Controls on Coarse Wood Decay in Temperate Tree Species: Birth of the LOGLIFE Experiment. *AMBIO* 41:231–245. <https://doi.org/10.1007/s13280-012-0304-3>
- Cornwell WK, Cornelissen JHC, Allison SD, et al (2009) Plant traits and wood fates across the globe: rotted, burned, or consumed? *Global Change Biology* 15:2431–2449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01916.x>
- Couturier M, Ladeveze S, Sulzenbacher G, et al (2018) Lytic xylan oxidases from wood-decay fungi unlock biomass degradation. *Nature chemical biology* 14:306–310
- Covey KR, de Mesquita CPB, Oberle B, et al (2016) Greenhouse trace gases in deadwood. *Biogeochemistry* 130:215–226. <https://doi.org/10.1007/s10533-016-0253-1>
- Covey KR, Megonigal JP (2019) Methane production and emissions in trees and forests. *New Phytologist* 222:35–51. <https://doi.org/10.1111/nph.15624>
- Covey KR, Wood SA, Warren II RJ, et al (2012) Elevated methane concentrations in trees of an upland forest. *Geophysical Research Letters* 39:. <https://doi.org/10.1029/2012GL052361>
- Cromack K, Sollins P, Graustein WC, et al (1979) Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. *Soil Biology and Biochemistry* 11:463–468. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(79\)90003-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(79)90003-8)
- Crowther TW, van den Hoogen J, Wan J, et al (2019) The global soil community and its influence on biogeochemistry. *Science* 365:eaav0550. <https://doi.org/10.1126/science.aav0550>

- Csarman F, Wohlschlager L, Ludwig R (2020) Chapter Fifteen - Cellobiose dehydrogenase. In: Chaiken P, Tamanoi F (Hrsg) *The Enzymes*. Academic Press, S 457–489
- Daniel G, Volc J, Filonova L, et al (2007) Characteristics of *Gloeophyllum trabeum* Alcohol Oxidase, an Extracellular Source of H₂O₂ in Brown Rot Decay of Wood. *Applied and Environmental Microbiology* 73:6241–6253. <https://doi.org/10.1128/AEM.00977-07>
- De Frenne P, Zellweger F, Rodríguez-Sánchez F, et al (2019) Global buffering of temperatures under forest canopies. *Nat Ecol Evol* 3:744–749. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0842-1>
- Deacon LJ, Janie Pryce-Miller E, Frankland JC, et al (2006) Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *Soil Biology and Biochemistry* 38:7–20. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.013>
- Dirkx G (1998) Wood-pasture in Dutch common woodlands and the deforestation of the Dutch landscape. *Wood-pasture in Dutch common woodlands and the deforestation of the Dutch landscape* 53–62
- Dixon AP, Faber-Langendoen D, Josse C, et al (2014) Distribution mapping of world grassland types. *Journal of Biogeography* 41:2003–2019. <https://doi.org/10.1111/jbi.12381>
- Drula E, Garron M-L, Dogan S, et al (2022) The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. *Nucleic Acids Research* 50:D571–D577. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1045>
- Eastwood DC, Floudas D, Binder M, et al (2011) The plant cell wall–decomposing machinery underlies the functional diversity of forest fungi. *Science* 333:762–765
- Edelmann P, Weisser WW, Ambarlı D, et al (2023) Regional variation in deadwood decay of 13 tree species: effects of climate, soil and forest structure. *Forest Ecology and Management* 541:121094. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121094>
- Ehbrecht M, Schall P, Ammer C, et al (2019) Effects of structural heterogeneity on the diurnal temperature range in temperate forest ecosystems. *Forest Ecology and Management* 432:860–867. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.10.008>
- Eriksson K-EL, Blanchette RA, Ander P (2012) *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Springer Science & Business Media
- Ernst L, Steinfeld B, Barayeu U, et al (2022) Methane formation driven by reactive oxygen species across all living organisms. *Nature* 603:482–487. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04511-9>
- Europe F, Unece F (2015) *State of Europe's forests 2015*
- Fackler K, Gradingner C, Hinterstoisser B, et al (2006) Lignin degradation by white rot fungi on spruce wood shavings during short-time solid-state fermentations monitored by near infrared spectroscopy. *Enzyme and Microbial Technology* 39:1476–1483. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.03.043>
- Fengel D, Wegener G (2003) *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Kessel Verlag, Remagen
- Fischer M, Bossdorf O, Gockel S, et al (2010) Implementing large-scale and long-term functional biodiversity research: The Biodiversity Exploratories. *Basic and Applied Ecology* 11:473–485. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.07.009>
- Floudas D, Binder M, Riley R, et al (2012) The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science* 336:1715–1719
- Forsberg Z, Sørli M, Petrović D, et al (2019) Polysaccharide degradation by lytic polysaccharide monooxygenases. *Current Opinion in Structural Biology* 59:54–64. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.02.015>

- Francioli D, van Rijssel SQ, van Ruijven J, et al (2021) Plant functional group drives the community structure of saprophytic fungi in a grassland biodiversity experiment. *Plant Soil* 461:91–105. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04454-y>
- Freschet GT, Weedon JT, Aerts R, et al (2012) Interspecific differences in wood decay rates: insights from a new short-term method to study long-term wood decomposition. *Journal of Ecology* 100:161–170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01896.x>
- Fujii K, Uemura M, Hayakawa C, et al (2013) Environmental control of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase activities in forest floor layers in humid Asia. *Soil Biology and Biochemistry* 57:109–115. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.07.007>
- Fukasawa Y, Matsukura K (2021) Decay stages of wood and associated fungal communities characterise diversity–decomposition relationships. *Sci Rep* 11:8972. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88580-2>
- Fukasawa Y, Osono T, Takeda H (2009) Dynamics of physicochemical properties and occurrence of fungal fruit bodies during decomposition of coarse woody debris of *Fagus crenata*. *Journal of Forest Research* 14:20–29. <https://doi.org/10.1007/s10310-008-0098-0>
- Geffen K, Poorter L, Sass-Klaassen U, et al (2010) The trait contribution to wood decomposition rates of 15 Neotropical tree species. *Ecology* 91:3686–97. <https://doi.org/10.2307/29779551>
- Glassman SI, Weihe C, Li J, et al (2018) Decomposition responses to climate depend on microbial community composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115:11994–11999. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811269115>
- Glenn JK, Morgan MA, Mayfield MB, et al (1983) An extracellular H₂O₂-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochemical and biophysical research communications* 114:1077–1083
- Gloster TM, Ibatullin FM, Macauley K, et al (2007) Characterization and three-dimensional structures of two distinct bacterial xyloglucanases from families GH5 and GH12. *Journal of Biological Chemistry* 282:19177–19189
- Gossner MM, Lewinsohn TM, Kahl T, et al (2016a) Land-use intensification causes multitrophic homogenization of grassland communities. *Nature* 540:266–269. <https://doi.org/10.1038/nature20575>
- Gossner MM, Schall P, Ammer C, et al (2014) Forest management intensity measures as alternative to stand properties for quantifying effects on biodiversity. *Ecosphere* 5:art113. <https://doi.org/10.1890/ES14-00177.1>
- Gossner MM, Wende B, Levick S, et al (2016b) Deadwood enrichment in European forests – Which tree species should be used to promote saproxylic beetle diversity? *Biological Conservation* 201:92–102. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.06.032>
- Grigoriev IV, Nikitin R, Haridas S, et al (2014) MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic Acids Research* 42:D699–D704. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>
- Grosser D (2007) *Die Hölzer Mitteleuropas: Ein mikrophotographischer Lehratlas*, Reprint der 1. Aufl. von 1977. Kessel, Remagen
- Guo C, MacIvor JS, Cadotte MW, et al (2025) Tree species-dependent effects of urbanization and plant invasion on deadwood biota and decomposition rates. *Soil Biology and Biochemistry* 201:109650. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109650>
- Hage H, Rosso M-N (2021) Evolution of fungal carbohydrate-active enzyme portfolios and adaptation to plant cell-wall polymers. *Journal of Fungi* 7:185. <https://doi.org/10.3390/jof7030185>

- Hahn F, Ullrich R, Hofrichter M, Liers C (2013) Experimental approach to follow the spatiotemporal wood degradation in fungal microcosms. *Biotechnology Journal* 8:127–132. <https://doi.org/10.1002/biot.201200183>
- Halbwachs H, Simmel J, Bässler C (2016) Tales and mysteries of fungal fruiting: How morphological and physiological traits affect a pileate lifestyle. *Fungal Biology Reviews* 30:36–61. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.04.002>
- Hammel KE, Cullen D (2008) Role of fungal peroxidases in biological ligninolysis. *Current opinion in plant biology* 11:349–355
- Harder CB, Miyauchi S, Virágh M, et al (2024) Extreme overall mushroom genome expansion in *Mycena* s.s. irrespective of plant hosts or substrate specializations. *Cell Genomics* 4:100586. <https://doi.org/10.1016/j.xgen.2024.100586>
- Harmon ME, Fasth BG, Yatskov M, et al (2020) Release of coarse woody detritus-related carbon: a synthesis across forest biomes. *Carbon Balance and Management* 15:1. <https://doi.org/10.1186/s13021-019-0136-6>
- Harmon ME, Franklin JF, Swanson FJ, et al (1986) Ecology of Coarse Woody Debris in Temperate Ecosystems. In: MacFadyen A, Ford ED (Hrsg) *Advances in Ecological Research*. Academic Press, S 133–302
- Hatakka A, Hammel KE (2011) Fungal Biodegradation of Lignocelluloses. In: Hofrichter M (Hrsg) *Industrial Applications*. Springer, Berlin, Heidelberg, S 319–340
- Hejcman M, Hejcmanová P, Pavlů V, Beneš J (2013) Origin and history of grasslands in Central Europe – a review. *Grass and Forage Science* 68:345–363. <https://doi.org/10.1111/gfs.12066>
- Hendriks K, Gubbay S, Arets E, et al (2020) Carbon stocks and sequestration in terrestrial and marine ecosystems: a lever for nature restoration? A quick scan for terrestrial and marine EUNIS habitat types
- Henrissat B (1991) A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical journal* 280:309–316
- Herrmann S, Bauhus J (2013) Effects of moisture, temperature and decomposition stage on respirational carbon loss from coarse woody debris (CWD) of important European tree species. *Scandinavian Journal of Forest Research* 28:346–357. <https://doi.org/10.1080/02827581.2012.747622>
- Herrmann S, Kahl T, Bauhus J (2015) Decomposition dynamics of coarse woody debris of three important central European tree species. *For Ecosyst* 2:27. <https://doi.org/10.1186/s40663-015-0052-5>
- Hietala AM, Dörsch P, Kvaalen H, Solheim H (2015) Carbon Dioxide and Methane Formation in Norway Spruce Stems Infected by White-Rot Fungi. *Forests* 6:3304–3325. <https://doi.org/10.3390/f6093304>
- Higuchi T (1990) Lignin biochemistry: Biosynthesis and biodegradation. *Wood SciTechnol* 24:23–63. <https://doi.org/10.1007/BF00225306>
- Higuchi T (2006) Look back over the studies of lignin biochemistry. *J Wood Sci* 52:2–8. <https://doi.org/10.1007/s10086-005-0790-z>
- Hoegger PJ, Kilaru S, James TY, et al (2006) Phylogenetic comparison and classification of laccase and related multicopper oxidase protein sequences. *FEBS Journal* 273:2308–2326. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05247.x>
- Hofrichter M (2002) Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology* 30:454–466. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00528-2](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00528-2)

- Hofrichter M, Kellner H, Pecyna MJ, Ullrich R (2015) Fungal Unspecific Peroxygenases: Heme-Thiolate Proteins That Combine Peroxidase and Cytochrome P450 Properties. In: Hrycak EG, Bandiera SM (Hrsg) Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450. Springer International Publishing, Cham, S 341–368
- Hofrichter M, Ullrich R, Pecyna MJ, et al (2010) New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Applied microbiology and biotechnology* 87:871–897
- Hofrichter M, Vares T, Kalsi M, et al (1999) Production of Manganese Peroxidase and Organic Acids and Mineralization of ¹⁴C-Labelled Lignin (¹⁴C-DHP) during Solid-State Fermentation of Wheat Straw with the White Rot Fungus *Nematoloma frowardii*. *Applied and Environmental Microbiology* 65:1864–1870. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.5.1864-1870.1999>
- Holzwarth F, Kahl A, Bauhus J, Wirth C (2013) Many ways to die – partitioning tree mortality dynamics in a near-natural mixed deciduous forest. *Journal of Ecology* 101:220–230. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12015>
- Hoppe B, Purahong W, Wubet T, et al (2016) Linking molecular deadwood-inhabiting fungal diversity and community dynamics to ecosystem functions and processes in Central European forests. *Fungal Diversity* 77:367–379. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0341-x>
- Hori C, Gaskell J, Cullen D, et al (2018) Multi-omic Analyses of Extensively Decayed *Pinus contorta* Reveal Expression of a Diverse Array of Lignocellulose-Degrading Enzymes. *Appl Environ Microbiol* 84:e01133-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01133-18>
- Hu Z, Chen HYH, Yue C, et al (2020) Traits mediate drought effects on wood carbon fluxes. *Global Change Biology* 26:3429–3442. <https://doi.org/10.1111/gcb.15088>
- Hu Z, Michaletz ST, Johnson DJ, et al (2018) Traits drive global wood decomposition rates more than climate. *Global Change Biology* 24:5259–5269. <https://doi.org/10.1111/gcb.14357>
- Humbert J-Y, Ghazoul J, Walter T (2009) Meadow harvesting techniques and their impacts on field fauna. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 130:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.11.014>
- Hyde SM, Wood PM (1997) A Mechanism for Production of Hydroxyl Radicals by the Brown-Rot Fungus *Coniophora Puteana*: Fe(III) Reduction by Cellobiose Dehydrogenase and Fe(II) Oxidation at a Distance from the Hyphae. *Microbiology* 143:259–266. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-1-259>
- Jellison J, Connolly J, Goodell B, et al (1997) The role of cations in the biodegradation of wood by the brown rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 39:165–179
- Johnson CN, Balmford A, Brook BW, et al (2017) Biodiversity losses and conservation responses in the Anthropocene. *Science* 356:270–275. <https://doi.org/10.1126/science.aam9317>
- Käärik A (1965) The identification of the mycelia of wood-decay fungi by their oxidation reactions with phenolic compounds
- Kahl T (2008) Kohlenstofftransport aus dem Totholz in den Boden
- Kahl T, Arnstadt T, Baber K, et al (2017) Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *Forest Ecology and Management* 391:86–95. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.012>
- Kahl T, Baber K, Otto P, et al (2015) Drivers of CO₂ Emission Rates from Dead Wood Logs of 13 Tree Species in the Initial Decomposition Phase. *Forests* 6:2484–2504. <https://doi.org/10.3390/f6072484>
- Kahl T, Bauhus J (2014) An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. *Nature Conservation* 7:15–27. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.7.7281>

- Kaiser K, Wemheuer B, Korolkow V, et al (2016) Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. *Scientific Reports* 6:1–12. <https://doi.org/10.1038/srep33696>
- Kandeler E, Gebala A, Boeddinghaus RS, et al (2019) The mineralosphere – Succession and physiology of bacteria and fungi colonising pristine minerals in grassland soils under different land-use intensities. *Soil Biology and Biochemistry* 136:107534. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107534>
- Kaspari M, Clay NA, Donoso DA, Yanoviak SP (2014) Sodium fertilization increases termites and enhances decomposition in an Amazonian forest. *Ecology* 95:795–800. <https://doi.org/10.1890/13-1274.1>
- Kaspari M, Garcia MN, Harms KE, et al (2007) Multiple nutrients limit litterfall and decomposition in a tropical forest. *Ecol Letters* 0:071117033013004-??? <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01124.x>
- Kellner H, Luis P, Pecyna MJ, et al (2014) Widespread Occurrence of Expressed Fungal Secretory Peroxidases in Forest Soils. *PLoS One* 9:e95557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095557>
- Khan AW, Trottier TM (1978) Effect of sulfur-containing compounds on anaerobic degradation of cellulose to methane by mixed cultures obtained from sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 35:1027–1034. <https://doi.org/10.1128/aem.35.6.1027-1034.1978>
- Kijpornyongpan T, Schwartz A, Yaguchi A, Salvachúa D (2022) Systems biology-guided understanding of white-rot fungi for biotechnological applications: A review. *iScience* 25:104640. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104640>
- Kimani V, Ullrich R, Büttner E, et al (2021) First Dye-Decolorizing Peroxidase from an Ascomycetous Fungus Secreted by *Xylaria grammica*. *Biomolecules* 11:1391. <https://doi.org/10.3390/biom11091391>
- Kipping L, Holzschek N, Maurer F, et al (2020) Microbial metaproteome data from decayed beech dead wood. *Data in Brief* 29:105285. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105285>
- Kirk TK (1975) Effects of a brown-rot fungus, *Lenzites trabea*, on lignin in spruce wood
- Kleywegt GJ, Zou J-Y, Divne C, et al (1997) The crystal structure of the catalytic core domain of endoglucanase I from *Trichoderma reesei* at 3.6 Å resolution, and a comparison with related enzymes¹¹Edited by K.Nagai. *Journal of Molecular Biology* 272:383–397. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1243>
- Kohler A, Kuo A, Nagy LG, et al (2015) Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists. *Nat Genet* 47:410–415. <https://doi.org/10.1038/ng.3223>
- Kont R, Bissaro B, Eijsink VGH, Väljamäe P (2020) Kinetic insights into the peroxygenase activity of cellulose-active lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs). *Nat Commun* 11:5786. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19561-8>
- Kracher D, Ludwig R (2016) Cellobiose dehydrogenase: An essential enzyme for lignocellulose degradation in nature – A review / Cellobiosedehydrogenase: Ein essentielles Enzym für den Lignozelluloseabbau in der Natur – Eine Übersicht. *Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment* 67:145–163
- Krah F-S, Bässler C, Heibl C, et al (2018a) Evolutionary dynamics of host specialization in wood-decay fungi. *BMC Evolutionary Biology* 18:1–13
- Krah F-S, Seibold S, Brandl R, et al (2018b) Independent effects of host and environment on the diversity of wood-inhabiting fungi. *Journal of Ecology* 106:1428–1442. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12939>

- Kunzetsova A, Brockhoff P, Christensen R (2017) lmerTest package: Tests in linear mixed effect models. *J Stat Softw* 82:1–26
- Kurz WA, Dymond CC, Stinson G, et al (2008) Mountain pine beetle and forest carbon feedback to climate change. *Nature* 452:987–990. <https://doi.org/10.1038/nature06777>
- Labourel A, Crouch LI, Brás JL, et al (2016) The mechanism by which arabinoxylanases can recognize highly decorated xylans. *Journal of Biological Chemistry* 291:22149–22159
- Lagomarsino A, De Meo I, Agnelli AE, et al (2021) Decomposition of black pine (*Pinus nigra* J. F. Arnold) deadwood and its impact on forest soil components. *Science of The Total Environment* 754:142039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142039>
- Lang AK, LaRue EA, Kivlin SN, et al (2023) Forest structural diversity is linked to soil microbial diversity. *Ecosphere* 14:e4702. <https://doi.org/10.1002/ecs2.4702>
- Lasota J, Błońska E, Piaszczyk W, Wiecheć M (2018) How the deadwood of different tree species in various stages of decomposition affected nutrient dynamics? *J Soils Sediments* 18:2759–2769. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1858-2>
- Latterini F, Dyderski MK, Horodecki P, et al (2023) The Effects of Forest Operations and Silvicultural Treatments on Litter Decomposition Rate: a Meta-analysis. *Curr For Rep* 9:276–290. <https://doi.org/10.1007/s40725-023-00190-5>
- Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N (2008) The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* 40:2407–2415. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>
- Le Provost G, Thiele J, Westphal C, et al (2021) Contrasting responses of above- and belowground diversity to multiple components of land-use intensity. *Nat Commun* 12:3918. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23931-1>
- Lee MR, Oberle B, Olivas W, et al (2020) Wood construction more strongly shapes deadwood microbial communities than spatial location over 5 years of decay. *Environ Microbiol* 22:4702–4717. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15212>
- Lenhart K, Bunge M, Ratering S, et al (2012) Evidence for methane production by saprotrophic fungi. *Nat Commun* 3:1046. <https://doi.org/10.1038/ncomms2049>
- Leonhardt S, Hoppe B, Stengel E, et al (2019) Molecular fungal community and its decomposition activity in sapwood and heartwood of 13 temperate European tree species. *PLOS ONE* 14:e0212120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212120>
- Levasseur A, Drula E, Lombard V, et al (2013) Expansion of the enzymatic repertoire of the CAZy database to integrate auxiliary redox enzymes. *Biotechnol Biofuels* 6:41. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-41>
- Li F, Zhao H, Shao R, et al (2021) Enhanced Fenton Reaction for Xenobiotic Compounds and Lignin Degradation Fueled by Quinone Redox Cycling by Lytic Polysaccharide Monooxygenases. *J Agric Food Chem* 69:7104–7114. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01684>
- Liers C, Arnstadt T, Ullrich R, Hofrichter M (2011) Patterns of lignin degradation and oxidative enzyme secretion by different wood- and litter-colonizing basidiomycetes and ascomycetes grown on beech-wood. *FEMS Microbiol Ecol* 78:91–102. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01144.x>
- Liers C, Pecyna MJ, Kellner H, et al (2013) Substrate oxidation by dye-decolorizing peroxidases (DyPs) from wood-and litter-degrading agaricomycetes compared to other fungal and plant heme-peroxidases. *Applied microbiology and biotechnology* 97:5839–5849
- Liers C, Ullrich R, Steffen KT, et al (2006) Mineralization of ¹⁴C-labelled synthetic lignin and extracellular enzyme activities of the wood-colonizing ascomycetes *Xylaria hypoxylon* and *Xylaria polymorpha*. *Applied microbiology and biotechnology* 69:573–579

- Linde D, Pogni R, Cañellas M, et al (2015) Catalytic surface radical in dye-decolorizing peroxidase: a computational, spectroscopic and site-directed mutagenesis study. *Biochemical Journal* 466:253–262. <https://doi.org/10.1042/BJ20141211>
- Liu L, Estiarte M, Peñuelas J (2019) Soil moisture as the key factor of atmospheric CH₄ uptake in forest soils under environmental change. *Geoderma* 355:113920. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113920>
- Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, et al (2014) The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic acids research* 42:D490–D495
- Louca S, Parfrey LW, Doebeli M (2016) Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science* 353:1272–1277. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>
- Louca S, Polz MF, Mazel F, et al (2018) Function and functional redundancy in microbial systems. *Nat Ecol Evol* 2:936–943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- Lumbsch HT, Buchanan PK, May TW, Mueller GM (2008) Phylogeography and biogeography of fungi. *Mycological Research* 112:423–424. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.02.002>
- Lundell TK, Mäkelä MR, de Vries RP, Hildén KS (2014) Chapter eleven - Genomics, lifestyles and future prospects of wood-decay and litter-decomposing basidiomycota. In: *Advances in Botanical Research*. Academic Press, S 329–370
- Magnússon RÍ, Tietema A, Cornelissen JHC, et al (2016) Tamm Review: Sequestration of carbon from coarse woody debris in forest soils. *Forest Ecology and Management* 377:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.06.033>
- Mäkelä M, Hilden K, Kuuskeri J (2021) Fungal lignin-modifying peroxidases and H₂O₂-producing enzymes. In: Zaragoza Ó, Casadevall A (Hrsg) *Encyclopedia of Mycology*. Elsevier, S 247–259
- Mäkipää R, Leppänen SM, Sanz Munoz S, et al (2018) Methanotrophs are core members of the diazotroph community in decaying Norway spruce logs. *Soil Biology and Biochemistry* 120:230–232. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.02.012>
- Manning P, Gossner MM, Bossdorf O, et al (2015) Grassland management intensification weakens the associations among the diversities of multiple plant and animal taxa. *Ecology* 96:1492–1501. <https://doi.org/10.1890/14-1307.1>
- Martínez AT, Camarero S, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez MJ (2018) Biological lignin degradation. Lignin valorization: emerging approaches 19:199
- Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ, Camarero S, et al (2017) Oxidoreductases on their way to industrial biotransformations. *Biotechnology Advances* 35:815–831. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.06.003>
- Martinez D, Challacombe J, Morgenstern I, et al (2009) Genome, transcriptome, and secretome analysis of wood decay fungus *Postia placenta* supports unique mechanisms of lignocellulose conversion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:1954–1959. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809575106>
- Martinez-Fleites C, Guerreiro CI, Baumann MJ, et al (2006) Crystal structures of *Clostridium thermocellum* xyloglucanase, XGH74A, reveal the structural basis for xyloglucan recognition and degradation. *Journal of Biological Chemistry* 281:24922–24933
- Martínez AT (2002) Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme and Microbial Technology* 30:425–444. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00521-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00521-X)
- Mascarenhas R, Ruziska FM, Moreira EF, et al (2020) Integrating computational methods to investigate the macroecology of microbiomes. *Frontiers in Genetics* 10:1344

- Maynard DS, Covey KR, Crowther TW, et al (2018) Species associations overwhelm abiotic conditions to dictate the structure and function of wood-decay fungal communities. *Ecology* 99:801–811. <https://doi.org/10.1002/ecy.2165>
- Meyer P, Schmidt M (2011) Accumulation of dead wood in abandoned beech (*Fagus sylvatica* L.) forests in northwestern Germany. *Forest Ecology and Management* 261:342–352. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.08.037>
- Minnich C, Peršoh D, Poll C, Borken W (2021) Changes in Chemical and Microbial Soil Parameters Following 8 Years of Deadwood Decay: An Experiment with Logs of 13 Tree Species in 30 Forests. *Ecosystems* 24:955–967. <https://doi.org/10.1007/s10021-020-00562-z>
- Moisan M-A, Lajoie G, Constant P, et al (2024) How tree traits modulate tree methane fluxes: A review. *Science of The Total Environment* 940:173730. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173730>
- Moll J, Bässler C, Buscot F, et al (2024) Extrinsic rather than intrinsic factors determine microbial colonization of deadwood. *Soil Biology and Biochemistry* 199:109608. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109608>
- Moll J, Heintz-Buschart A, Bässler C, et al (2021a) Amplicon Sequencing-Based Bipartite Network Analysis Confirms a High Degree of Specialization and Modularity for Fungi and Prokaryotes in Deadwood. *mSphere* 6:e00856-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00856-20>
- Moll J, Kellner H, Leonhardt S, et al (2018) Bacteria inhabiting deadwood of 13 tree species are heterogeneously distributed between sapwood and heartwood. *Environmental Microbiology* 20:3744–3756. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14376>
- Moll J, Roy F, Bässler C, et al (2021b) First evidence that nematode communities in deadwood are related to tree species identity and to co-occurring fungi and prokaryotes. *Microorganisms* 9:1454. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071454>
- Moor H, Nordén J, Penttilä R, et al (2021) Long-term effects of colonization–extinction dynamics of generalist versus specialist wood-decaying fungi. *Journal of Ecology* 109:491–503. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13526>
- Mukhin VA, Voronin PYu (2009) Methanogenic activity of woody debris. *Russ J Ecol* 40:149–153. <https://doi.org/10.1134/S1067413609030011>
- Mukhortova L, Pashenova N, Meteleva M, et al (2021) Temperature Sensitivity of CO₂ and CH₄ Fluxes from Coarse Woody Debris in Northern Boreal Forests. *Forests* 12:624. <https://doi.org/10.3390/f12050624>
- Müller J, Bässler C, Jehl H, Leibl F (2011) Biologische Vielfalt im Nationalpark Bayerischer Wald. Nationalparkverwaltung Bayerischer Wald, Grafenau
- Müller J, Ulyshen M, Seibold S, et al (2020) Primary determinants of communities in deadwood vary among taxa but are regionally consistent. *Oikos* 129:1579–1588. <https://doi.org/10.1111/oik.07335>
- Murray LT, Oswalt SN, Goeking SA, Renwick KM (2025) Forest definitions applied for national United States forest reporting: Status, gaps, and opportunities. *Trees, Forests and People* 20:100839. <https://doi.org/10.1016/j.tfp.2025.100839>
- Muszynski S, Maurer F, Henjes S, et al (2021) Fungal and Bacterial Diversity Patterns of Two Diversity Levels Retrieved From a Late Decaying *Fagus sylvatica* Under Two Temperature Regimes. *Front Microbiol* 11:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.548793>
- Newbold T, Hudson LN, Hill SLL, et al (2015) Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature* 520:45–50. <https://doi.org/10.1038/nature14324>

- Noll L, Leonhardt S, Arnstadt T, et al (2016) Fungal biomass and extracellular enzyme activities in coarse woody debris of 13 tree species in the early phase of decomposition. *Forest Ecology and Management* 378:181–192. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.07.035>
- Oberle B, Covey KR, Dunham KM, et al (2018) Dissecting the Effects of Diameter on Wood Decay Emphasizes the Importance of Cross-Stem Conductivity in *Fraxinus americana*. *Ecosystems* 21:85–97. <https://doi.org/10.1007/s10021-017-0136-x>
- Ohtsuka T, Shizu Y, Hirota M, et al (2014) Role of coarse woody debris in the carbon cycle of Takayama forest, central Japan. *Ecol Res* 29:91–101. <https://doi.org/10.1007/s11284-013-1102-5>
- Olajuyigbe S, Tobin B, Nieuwenhuis M (2012) Temperature and moisture effects on respiration rate of decomposing logs in a Sitka spruce plantation in Ireland. *Forestry* 85:485–496. <https://doi.org/10.1093/forestry/CPS045>
- Ottosson E, Kubartová A, Edman M, et al (2015) Diverse ecological roles within fungal communities in decomposing logs of *Picea abies*. *FEMS Microbiology Ecology* 91:fiv012. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv012>
- Paillet Y, Bergès L, Hjältén J, et al (2010) Biodiversity Differences between Managed and Unmanaged Forests: Meta-Analysis of Species Richness in Europe. *Conservation Biology* 24:101–112. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01399.x>
- Paletto A, De Meo I, Cantiani P, Ferretti F (2014) Effects of forest management on the amount of deadwood in Mediterranean oak ecosystems. *Annals of Forest Science* 71:791–800. <https://doi.org/10.1007/s13595-014-0377-1>
- Pan Y, Birdsey RA, Fang J, et al (2011) A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science* 333:988–993. <https://doi.org/10.1126/science.1201609>
- Pastorelli R, Paletto A, Agnelli AE, et al (2020) Microbial communities associated with decomposing deadwood of downy birch in a natural forest in Khibiny Mountains (Kola Peninsula, Russian Federation). *Forest Ecology and Management* 455:117643. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117643>
- Pavoine S (2020) *adiv*: An R package to analyse biodiversity in ecology. *Methods in Ecology and Evolution* 11:1106–1112. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13430>
- Pearce RB (1996) Antimicrobial defences in the wood of living trees. *New Phytologist* 132:203–233. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01842.x>
- Petridis L, Smith JC (2018) Molecular-level driving forces in lignocellulosic biomass deconstruction for bioenergy. *Nat Rev Chem* 2:382–389. <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0050-6>
- Pietikäinen J, Pettersson M, Bååth E (2005) Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiology Ecology* 52:49–58. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.10.002>
- Polechová J, Storch D (2008) Ecological Niche. In: Jørgensen SE, Fath BD (Hrsg) *Encyclopedia of Ecology*. Academic Press, Oxford, S 1088–1097
- Polley H, Schmitz F, Hennig P, Kroiher F (2010) Germany. In: Tomppo E, Gschwandter T, Lawrence M, McRoberts RE (eds) *National Forest Inventories. Pathways for common reporting*. Springer New York, S pp 223–245
- Portillo-Estrada M, Pihlatie M, Korhonen JFJ, et al (2016) Climatic controls on leaf litter decomposition across European forests and grasslands revealed by reciprocal litter transplantation experiments. *Biogeosciences* 13:1621–1633. <https://doi.org/10.5194/bg-13-1621-2016>
- Pretzsch H (2009) Forest Dynamics, Growth, and Yield. In: Pretzsch H (Hrsg) *Forest Dynamics, Growth and Yield: From Measurement to Model*. Springer, Berlin, Heidelberg, S 1–39

- Přívěťivý T, Šamonil P (2021) Variation in Downed Deadwood Density, Biomass, and Moisture during Decomposition in a Natural Temperate Forest. *Forests* 12:1352. <https://doi.org/10.3390/f12101352>
- Purahong W, Kahl T, Schlöter M, et al (2014) Comparing fungal richness and community composition in coarse woody debris in Central European beech forests under three types of management. *Mycol Progress* 13:959–964. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0954-y>
- Purahong W, Wubet T, Kahl T, et al (2018a) Increasing N deposition impacts neither diversity nor functions of deadwood-inhabiting fungal communities, but adaptation and functional redundancy ensure ecosystem function. *Environmental Microbiology* 20:1693–1710. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14081>
- Purahong W, Wubet T, Krüger D, Buscot F (2018b) Molecular evidence strongly supports deadwood-inhabiting fungi exhibiting unexpected tree species preferences in temperate forests. *ISME J* 12:289–295. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.177>
- Purahong W, Wubet T, Lentendu G, et al (2018c) Determinants of deadwood-inhabiting fungal communities in temperate forests: molecular evidence from a large scale deadwood decomposition experiment. *Frontiers in Microbiology* 9:2120
- Qin X, Yang K, Wang X, et al (2023) Insights into the H₂O₂-Driven Lytic Polysaccharide Monooxygenase Activity on Efficient Cellulose Degradation in the White Rot Fungus *Irpex lacteus*. *J Agric Food Chem* 71:8104–8111. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01777>
- Quinlan RJ, Sweeney MD, Lo Leggio L, et al (2011) Insights into the oxidative degradation of cellulose by a copper metalloenzyme that exploits biomass components. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:15079–15084. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105776108>
- Reina R, Kellner H, Hess J, et al (2019) Genome and secretome of *Chondrostereum purpureum* correspond to saprotrophic and phytopathogenic life styles. *PLOS ONE* 14:e0212769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212769>
- Reitalu T, Johansson LJ, Sykes MT, et al (2010) History matters: village distances, grazing and grassland species diversity. *Journal of Applied Ecology* 47:1216–1224. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01875.x>
- Ricotta C, de Bello F, Moretti M, et al (2016) Measuring the functional redundancy of biological communities: a quantitative guide. *Methods in Ecology and Evolution* 7:1386–1395. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12604>
- Rieder L, Stepanov AA, Sørli M, Eijsink VGH (2021) Fast and Specific Peroxygenase Reactions Catalyzed by Fungal Mono-Copper Enzymes. *Biochemistry* 60:3633–3643. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00407>
- Rieker D, Krah F-S, Gossner MM, et al (2022) Disentangling the importance of space and host tree for the beta-diversity of beetles, fungi, and bacteria: lessons from a large dead-wood experiment. *Biological Conservation* 268:109521. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109521>
- Riley R, Salamov AA, Brown DW, et al (2014) Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:9923–9928
- Rondeux J, Sanchez C (2010) Review of indicators and field methods for monitoring biodiversity within national forest inventories. Core variable: Deadwood. *Environ Monit Assess* 164:617–630. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0917-6>
- Roy F, Ibayev O, Arnstadt T, et al (2023) Nitrogen addition increases mass loss of gymnosperm but not of angiosperm deadwood without changing microbial communities. *Science of The Total Environment* 900:165868. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165868>

- Ruiz-Dueñas FJ, Barrasa JM, Sánchez-García M, et al (2021) Genomic Analysis Enlightens Agaricales Lifestyle Evolution and Increasing Peroxidase Diversity. *Molecular Biology and Evolution* 38:1428–1446. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa301>
- Ruiz-Duenas FJ, Lundell T, Floudas D, et al (2013) Lignin-degrading peroxidases in Polyporales: an evolutionary survey based on 10 sequenced genomes. *Mycologia* 105:1428–1444
- Ruiz-Duenas FJ, Morales M, García E, et al (2009) Substrate oxidation sites in versatile peroxidase and other basidiomycete peroxidases. *Journal of experimental botany* 60:441–452
- Russell MB, Fraver S, Aakala T, et al (2015) Quantifying carbon stores and decomposition in dead wood: A review. *Forest Ecology and Management* 350:107–128. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.04.033>
- Rytioja J, Hildén K, Yuzon J, et al (2014) Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 78:614–649. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00035-14>
- Sahu N, Indic B, Wong-Bajracharya J, et al (2023) Vertical and horizontal gene transfer shaped plant colonization and biomass degradation in the fungal genus *Armillaria*. *Nat Microbiol* 8:1668–1681. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01448-1>
- Salame TM, Knop D, Levinson D, et al (2013) Redundancy among Manganese Peroxidases in *Pleurotus ostreatus*. *Appl Environ Microbiol* 79:2405–2415. <https://doi.org/10.1128/AEM.03849-12>
- Santos-Silva C, Gonçalves A, Louro R (2011) Canopy cover influence on macrofungal richness and sporocarp production in montado ecosystems. *Agroforest Syst* 82:149–159. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9374-7>
- Savory JG (1954) Breakdown of Timber by Ascomycetes and Fungi Imperfecti. *Annals of Applied Biology* 41:336–347. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1954.tb01126.x>
- Schaefer M (2012) Wörterbuch der Ökologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Schall P, Ammer C (2013) How to quantify forest management intensity in Central European forests. *Eur J Forest Res* 132:379–396. <https://doi.org/10.1007/s10342-013-0681-6>
- Schallert K, Verschaffelt P, Mesuere B, et al (2022) Pout2Prot: An Efficient Tool to Create Protein (Sub)groups from Percolator Output Files. *J Proteome Res* 21:1175–1180. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00685>
- Scharenbroch BC, Bockheim JG (2007) Impacts of forest gaps on soil properties and processes in old growth northern hardwood-hemlock forests. *Plant Soil* 294:219–233. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9248-y>
- Schiebenhoefer H, Schallert K, Renard BY, et al (2020) A complete and flexible workflow for metaproteomics data analysis based on MetaProteomeAnalyzer and Prophan. *Nat Protoc* 15:3212–3239. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0368-7>
- Schmalenberger A, Pritzkow W, Ojeda JJ, Noll M (2011) Characterization of main sulfur source of wood-degrading basidiomycetes by S K-edge X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES). *International Biodeterioration & Biodegradation* 65:1215–1223. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.08.013>
- Schulze ED, Aas G, Grimm GW, et al (2016) A review on plant diversity and forest management of European beech forests. *Eur J Forest Res* 135:51–67. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0922-y>
- Schwarze FW, Engels J, Mattheck C (2000) Fungal strategies of wood decay in trees. Springer Science & Business Media

- Seibold S, Müller J, Baldrian P, et al (2019) Fungi associated with beetles dispersing from dead wood – Let’s take the beetle bus! *Fungal Ecology* 39:100–108. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.11.016>
- Seibold S, Rammer W, Hothorn T, et al (2021) The contribution of insects to global forest deadwood decomposition. *Nature* 597:77–81. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03740-8>
- Sharman CV, Smith RS (1970) Gamma Radiation Sterilization of Ponderosa Pine and Birch Sapwood. *Wood and Fiber Science* 134–143
- Shorohova E, Kapitsa E (2014) Influence of the substrate and ecosystem attributes on the decomposition rates of coarse woody debris in European boreal forests. *Forest Ecology and Management* 315:173–184. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.12.025>
- Sierra CA, Malghani S, Loescher HW (2017) Interactions among temperature, moisture, and oxygen concentrations in controlling decomposition rates in a boreal forest soil. *Biogeosciences* 14:703–710. <https://doi.org/10.5194/bg-14-703-2017>
- Siitonen J (2001) Forest Management, Coarse Woody Debris and Saproxylic Organisms: Fennoscandian Boreal Forests as an Example. *Ecological Bulletins* 11–41
- Silver WL, Miya RK (2001) Global patterns in root decomposition: comparisons of climate and litter quality effects. *Oecologia* 129:407–419. <https://doi.org/10.1007/s004420100740>
- Simons NK, Gossner MM, Lewinsohn TM, et al (2014) Resource-Mediated Indirect Effects of Grassland Management on Arthropod Diversity. *PLOS ONE* 9:e107033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107033>
- Singh AK, Iqbal HMN, Cardullo N, et al (2023) Structural insights, biocatalytic characteristics, and application prospects of lignin-modifying enzymes for sustainable biotechnology. *International Journal of Biological Macromolecules* 242:124968. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124968>
- Sipos G, Prasanna AN, Walter MC, et al (2017) Genome expansion and lineage-specific genetic innovations in the forest pathogenic fungi *Armillaria*. *Nat Ecol Evol* 1:1931–1941. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0347-8>
- Sjöström E (2013) *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. Elsevier
- Smith GR, Peay KG (2021) Multiple distinct, scale-dependent links between fungi and decomposition. *Ecology Letters* 24:1352–1362. <https://doi.org/10.1111/ele.13749>
- Socher SA, Prati D, Boch S, et al (2012) Direct and productivity-mediated indirect effects of fertilization, mowing and grazing on grassland species richness. *Journal of Ecology* 100:1391–1399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2012.02020.x>
- Solomon EI, Sundaram UM, Machonkin TE (1996) Multicopper oxidases and oxygenases. *Chemical reviews* 96:2563–2606
- Song Z, Kennedy PG, Liew FJ, Schilling JS (2017) Fungal endophytes as priority colonizers initiating wood decomposition. *Functional Ecology* 31:407–418. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12735>
- Stepnov AA, Christensen IA, Forsberg Z, et al (2022) The impact of reductants on the catalytic efficiency of a lytic polysaccharide monooxygenase and the special role of dehydroascorbic acid. *FEBS Letters* 596:53–70. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14246>
- Stokland JN, Siitonen J, Jonsson BG (2012) *Biodiversity in dead wood*. Cambridge university press
- Sützl L, Laurent CV, Abrera AT, et al (2018) Multiplicity of enzymatic functions in the CAZy AA3 family. *Applied microbiology and biotechnology* 102:2477–2492
- Swift MJ, Heal OW, Anderson JM, Anderson JM (1979) *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. University of California Press

- Tandrup T, Frandsen KEH, Johansen KS, et al (2018) Recent insights into lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs). *Biochemical Society Transactions* 46:1431–1447. <https://doi.org/10.1042/BST20170549>
- Taylor BR, Parkinson D, Parsons WFJ (1989) Nitrogen and Lignin Content as Predictors of Litter Decay Rates: A Microcosm Test. *Ecology* 70:97–104. <https://doi.org/10.2307/1938416>
- Taylor JW (2011) The poetry of mycological accomplishment and challenge. *Fungal Biology Reviews* 25:3–13. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2011.01.005>
- Teeri TT (1997) Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. *Trends in Biotechnology* 15:160–167. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(97\)01032-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(97)01032-9)
- Thauer RK (1998) Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson:1998 Marjory Stephenson Prize Lecture. *Microbiology* 144:2377–2406. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-9-2377>
- Thompson NS (2000) Hemicellulose. In: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Ltd
- Thurston CF (1994) The structure and function of fungal laccases. *Microbiology* 140:19–26. <https://doi.org/10.1099/13500872-140-1-19>
- Tokin R, Ipsen JØ, Westh P, Johansen KS (2020) The synergy between LPMOs and cellulases in enzymatic saccharification of cellulose is both enzyme- and substrate-dependent. *Biotechnol Lett* 42:1975–1984. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02922-0>
- Valette N, Perrot T, Sormani R, et al (2017) Antifungal activities of wood extractives. *Fungal Biology Reviews* 31:113–123. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.01.002>
- van den Brink J, de Vries RP (2011) Fungal enzyme sets for plant polysaccharide degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 91:1477–1492. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3473-2>
- van der Wal A, Klein Gunnewiek PJ, Cornelissen JHC, et al (2016) Patterns of natural fungal community assembly during initial decay of coniferous and broadleaf tree logs. *Ecosphere* 7:e01393
- Vanholme R, Demedts B, Morreel K, et al (2010) Lignin biosynthesis and structure. *Plant physiology* 153:895–905
- Vera FWM, Bakker ES, Olff H (2006) Large herbivores: missing partners of western European light-demanding tree and shrub species? In: Danell K, Bergström R, Duncan P, Pastor J (Hrsg) *Large Herbivore Ecology, Ecosystem Dynamics and Conservation*, 1. edn. Cambridge University Press, S 203–231
- Vogt J, Klaus V, Both S, et al (2019) Eleven years' data of grassland management in Germany. *Biodiversity Data Journal* 7:e36387. <https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e36387>
- von Arx G, Dobbertin M, Rebetez M (2012) Spatio-temporal effects of forest canopy on understory microclimate in a long-term experiment in Switzerland. *Agricultural and Forest Meteorology* 166–167:144–155. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.07.018>
- Wang Z, Feng S, Rovira C, Wang B (2021) How Oxygen Binding Enhances Long-Range Electron Transfer: Lessons From Reduction of Lytic Polysaccharide Monooxygenases by Cellobiose Dehydrogenase. *Angewandte Chemie International Edition* 60:2385–2392. <https://doi.org/10.1002/anie.202011408>
- Wang Z-P, Han S-J, Li H-L, et al (2017) Methane Production Explained Largely by Water Content in the Heartwood of Living Trees in Upland Forests. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 122:2479–2489. <https://doi.org/10.1002/2017JG003991>

- Warner DL, Villarreal S, McWilliams K, et al (2017) Carbon Dioxide and Methane Fluxes From Tree Stems, Coarse Woody Debris, and Soils in an Upland Temperate Forest. *Ecosystems* 20:1205–1216. <https://doi.org/10.1007/s10021-016-0106-8>
- Weedon JT, Cornwell WK, Cornelissen JHC, et al (2009) Global meta-analysis of wood decomposition rates: a role for trait variation among tree species? *Ecology Letters* 12:45–56. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01259.x>
- Witkamp M (1966) Decomposition of Leaf Litter in Relation to Environment, Microflora, and Microbial Respiration. *Ecology* 47:194–201. <https://doi.org/10.2307/1933765>
- Wohl DL, Arora S, Gladstone JR (2004) Functional redundancy supports biodiversity and ecosystem function in a closed and constant environment. *Ecology* 85:1534–1540. <https://doi.org/10.1890/03-3050>
- Wu Q, Mueller GM (1997) Biogeographic relationships between the macrofungi of temperate eastern Asia and eastern North America. *Can J Bot* 75:2108–2116. <https://doi.org/10.1139/b97-922>
- Yang C, Schaefer DA, Liu W, et al (2016) Higher fungal diversity is correlated with lower CO₂ emissions from dead wood in a natural forest. *Sci Rep* 6:31066. <https://doi.org/10.1038/srep31066>
- Yang S, Poorter L, Kuramae EE, et al (2022) Stem traits, compartments and tree species affect fungal communities on decaying wood. *Environmental Microbiology* 24:3625–3639. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15953>
- Yip DZ, Veach AM, Yang ZK, et al (2019) Methanogenic Archaea dominate mature heartwood habitats of Eastern Cottonwood (*Populus deltoides*). *New Phytologist* 222:115–121. <https://doi.org/10.1111/nph.15346>
- Yoshida T, Sugano Y (2023) Unexpected diversity of dye-decolorizing peroxidases. *Biochemistry and Biophysics Reports* 33:101401. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101401>
- Zelinka SL, Kirker GT, Bishell AB, Glass SV (2020) Effects of Wood Moisture Content and the Level of Acetylation on Brown Rot Decay. *Forests* 11:299. <https://doi.org/10.3390/f11030299>
- Zhang J, Siika-Aho M, Tenkanen M, Viikari L (2011) The role of acetyl xylan esterase in the solubilization of xylan and enzymatic hydrolysis of wheat straw and giant reed. *Biotechnol Biofuels* 4:60. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-60>
- Zhang R, Cao C, Bi J, Li Y (2022) Fungal cellulases: protein engineering and post-translational modifications. *Appl Microbiol Biotechnol* 106:1–24. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11723-y>
- Zhang Y, Hou W, Chi M, et al (2020) Simulating the effects of soil temperature and soil moisture on CO₂ and CH₄ emissions in rice straw-enriched paddy soil. *CATENA* 194:104677. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104677>
- Zhao XJ, Sucoff E, Stadelmann EJ (1987) Al and Ca Alteration of Membrane Permeability of *Quercus rubra* Root Cortex Cells. *Plant Physiol* 83:159–162. <https://doi.org/10.1104/pp.83.1.159>
- Zibold M, Bässler C, Hauck M, Scherer-Lorenzen M (2024) Fungi and deadwood diversity: A test of the area-heterogeneity trade-off hypothesis. *Journal of Ecology* 112:1701–1718. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.14352>

5 Darstellung des Eigenanteils und Publikationen

Diese Dissertation umfasst drei Publikationen, die in Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern entstanden sind. Im Folgenden werden der jeweilige Eigenanteil sowie die Beiträge meiner Mitautoren dargestellt und die Publikationen in ihrer Originalfassung präsentiert.

5.1 Darstellung des Eigenanteils

1. Publikation: Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats

Autoren: L. Kipping, F. Maurer, M.M. Gossner, S. Muszynski, T. Kahl, H. Kellner, W.W. Weiser, N. Jehmlich, M. Noll

MN, NJ, HK und TK konzipierten die Forschungsideen und entwickelten die Methodik. FM, NJ, SM und MN waren für die Datenerhebung verantwortlich, während LK, FM und MMG die Daten analysierten. Die Manuskripterstellung wurde von MN, LK und MMG geleitet. Alle Autoren leisteten wesentliche Beiträge zu den Manuskriptentwürfen und stimmten der finalen Version zur Veröffentlichung zu.

2. Publikation: Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats

Autoren: Kipping L, Gossner MM, Koschorreck M, Muszynski S, Maurer F, Weisser WW, Jehmlich N, Noll M

MN, NJ und TK entwickelten die Ideen und entwarfen die Methodik; FM, NJ, SM und MN führten die Probensammlung durch; LK und MK übernahmen die Datenerhebung, während LK und MMG die Daten analysierten. MN, LK und MMG übernahmen die Hauptverantwortung für die Erstellung des Manuskripts. Alle Autoren trugen kritisch zu den Entwürfen bei und gaben die endgültige Freigabe zur Veröffentlichung.

3. Publikation: Enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi that degrade temperate tree species

Autoren: Kipping L, Jehmlich N, Moll J, Noll M, Gossner MM, Van Den Bossche T, Edelmann P, Borken W, Hofrichter M, Kellner H

HK und NJ entwarfen das Feldexperiment und führten die Probennahme durch. LK und NJ führten die Laborexperimente sowie die massenspektrometrische Analyse durch. TB unterstützte bei der Proteomanalyse, während JM die Metabarcoding-Analyse durchführte. MMG und MN trugen zur statistischen Auswertung bei. PE und WB stellten die Daten zum Massenverlust zur Verfügung. LK, HK und NJ führten die Datenanalyse und Interpretation durch und verfassten das Manuskript, wobei MH mit biochemischem und stilistischem Fachwissen unterstützte. Alle Autoren trugen kritisch zu den Entwürfen bei und gaben die endgültige Freigabe zur Veröffentlichung.

5.2 Publikation 1

Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats

L. Kipping, F. Maurer, M.M. Gossner, S. Muszynski, T. Kahl, H. Kellner, W.W. Weiser, N. Jehmlich, M. Noll

Frontiers in Forests and Global Change, 5. Jg., S. 1020737

DOI: <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.1020737>

Eingegangen: 16. August 2022. Angenommen: 17. November 2022. Veröffentlicht: 07. Dezember 2022.

MN, NJ, HK und TK konzipierten die Forschungsideen und entwickelten die Methodik. FM, NJ, SM und MN waren für die Datenerhebung verantwortlich, während LK, FM und MMG die Daten analysierten. Die Manuskripterstellung wurde von MN, LK und MMG geleitet. Alle Autoren leisteten wesentliche Beiträge zu den Manuskriptentwürfen und stimmten der finalen Version zur Veröffentlichung zu.

© 2022 Kipping, Maurer, Gossner, Muszynski, Kahl, Kellner, Weiser, Jehmlich and Noll. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Zuoqiang Yuan,
Northernwest Polytechnical University,
China

REVIEWED BY
Ivika Ostonen,
University of Tartu, Estonia
Isabella De Meo,
Council for Agricultural
and Economics Research (CREA), Italy
Soledad Méndez,
CONICET Instituto de Investigaciones
Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas
a la Agricultura (IFEVA), Argentina

*CORRESPONDENCE
Matthias Noll
matthias.noll@hs-coburg.de

†These authors have contributed
equally to this work

SPECIALTY SECTION
This article was submitted to
Temperate and Boreal Forests,
a section of the journal
Frontiers in Forests and Global Change

RECEIVED 16 August 2022
ACCEPTED 17 November 2022
PUBLISHED 07 December 2022

CITATION
Kipping L, Maurer F, Gossner MM,
Muszynski S, Kahl T, Kellner H,
Weiser WW, Jehmlich N and Noll M
(2022) Drivers of deadwood decay
of 13 temperate tree species are
similar between forest and grassland
habitats.
Front. For. Glob. Change 5:1020737.
doi: 10.3389/ffgc.2022.1020737

COPYRIGHT
© 2022 Kipping, Maurer, Gossner,
Muszynski, Kahl, Kellner, Weiser,
Jehmlich and Noll. This is an
open-access article distributed under
the terms of the [Creative Commons
Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use,
distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright
owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is
cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution
or reproduction is permitted which
does not comply with these terms.

Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats

Lydia Kipping^{1,2,3†}, Florian Maurer^{2†}, Martin M. Gossner^{4,5},
Sarah Muszynski², Tiemo Kahl⁶, Harald Kellner⁷,
Wolfgang W. Weiser⁸, Nico Jehmlich¹ and Matthias Noll^{2,3*}

¹Department of Molecular Systems Biology, Helmholtz-Centre for Environmental Research—UFZ GmbH, Leipzig, Germany, ²Institute for Bioanalysis, Coburg University of Applied Sciences and Arts, Coburg, Germany, ³Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), University of Bayreuth, Bayreuth, Germany, ⁴Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland, ⁵Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, Zurich, Switzerland, ⁶UNESCO Biosphere Reserve Thuringian Forest, Schmiedefeld am Rennsteig, Germany, ⁷Department of Bio- and Environmental Sciences, International Institute Zittau, Technical University of Dresden, Zittau, Germany, ⁸Department of Ecology and Ecosystem Management, Technical University of Munich, Freising, Germany

Deadwood provides an important carbon source in forests and wooded ecosystems and, accordingly, forest management strategies discuss the enrichment of deadwood amount and diversity by different tree species. To investigate the decomposition processes of enriched deadwood, we simultaneously placed 3,669 size-standardized and gamma sterilized wood specimens of 13 tree species (*Populus tremula*, *Tilia cordata*, *Prunus avium*, *Betula pendula*, *Carpinus betulus*, *Fraxinus excelsior*, *Quercus robur*, *Fagus sylvatica*, *Acer platanoides*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, and *Pseudotsuga menziesii*) at a total of 300 forest and grassland plots in three regions in Germany covering large gradients of management intensity and environmental conditions. After 1 year, mass loss was calculated and its relationship with wood traits and environmental conditions was assessed to determine the most important factors. Mass loss was overall higher in forest compared to grassland habitats, with wood traits as the most important driver, followed by region and environmental factors related to microclimate. However, management intensity was less relevant to explain the mass loss in both habitats. Our results suggest that decomposition of enriched deadwood, even after removal of endophytes, is influenced by the same drivers (positively by moisture and abundance of macronutrients, negatively by lignin and phenol concentration) as naturally occurring wood. Furthermore, due to the

immense and standardized experimental setting, our study contributes to a better understanding of the important drivers of mass loss in different tree species and thus provides the basis for predictions of the carbon cycle in a changing world.

KEYWORDS

deadwood decomposition, mass loss, forest and grassland habitats, management intensities, region, wood traits, model averaging approach

Introduction

Temperate and boreal forests store approximately 500 megatons of carbon in above-ground biomass (Myneni et al., 2001). After tree death, much of the carbon remains as deadwood, which is slowly decomposed (Franklin et al., 1987). Decomposition processes of deadwood convert carbon and micronutrients (including nitrogen) that are mainly transferred into the atmosphere in the form of carbon dioxide (CO₂) (Kipping et al., 2022), are incorporated into biomass (Harmon et al., 1986) or enter the soil as organic material through leaching (Russell et al., 2015). European forest and grassland environments are governed by anthropogenic management strategies that strongly influence the amounts and quality of coarse woody debris (Josefsson et al., 2010; Ruokolainen et al., 2018). Recent studies recommended strategies of active deadwood enrichment with higher importance on deadwood quality and diversity (Baber et al., 2016; Vogel et al., 2020). Deadwood is an important habitat for saproxylic species and changes the functional composition of these communities (Seibold et al., 2015). Therefore deadwood enrichment promotes the maintenance of forest biodiversity (Doerfler et al., 2018) and studies have already shown positive effects on biodiversity for microorganisms and beetles (Baber et al., 2016; Vogel et al., 2020).

The main important drivers of natural deadwood decomposition were ranked on a global scale, and tree species had the strongest impact, followed by exogenous factors such as climate and location-specific parameters, deadwood size and the openness of canopies (Harmon et al., 2020). Tree species as the main driver of decomposition process was described frequently (Cornwell et al., 2009; Weedon et al., 2009; Freschet et al., 2012; Pietsch et al., 2014; Hu et al., 2018; Parisi et al., 2018) and are based on respective wood traits, which differ in their chemical composition and morphology. Wood traits are more important at the initial deadwood decay while their influence fades along successional decay (Oberle et al., 2020). Wood traits such as nitrogen, sulfur, and magnesium concentration promote deadwood decomposition process, while higher concentrations of extractives, lignin and phenol have an inhibitory effect (Kahl et al., 2017).

Exogenous factors such as edaphic conditions, macro- and microclimate have been shown to shape the occurrence of wood dwelling organisms and deadwood decaying microbial communities, which in turn affect the rate of deadwood decay (Chambers et al., 2000; Zanne et al., 2015). Empirical studies have shown that local environmental conditions, particularly temperature and moisture, exert a strong positive effect on the deadwood decomposition rate (Moore et al., 1999; Kueppers and Harte, 2005). The strong positive correlation between temperature and wood decay is directly linked to microbial community compositions (Bradford et al., 2014), which indirectly alters decomposition processes (Harmon et al., 2020). Moreover, increasing decomposition rates were observed with increasing moisture, as long as the wood moisture content was between 20 and 80% (vol./vol.) (Cornelissen et al., 2012). The effects of temperature and moisture were controversial in different forest ecosystems, indicating a need for further research. Temperature showed the strongest effect on decay rates and tends to be more important than tree species and decomposer diversity in subtropical forests (Pietsch et al., 2019). In turn, moisture had a greater effect in mediterranean forests (Crique et al., 2002).

Furthermore, habitat structure may affect deadwood decomposition, which is caused directly or indirectly by habitat-related environmental factors. For example, deadwood exposed in forest stands of the same tree species decomposes faster than in forest stands of other tree species, as postulated by the home-field advantage hypothesis (Ayres et al., 2009). In addition, forests with increasing canopy openness showed higher decomposition rates (Janisch et al., 2005; Shorohova and Kapitsa, 2014; Harmon et al., 2020). Open canopies and open habitats such as grasslands lead to increased photodegradation by solar radiation (George et al., 2005) and faster alterations of local weather situations. Few studies examined deadwood decomposition rates across a gradient from mature forest to open land (Dossa et al., 2020), where mass loss and termite infestation of deadwood increased in open tropical montane compared to closed tropical forest sites. In contrast, wood decomposition across a gradient at a forest to shrubland ecotone in temperate regions showed increased microbial community activities near forests, which were decreasing with increasing

distance (Smith and Peay, 2021). These correlative approaches provide indications for potential mechanisms, but conclusions about causal relationships are limited. Standardized, systematic field experiments on wood decomposition of multiple tree species under different environmental conditions based on a highly replicated design would allow for a better mechanistic understanding of wood decay but were lacking so far.

Most of Europe is dominated by deciduous broadleaved forests or mixed coniferous and broadleaved forests, but also grassland is partly used as pasturelands and agricultural sites, and open woodland makes up a substantial proportion of the cultural landscape (Bohn et al., 2000). German forests are dominated by the tree species *Picea*, *Pinus*, *Fagus*, and *Quercus* (BMEL, 2021), with most of these tree species and additionally *Acer*, *Tilia*, or *Ulmus* occur in small proportions in grasslands (Vera et al., 2006; Centeri et al., 2016). Majority of grasslands are the consequence of deforestation (Feurdean et al., 2018), and are partly used as woodland pastures or orchard meadows where trees were left or planted for shading and fruit food source for humans and animals (Centeri et al., 2016). As trees occur in semi-natural grassland, wood decomposition is a relevant process in these habitats which greatly differs from forests in terms of environmental conditions and thus is of great importance to understand the main drivers of carbon cycling.

In this study, we aim to investigate the degradation processes of enriched deadwood from 13 different tree species. In addition, we expect to gain a deeper mechanistic understanding of natural deadwood decomposition concerning wood traits and environmental conditions by using a highly replicated and well-standardized experiment. This is conducted as part of the Biodiversity Exploratories with 300 standardized field plots in three different regions of Germany (Fischer et al., 2010). Each region contains field plots in grassland and forest habitats for which highly resolved data on anthropogenic management intensity and environmental data are available. This enabled us to analyse plot-associated factors on early stage deadwood decomposition processes between both habitat types (grassland and forest habitat) with the same macroclimate and edaphic conditions and under defined gradients of management intensity. Standardized deadwood specimens of 13 tree species were exposed (Lasota et al., 2019; Noll et al., 2019), which minimize the complexity of deadwood and enable a more reliable analysis (Lasota et al., 2019) of factors that govern deadwood mass loss. Moreover, deadwood specimens were sterilized (hereinafter referred to as enriched wood) to eliminate wood-inhabiting endophytes, as these have been found to contribute to the home-field advantage hypothesis in the early deadwood decay phase (Carroll, 1988; Song et al., 2017). Thus, the deadwood specimens of the 13 tree species could only be colonized by the local plot-specific decomposer community. Therefore, we were interested in whether the current biodiversity of each of the 300 plots is equally capable of decomposing the deadwood and what plot-associated factors

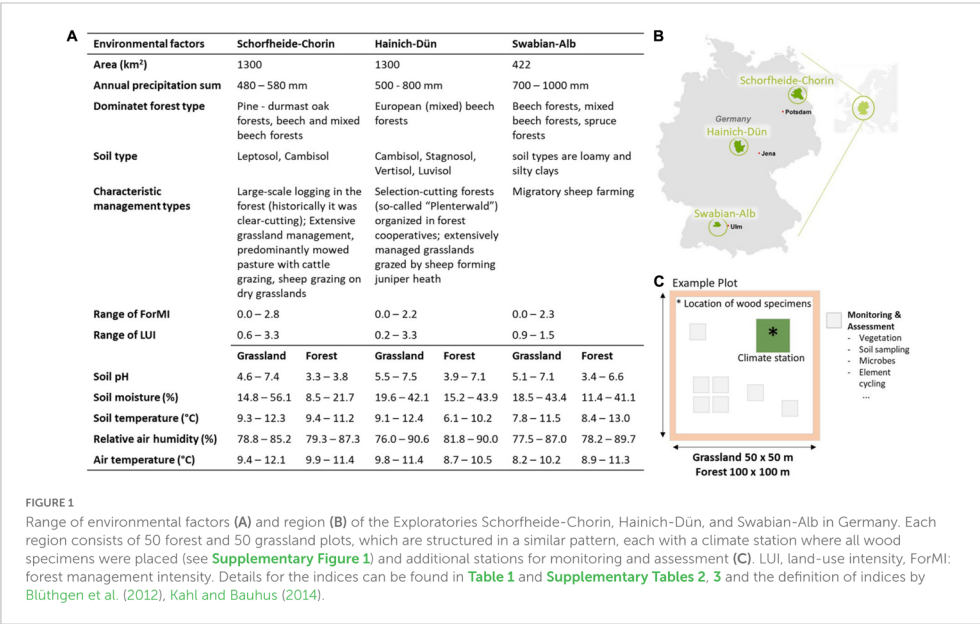
may explain any deviations. We hypothesize that enriched deadwood undergoes the same decomposing processes as naturally occurring deadwood and, consequently, wood traits are the most important driver of deadwood decay in both habitat types, followed by environmental factors. However, we expect mass loss to be higher in forest habitats compared to grassland habitats, as habitat conditions like temperature, moisture, soil conditions and the presence and abundance of saprotrophic organisms are more favorable in forest habitats.

Materials and methods

Field plots

The study was conducted within the Biodiversity Exploratories, a large-scale and long-term project to investigate the relationship between biodiversity and ecosystem processes in response to land-use intensity. In 2006–2009, three study regions were established in different German protected areas (Figure 1B). For these three regions, a detailed inventory of the forest and grassland habitats was carried out, as well as the forest management type and main tree species or the land use intensity was determined by interviewing farmers and landowners [for additional details, see Fischer et al. (2010)]. To study deadwood decomposition, this work used a total of 300 study plots (100 plots per region, including 50 plots in forest of 100 × 100 m each and 50 plots in grassland of 50 × 50 m each) which provided additional information on biodiversity and were subject to regular environmental monitoring (Figures 1A, C). The size differences between grassland and forest plots are based on the selection criteria of consistency and constancy within a plot.

The Exploratory UNESCO Biosphere Reserve Schorfheide-Chorin (52°47'25"–53° 13'26"N/13°23'27"–14°08'53"E, 3–140 m a.s.l.) is characterized by extensive hilly young moraine landscape with numerous lakes, small bodies of water and bogs, as well as dry sandy knoll with subcontinental dry grassland. Forest range from pine-durmast-oak forest, to mixed beech forest and beech forest. The Exploratory National Park Hainich and surrounding Hainich-Dün area (50°56'14"–51°22'43"N/10°10'24"–10°46'45"E, 285–550 m a.s.l.) are one of the largest continuous deciduous forest areas that are dominated by European beech forests. Forest areas are surrounded by small settlements, arable land, meadows and pastures and limestone grassland. The Exploratory UNESCO Biosphere Reserve Swabian-Alb (48°20'28"–48°32'02"N/9°10'49"–09°35'54"E, 460–860 m a.s.l.) is located on sub-montane and montane plateaus. This region is characterized by small-scale mosaic of forests with in-between meadows, sheep pastures and semi-arid grasslands. Forest types range from natural old beech forests, mixed beech-spruce forests and beech or spruce monocultures.



Sample collection

In total, 3,900 deadwood specimens [50 (longitudinal) × 25 × 15 mm] from 13 different tree species were prepared from the outer part of the corresponding tree trunk without bark. To eliminate potential endophytes, all specimens were sterilized in airtight packages by gamma radiation of 70 kGy (Gammasservice, Radeberg, Germany) as outlined earlier ([Muszynski et al., 2021](#)). Thereafter each deadwood specimen was precisely weighed under kiln-dried conditions (48 h at 103°C) to record its initial mass (see mass loss). In April 2017, wood specimens (13 tree species × 50 grassland plots and 50 forest plots × 3 regions) were placed above ground so that the transverse surface was exposed to both soil and air. For safety and recovery, the samples were covered with a net (mesh size of 0.5 cm, please see [Supplementary Figure 1](#)) and exposed for approximately 1 year in the region Schorfheide-Chorin (397 days), Hainich-Dün (460 days), and Swabian-Alb (414 days). However, 3,669 deadwood specimens were recovered after exposure from a total of 300 specimens per tree species (*Populus tremula* (n = 280), *Tilia cordata* (n = 286), *Prunus avium* (n = 285), *Betula pendula* (n = 285), *Carpinus betulus* (n = 293), *Fraxinus excelsior* (n = 285), *Quercus robur* (n = 280), *Fagus sylvatica* (n = 279), *Acer platanoides* (n = 286), *Larix decidua* (n = 276), *Pinus sylvestris* (n = 277), *Picea abies* (n = 270), and *Pseudotsuga menziesii* (n = 287) (for details see [Supplementary Tables 2, 3](#)).

Mass loss

After exposure, each deadwood specimen was collected from each plot and cleaned of adhering soil and/or fungal mycelium with a brush. Each wood specimen was then separately packed, transported to the laboratory, dried for over 48 h in a climatic chamber at 103 ± 2°C, and then placed in a desiccator ([Lasota et al., 2019](#)). Thereafter, the weight of wood specimen was measured, and drying was repeated until a weight constancy was revealed. The percentage mass loss was determined by dividing the dry weight after exposure from the initial dry weight from every single wood specimen.

Environmental factors

Since the beginning of the Biodiversity Exploratories, environmental factors have been recorded on each plot in all three regions ([Figure 1](#)). Each plot contains a 3 × 3 m weather documentation system (climate station) in the plot center, where all weather data were collected and also our deadwood specimens were placed (see [Figure 1C](#)). These weather data included relative air humidity (% vol/vol) at 2 m above ground, soil moisture (% wt/wt) at 10 cm below surface, air temperature (°C) at 10 cm above surface, soil temperature (°C) at 10 cm below surface and soil pH. The average value of each environmental factor per plot was calculated for our

exposure year and used for further statistical analyses (see [Figure 1](#) for macroclimate and [Supplementary Data Sheet 2](#) for microclimate).

Management intensities

The forests of the Biodiversity Exploratories include three main management groups: (1) unmanaged, mature forests, which are not used and mostly protected for at least 60 years, (2) uneven-aged selection cutting forest where trees are harvested selectively, and (3) age-class forests, where harvest occur at 80 years intervals for coniferous forests and 100–120 years intervals for beech forests ([Table 1](#)). For anthropogenic management intensity calculation, the forest plots were characterized by the combined forest management index ForMI ([Kahl and Bauhus, 2014](#)), and its components: proportion of harvested wood volume (Iharv), proportion of tree species that are not part of the natural community (Inonat), and proportion of deadwood including saw cuts (Idwcut). Each component was ranked in a range between 0 (no sign of management) and 1 (intensive management) and then summarized to the ForMI.

Grasslands are divided into three main categories of land use: (1) meadows, (2) pastures and (3) mown pastures, and were characterized by the combined land-use intensity index LUI ([Blüthgen et al., 2012](#)). The LUI summarizes the standardized intensity of the components of total grazing, total mowing, and total fertilization.

Tree species-specific wood traits

As part of the Biodiversity Exploratories, [Kahl et al. \(2017\)](#) analysed the wood properties of the 13 tree species used in this study ([Kahl et al., 2017](#)). To test the potential effect of wood traits in detail, concentrations of carbon, nitrogen, phosphorous, sulfur, potassium, calcium, magnesium, manganese, organic extractives, phenol, and lignin were taken from [Kahl et al. \(2017\)](#), which calculated the average value per tree species ([Supplementary Table 1](#)). In addition, initial wood density was analysed within this study (see above section “Sample collection”) by measuring the weight of each deadwood specimen before and after exposure at kiln-dried conditions. Our wood density findings were in line with previous findings ([Fengel and Wegener, 2011](#)).

Statistical analyses

The statistical analyses and data visualization were performed using R v4.0.2 ([R Core Team, 2016](#)). In the first step (Model 1), we tested for the total effect of tree species,

habitat type (forest and grassland), region (Schorfheide-Chorin, Swabian-Alb, and Hainich-Dün), and anthropogenic management intensities (LUI and ForMI) on mass loss. Therefore, we conducted linear mixed effects models using the lmer function in lmerTest package ([Kuznetsova et al., 2017](#)). For the first model, mass loss was used as response factors. Tree species, habitat type, region and management intensity and their interaction were used as fixed factors and PlotID as random factor. Anthropogenic management intensity values in forest and grassland habitats were normalized within each habitat type to achieve comparable scales. Continuous factors were standardized (scaled to zero mean and unit variance) using the decostand function in the vegan package ([Oksanen et al., 2017](#)). The first model results were presented as type III ANOVA (analysis of variance) table with *p*-values for F-tests after single term deletions (drop1 function) and by using Satterthwaite's method for denominator degrees of freedom. Based on these model results, the adjusted mean effect size and corresponding 95% confidence intervals, were additionally generated with emmeans function in the package emmeans ([Lenth et al., 2018](#)) and illustrated with the field observed data using the ggplot2 package ([Wickham et al., 2016](#)). Associated significances were also performed using the emmeans function and denominator degrees of freedom are determined based on Satterthwaite's method.

To examine in detail the influencing drivers underlying the overall effects, the second step (Model 2) assessed the importance of wood traits, environmental factors, region, and management intensity for mass loss to subsequently determine their estimated effect size. Accordingly to the strong influence of habitat types, all of the following analyses of the second model were conducted separately for forest and grassland habitats. To avoid multicollinearity, we first evaluated the Spearman correlations among all fixed-effect factors and excluded one of each factor pair with a correlation >0.7 ([Tabachnick and Fidell, 1996](#)). As potassium and sulfur, calcium and phosphorus, and carbon and phosphorus concentration were highly correlated (0.91, 0.73, and −0.78, respectively) only sulfur, calcium and carbon concentrations were kept for subsequent analyses. Thereafter, we used all selected variables and conducted separate models based on the combined management intensities ForMI/LUI and its components. These separate models resulted in the following variables used in the global model: ForMI (Iharv, Inonat, Idwcut)/LUI (grazing, mowing, fertilization), main tree species, wood density, carbon, nitrogen, sulfur, calcium, magnesium and lignin concentration, soil pH, relative air humidity, soil moisture, air temperature, and soil temperature. In a second step, we applied the multimodel inference approach as proposed by [Grueber et al. \(2011\)](#) based on a global model (lmer) including all selected and standardized (see above) fixed-effect factors with mass loss as a dependent factor and PlotID and TreeSpecies as random effects. We conducted automated model selection with subsets of the

TABLE 1 Number of individual plots with contrasting land-use and management types for grassland and forest habitats in three regions.

Region	Schorfheide-Chorin	Hainich-Dün	Swabian-Alb
Components of the land use intensity (LUI) of grassland plots			
Meadows			
fertilized	7	7	18
unfertilized	11	–	4
Pastures			
fertilized	–	2	2
unfertilized	22	18	17
Mown pastures			
fertilized	3	15	9
unfertilized	7	8	–
Components of the forest management intensity (ForMI) of forest plots			
Unmanaged forest	5	13	5
Age class forest			
<i>Fagus</i> (Beech)	16	24	33
<i>Quercus</i> (Oak)	7	–	–
<i>Picea</i> (Spruce)	–	4	12
<i>Pinus</i> (Pine)	22	–	–
Selection forest (trees harvested selectively)	–	9	–

global model by the dredge function based on AICc (small-sample-size corrected version of Akaike information criterion) in the R package MuMIn (Barton, 2020). We subsequently selected the best models based on $\Delta AIC < 2$ (substantial support) and $\Delta AIC < 4$ and $\Delta AIC < 7$ (some support) as suggested by Burnham et al. (2011) using the get.models function. The relative importance of each independent factor was assessed by calculating the cumulative Akaike weights of models containing a particular predictor. In the last step, we used all factors with an importance value > 0.75 in a final model with a model structure like the global model to calculate their estimated effect size. The model estimates of the important fixed effects were plotted using the package sjPlot (Lüdtke, 2020). Additionally, to determine the predictive capacity of all models, the R-Squared was calculated by using r2_nakagawa function (Lüdtke et al., 2020).

Results

Decay rate of 13 different tree species differed in grassland and forest plots (model 1)

Mass loss differed significantly among tree species (Figure 2). Region, tree species identity and habitat type, and the interactions with tree species were the important drivers of mass loss (Table 2). The effect of tree species identity on mass loss

strongly depended on region, habitat type, and anthropogenic management intensity (Table 2), indicating that the effect of tree species was affected by these environmental factors to varying degrees. Moreover, anthropogenic management intensity alone did not show a significant effect on mass loss (Table 2), nor the interaction of habitat type and management intensity (Table 2). In summary, the first model after single-term deletion had a prediction capacity of 65%, including the interactions (Supplementary Table 5).

Mass loss of all tree species was significantly higher in forest than in grassland habitats (Figure 2). The four gymnosperms *L. decidua*, *P. sylvestris*, *P. abies*, and *P. menziesii* had a much lower mass loss in grassland as well as in forest habitats than the majority of angiosperm trees (Figure 2 and Supplementary Table 4). In addition, *Q. robur* and *P. menziesii* had the lowest mass loss in forest and grassland habitats, respectively. In contrast, *A. platanoides* and *C. betulus* had the highest mass loss in grassland habitats, while *C. betulus*, *A. platanoides* and *B. pendula* had the highest mass loss in forest habitats.

Degree of mass loss in each habitat type is linked to region, plot specific and tree species-specific traits (model 2)

After reducing the variables following a model average procedure separately for each habitat, we investigated important

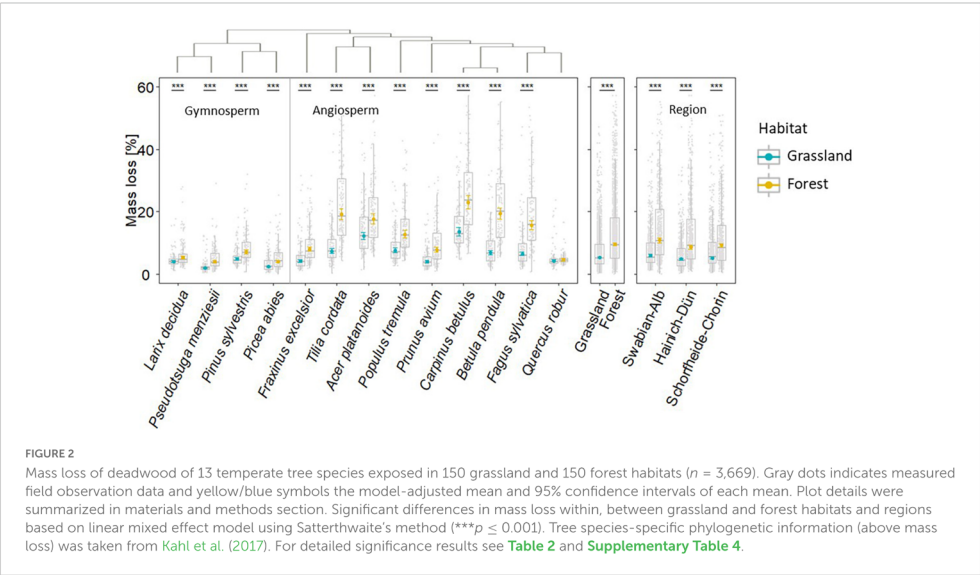


TABLE 2 Results of linear mixed effect model for regions (Schorfheide-Chorin, Swabian-Alb, and Hainich-Dün), habitat types (grassland and forest), management intensity (LUI, land use intensity index or ForMI, forest management intensity) and their interactions on the mass loss of deadwood from 13 temperate tree species (Model 1; $n = 3669$).

Factor	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)	Significance
Habitat type	71.19	71.193	1	293.4	270.0129	$<2.2 \times 10^{-16}$	***
LUI / ForMI	0.52	0.518	1	295.2	1.9660	0.16192	
Region	7.52	3.762	2	293.2	14.2680	1.22×10^{-6}	***
Tree species	1150.64	95.887	12	3318.5	363.6672	$<2.2 \times 10^{-16}$	***
Habitat type x LUI/ForMI	0.03	0.026	1	294.8	0.1001	0.751877	
Tree species x Habitat type	62.27	5.189	12	3318.6	19.6805	$<2.2 \times 10^{-16}$	***
Tree species x LUI/ForMI	7.41	0.617	12	3318.5	2.3408	0.005508	**
Tree species x Region	12.04	0.502	24	3318.7	1.9025	0.005082	**

ANOVA is based on Satterthwaite's method (Sum Sq, Sum of square; Mean Sq, Mean of square; Num DF, Numerator degrees of freedom; Den DF, Denominator degrees of freedom). The LUI and ForMI index was standardized for this purpose. Significance-values ≤ 0.05 are shown with *; Significance-values ≤ 0.01 are shown with **; and Significance-values ≤ 0.001 are shown with ***.

factors of regions, tree species-specific traits as well as plot-associated environmental factors (weather and edaphic conditions) as the main drivers of mass loss in both habitat types (Figures 3, 4). Based on $\Delta AIC < 2$ region, relative air humidity, soil pH, wood density and concentration of lignin, carbon, calcium, sulfur and phenol showed high importance in forests, whereas region, soil moisture, and concentration of lignin, carbon, calcium and sulfur were most important in grassland habitats (Figure 3 and Supplementary Figures 2–5). Based on the second model including these factors, mass loss was positively affected by the wood traits such as carbon, sulfur and calcium concentrations in a similar pattern for both habitat types (Figure 4 and Table 3). Moreover, high phenol

concentrations and wood density were positively associated with mass loss, but negatively with soil pH in forest habitats (Figure 4 and Table 3). In addition, mass loss was positively associated with soil moisture in grasslands and relative air humidity in forest habitats. In both habitat types, mass loss was negatively affected by lignin concentration, and was lower in the regions Hainich-Dün and Schorfheide-Chorin compared to Swabian-Alb. Mass loss in Hainich-Dün was higher than in Schorfheide-Chorin in grasslands, but lower in forests (Figures 2, 4 and Table 3). The final model had a predictive capacity of 62 and 61% for grassland and forest habitats, respectively (Supplementary Table 5).

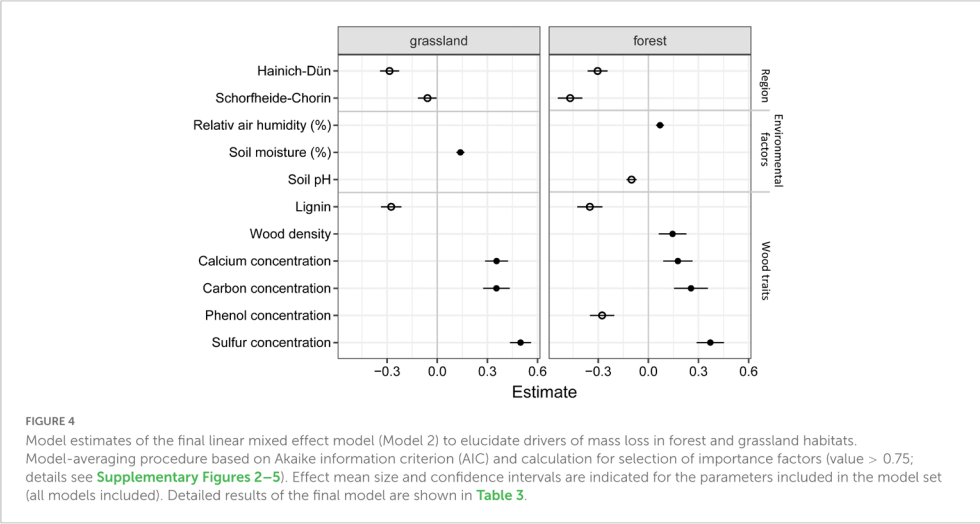
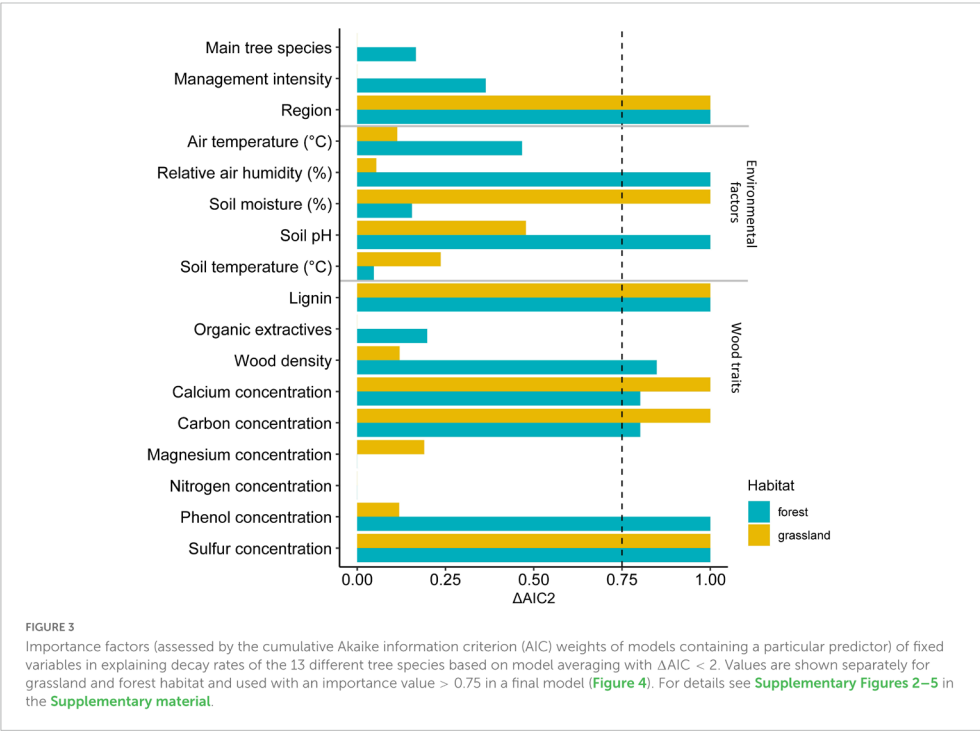


TABLE 3 Results of final models for importance variables of tree species traits, environmental factors and land-use intensity on mass loss (Model 2).

Forest						
Variable	Estimate	Standard error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
Region						
(Intercept)	2.516	0.08	12.56	33.32	1.23×10^{-13}	***
Hainich-Dün	−0.304	0.06	147.51	−5.11	9.67×10^{-7}	***
Schorfheide-Chorin	−0.468	0.07	146.58	−6.36	2.39×10^{-9}	***
Environmental factors						
Relative air humidity	0.070	0.02	146.92	2.96	0.0035	**
Soil pH	−0.100	0.03	147.52	−3.30	0.0012	**
Wood traits						
Lignin	−0.350	0.07	5.99	−4.65	0.0035	**
Wood density	0.145	0.08	6.00	1.75	0.1304	
Calcium concentration	0.177	0.09	6.00	2.00	0.0919	
Carbon concentration	0.255	0.10	6.00	2.52	0.0456	*
Phenol concentration	−0.277	0.07	6.00	−3.80	0.0090	**
Sulfur concentration	0.371	0.08	6.00	4.52	0.0040	**
Grassland						
Variable	Estimate	Standard error	Degree of freedom	T value	P value	Significance
Region						
(Intercept)	1.808	0.06	18.75	27.95	9.63×10^{-17}	***
Hainich-Dün	−0.286	0.06	145.01	−4.99	1.73×10^{-6}	***
Schorfheide-Chorin	−0.058	0.06	141.44	−1.03	0.3060	
Environmental factors						
Soil moisture	0.139	0.02	140.08	5.83	3.57×10^{-8}	***
Wood traits						
Lignin	−0.276	0.06	7.98	−4.518	0.0012	**
Calcium concentration	0.355	0.07	7.99	5.14	0.0009	***
Carbon concentration	0.354	0.08	7.99	4.47	0.0021	**
Sulfur concentration	0.498	0.06	7.98	7.91	4.83×10^{-5}	***

Analysis was performed separately for different habitats (150 grassland plots, 150 forest plots) containing deadwood specimens of 13 tree species (total: 1806 grassland plots and 1863 forest plots). Calculation of fixed effects based on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of all variables with an importance value > 0.75 (see [Supplementary Figures 2–5](#)).

Discussion

This study serves to investigate decomposition of enriched deadwood and validate reported drivers of mass loss by using a highly replicated experimental setting. The experiment was carried out in all three regions during the same time frame, so that seasonal cycle was similar for all samples. The results revealed, that the rate of enriched deadwood decay is most strongly affected by tree species due to different respective wood traits, regardless of habitat type, i.e., forest and grassland and region. In addition, mass loss is shaped by environmental factors differing between habitat type and region. In contrast, management intensity was less important for mass loss ([Table 2](#)). These findings indicate similar decomposing processes for enriched and naturally occurring deadwood

and support previous observational studies conducted in forest habitats. Furthermore, it shows their generalizability of processes across habitats and regions and thus contributes substantially to a better mechanistic understanding of the drivers of deadwood decomposition.

Globally, microbes are the key deadwood decay agents ([Lee et al., 2020](#)) and they are already partly present as endophytes in many tree species ([Magaudha et al., 2001](#); [Song et al., 2017](#); [Purahong et al., 2019](#)). Gamma sterilization was applied to all standardized deadwood specimens, which is a very effective treatment to inactivate all endophytes and other wood inhabiting organisms ([Sharman and Smith, 1970](#); [Freitag and Morrel, 1998](#)). Therefore, the decomposing substrates were only exposed to saprotrophic communities without any prior presence of endophytes. Cline and colleagues showed that the

effect of endophytes was more pronounced in the early stage of deadwood decay than in the late stage (Cline et al., 2018), indicating the priority effect of pivotal importance in the early stage of deadwood decay. Since our study addresses the early stages of decay, gamma radiation ensured a valuable method to establish equal initial conditions.

Early stage deadwood degradation was more efficient in forest than in grassland habitats (Figure 2 and Table 2), indicating that the functional guilds for deadwood decay were also present in grassland, but more abundant or with increased activity in forest habitats as described earlier in the same environments (Kaiser et al., 2016). According to the home-field advantage hypothesis tree species-specific decomposer communities were more frequent in forests with the same tree species identity than in forests of other tree species identities (Purahong et al., 2019), indicating that the presence and abundances also in forest habitats are unequally distributed. Moreover, a recent study revealed that these 13 tree species were mainly resource-specific colonized by a defined set of fungi and prokaryotes as revealed by bipartite interaction networks in forest habitats (Moll et al., 2021). The presence of specialized deadwood decaying fungi is of higher importance for deadwood decay than respective accompanying prokaryotic community compositions (Moll et al., 2021). Therefore, the colonization patterns of deadwood decomposing microorganisms are of pivotal importance for mass loss. While the effect of the deadwood decaying fungal communities during the conversion from forest habitats to grassland habitats by diebacks (Fukasawa et al., 2019) or after wildfires (Molinas-González et al., 2017) has been studied, knowledge on deadwood decay in grassland, which is less connected to the forest source of wood decomposing organisms, is so far scarce. Recently a study on the same Swabian-Alb plots showed that fungi were superior in the colonization of mineral grassland plots. These fungi were more efficient to incorporate dead root-derived carbon into their biomass compared to bacterial community members (Kandeler et al., 2019). Therefore, a broad diversity of fungal decomposing community members is also present in these grassland habitats but less productive in the deadwood decomposition. However, to assess these decomposing microorganisms exact relevance and productivity in grassland, further studies for phylogenetic identity and productivity are required.

The variance in deadwood mass loss within tree species across plots was much higher in the forest habitats than in the grassland habitats (Figure 2). As the experimental setting was similar for all sterilized deadwood specimens, this can be mainly attributed to plot-specific colonization patterns of deadwood decomposing microorganisms and their biotic interactions (Figure 4). Interestingly the variability in mass loss of gymnosperms was lower compared to angiosperms in both habitat types (except for *Q. robur*) (Figure 2), which is in line with the annual decay rate of similar wood logs exposed at the same plots (Kahl et al., 2017).

Besides, mass loss at the early decay stage showed region-based differences. The mean mass loss and estimated effect size were higher in both forest and grassland habitats of Swabian-Alb than those of Schorfheide-Chorin or Hainich-Dün, but was more similar to each other in grassland habitats (Figures 2, 4). Swabian-Alb had the highest precipitation rates, followed by Hainich-Dün and Schorfheide-Chorin leading to higher soil moisture and air humidity. As the region Schorfheide-Chorin is placed on sandy soils with moraines, the water holding capacity is lower compared to Hainich-Dün or Swabian-Alb. Soil moisture in grassland and air humidity in forest habitats were positive drivers of mass loss (Figure 4), which is in line with previous studies as increased moisture content had a linear or almost linear relationship to mass loss of deadwood (Kubartová et al., 2015; Zelinka et al., 2020). Moreover, increasing soil pH was a negative driver for mass loss in forest habitats, which was attributed in another study for leaching from phenolic compounds of silver fir and beech deadwood (Stutz et al., 2017).

Surprisingly, anthropogenic management intensity showed no effect in the early decay stages, neither overall nor separately for forest or grassland habitats (Figure 4 and Table 2). Because fresh wood is usually colonized by a large set of organisms and biodiversity is directly affected by management intensity (Bässler and Müller, 2010), we expected a biodiversity-based effect of management intensity. Moreover, the decomposition rate is strongly affected by microbial activity in the early stage of deadwood decay, which in turn depends on environmental factors (Kueppers and Harte, 2005). Therefore, even if the biodiversity was not changed in each plot an activity-based effect of management intensity was expected subordinate effect. It is possible, that these effects would be minimized by prior sterilization of the deadwood samples.

As tree species was an important driver of mass loss (Table 2), the majority of tree species-specific traits were also significantly correlated to mass loss (Figure 4 and Table 3), which was shown previously (Kahl et al., 2017). Lignin concentration was negatively correlated to mass loss in both habitat types (Figure 4), supporting early research on deadwood decomposition (Meentemeyer, 1978). Lignin is a recalcitrant carbon compound and requires specific enzymatic cleavage for its degradation, which is mainly produced by members of the division Basidiomycota (Janusz et al., 2017). Also, the quality of lignin addressed as phenol concentration was negatively correlated in forest habitats (Figure 4), which is in line with previous findings (Talbot et al., 2012; Kahl et al., 2017). In turn, carbon concentration was positively correlated to mass loss in both habitats (Figure 4). As deadwood decomposing communities gain their energy by carbon metabolism, a positive correlation to carbon concentration is evident. In the early stages of decomposition, readily degradable and accessible

carbon compounds are primarily degraded, promoting a positive correlation with total carbon concentration. Lignin, on the other hand, is degraded less rapidly and conversion rates are known to be low, explaining the opposite effects of lignin content on mass loss. In addition, other macronutrients such as sulfur and calcium also had a positive effect on mass loss. Sulfur and compounds like cysteine, sulfonates and sulfate are known to increase fungal mycelium growth and proliferation, which could support a higher decomposition rate (Schmalenberger et al., 2011; Kahl et al., 2017), but further information is required to fully understand the underlying processes. An increased calcium concentration contribute to enzyme activities and osmoregulation in microorganisms, indicating that these concentrations are rate-limiting for deadwood decay. As deadwood is composed of a large set of abiotic tree species-specific traits, single parameters can hardly be disentangled from each other. Additionally, mass loss in forest habitats correlated positively with wood density (Figure 4), as already found previously (Kahl et al., 2017; Hu et al., 2018). Such relationship between mass loss and high wood density changes during decomposition stages (Oberle et al., 2020). Since the higher mass loss in forest habitats is associated with advancing decomposition, the positive relationship with wood density could already be observed here, while nothing was yet visible in grassland. In general, mass loss was lower in grassland than in forest habitats, but was influenced by similar wood traits as well as environmental factors.

Conclusion

The paradigm that tree species-specific wood traits are of pivotal importance for decay and hence mass loss (Lee et al., 2020; Oberle et al., 2020) is supported and extended by our study to more tree species and more habitats, i.e., forest and grassland plots. Therefore, the generalized findings from forest habitats can also be used to predict mass loss in grassland habitats, which was to the best of our knowledge, not addressed in such a highly replicated study so far.

In addition, a detailed analysis of decomposition drivers revealed the same direction of influence factors for enriched deadwood compared to naturally occurring deadwood (Kahl et al., 2017). Environmental factors such as temperature and moisture and wood traits such as macronutrients were positively related to accelerated deadwood decay, while lignin and phenol were negatively related. Future research should clarify which microbial communities are able to colonize enriched deadwood to link phylogenetic identity to ecosystem service productivity, which will help predict future management strategies in a world with biodiversity loss and climate change.

Data availability statement

The original contributions presented in this study are included in the article/Supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author.

Author contributions

MN, NJ, HK, and TK conceived the ideas and designed methodology. FM, NJ, SM, and MN collected the data. LK, FM, and MG analysed the data. MN, LK, and MG led wrote the manuscript. WW contributed by additional funding and proofreading of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Funding

This work was funded by the DFG Priority Program 1374 “Infrastructure-Biodiversity-Exploratories” (grant numbers: NO 834/5-4 and JE 724/7-4).

Acknowledgments

We thank the managers of the three Exploratories, Kirsten Reichel-Jung, Katrin Lorenzen, Miriam Teuscher, and all former managers for their work in maintaining the plot and project infrastructure; Christiane Fischer and Jule Mangels for giving support through the central office, Michael Owonibi for managing the central data base, and Markus Fischer, Eduard Linsenmair, Dominik Hessenmöller, Daniel Prati, Ingo Schöning, François Buscot, Ernst-Detlef Schulze, and the late Elisabeth Kalko for their role in setting up the Biodiversity Exploratories project. We thank the administration of the Hainich national park, the UNESCO Biosphere Reserve Swabian-Alb and the UNESCO Biosphere Reserve Schorfheide-Chorin as well as all landowners for the excellent collaboration. Field work permits were issued by the responsible state environmental offices of Baden-Württemberg, Thüringen, and Brandenburg. We thank Björn Hoppe and Claus Bässler for fruitful discussions. For support by field work, sample preparation, and analysis we thank Rahel Bauer, Sophia Bender, Anna Danzberger, Jessy-Lee Fournes, Celina Gern, Carolin Gold, Viktoria Göbel, Christof Hartung, Christian Heby, Nicholas Holzschek, Maik Klaedtke, Ines Kleemeier, Viviane Kraus, Michael Langer, Gina-Marie Meyer, Sarah Neuroth, Debora Obergföll, Gülsan Önder, Nicola Pfeuffer, Maike Reimann, Roxana Röthing, Christoph Rudisch, Isabel Sandner, Henry Scheibel, Felix Schneider, Johanna Stenglein, Tessa Wolter, and Fabienne Zapf.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated

organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/ffgc.2022.1020737/full#supplementary-material>

References

- Ayres, E., Steltzer, H., Simmons, B. L., Simpson, R. T., Steinweg, J. M., Wallenstein, M. D., et al. (2009). Home-field advantage accelerates leaf litter decomposition in forests. *Soil Biol. Biochem.* 41, 606–610. doi: 10.1016/j.soilbio.2008.12.022
- Baber, K., Otto, P., Kahl, T., Gossner, M. M., Wirth, C., et al. (2016). Disentangling the effects of forest-stand type and dead-wood origin of the early successional stage on the diversity of wood-inhabiting fungi. *For. Ecol. Manag.* 377, 161–169. doi: 10.1016/j.foreco.2016.07.011
- Barton, K. (2020). *MuMIn: Multi-model inference. R package version 1.43.17*.
- Bässler, C., and Müller, J. (2010). Importance of natural disturbance for recovery of the rare polypore *Antrodia citrinella* Niemela & Rydén. *Fungal Biol.* 114, 129–133. doi: 10.1016/j.funbio.2009.11.001
- Blüthgen, N., Dormann, C. F., Prati, D., Klaus, V. H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., et al. (2012). A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. *Basic Appl. Ecol.* 13, 207–220. doi: 10.1016/j.baae.2012.04.001
- BME (2021). *The forests in Germany. Selected results of the third national inventory*. Available online at: https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/EN/Publications/german-forests.pdf?__blob=publicationFile&v=7 (accessed October 30, 2022).
- Bohn, U., Neuhaus, R., Gollub, G., Hettwer, C., Neuhaus, Z., Raus, T., et al. (eds) (2000). *Karte der natürlichen Vegetation Europas/map of the natural vegetation of Europe. Maßstab/scale 1: 2 500 000*. Münster: Landwirtschaftsverlag.
- Bradford, M. A., Warren, I. I. R. J., Baldrian, P., Crowther, T. W., Maynard, D. S., Oldfield, E. E., et al. (2014). Climate fails to predict wood decomposition at regional scales. *Nat. Clim. Change* 4, 625–630. doi: 10.1038/nclimate2251
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., and Huyvaert, K. P. (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: Some background, observations, and comparisons. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 23–35. doi: 10.1007/s00265-010-1029-6
- Carroll, G. (1988). Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69, 2–9. doi: 10.2307/1943154
- Centeri, C., Renes, H., Roth, M., Kruse, A., Eiter, S., Kapfer, J., et al. (2016). Wooded grasslands as part of the European agricultural heritage. *Biocult. Divers. Eur.* 5, 75–103. doi: 10.1007/978-3-319-26315-1_4
- Chambers, J. Q., Higuchi, N., Schimel, J. P., Ferreira, L. V., and Melack, J. M. (2000). Decomposition and carbon cycling of dead trees in tropical forests of the central Amazon. *Oecologia* 122, 380–388. doi: 10.1007/s004420050044
- Cline, L. C., Schilling, J. S., Menke, J., Groenhof, E., Kennedy, P. G., and Gallery, R. (2018). Ecological and functional effects of fungal endophytes on wood decomposition. *Funct. Ecol.* 32, 181–191. doi: 10.1111/1365-2435.12949
- Cornelissen, J. H., Sass-Klaassen, U., Poortler, L., Geffen, K. V., Logtestijn, R. S. P. V., Hal, J. V., et al. (2012). Controls on coarse wood decay in temperate tree species: Birth of the LOGLIFE experiment. *AMBIO* 41, 231–245. doi: 10.1007/s13280-012-0304-3
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H. C., Allison, S. D., Bauhus, J., Eggleton, P., Preston, C. M., et al. (2009). Plant traits and wood fates across the globe: Rotted, burned, or consumed? *Glob. Change Biol.* 15, 2431–2449. doi: 10.1111/j.1365-2486.2009.01916.x
- Criquet, S., Tagger, S., Vogt, G., and Le Petit, J. (2002). Endoglucanase and β -glycosidase activities in an evergreen oak litter: Annual variation and regulating factors. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1111–1120. doi: 10.1016/S0038-0717(02)00045-7
- Doerfler, I., Gossner, M. M., Müller, J., Seibold, S., and Weisser, W. W. (2018). Deadwood enrichment combining integrative and segregative conservation elements enhances biodiversity of multiple taxa in managed forests. *Biol. Conserv.* 228, 70–78. doi: 10.1016/j.biocon.2018.10.013
- Dossa, G. G., Paudel, E., Schaefer, D., Zhang, J.-L., Cao, K.-F., Xu, J.-C., et al. (2020). Quantifying the factors affecting wood decomposition across a tropical forest disturbance gradient. *For. Ecol. Manag.* 468:118166. doi: 10.1016/j.foreco.2020.118166
- Fengel, D., and Wegener, G. (2011). *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin: Walter de Gruyter.
- Feurdean, A., Ruprecht, E., Molnár, Z., Hutchinson, S. M., and Hickler, T. (2018). Biodiversity-rich European grasslands: Ancient, forgotten ecosystems. *Biol. Conserv.* 228, 224–232. doi: 10.1016/j.biocon.2018.09.022
- Fischer, M., Bossdorf, O., Gockel, S., Hänsel, F., Hemp, A., Hessenmöller, D., et al. (2010). Implementing large-scale and long-term functional biodiversity research: The biodiversity exploratories. *Basic Appl. Ecol.* 11, 473–485. doi: 10.1016/j.baae.2010.07.009
- Franklin, J. F., Shugart, H. H., and Harmon, M. E. (1987). Tree death as an ecological process. *BioScience* 37, 550–556. doi: 10.2307/1310665
- Freitag, C. M., and Morrel, J. J. (1998). Use of gamma radiation to eliminate fungi from wood. *For. Prod. J.* 48, 76–78.
- Freschet, G. T., Weedon, J. T., Aerts, R., van Hal, J. R., and Cornelissen, J. H. C. (2012). Interspecific differences in wood decay rates: Insights from a new short-term method to study long-term wood decomposition. *J. Ecol.* 100, 161–170. doi: 10.1111/j.1365-2745.2011.01896.x
- Fukasawa, Y., Ando, Y., Oishi, Y., Matsukura, K., Okano, K., Song, Z., et al. (2019). Effects of forest dieback on wood decay, saproxylic communities, and spruce seedling regeneration on coarse woody debris. *Fungal Ecol.* 41, 198–208. doi: 10.1016/j.funeco.2019.05.004
- George, B., Suttie, E., Merlin, A., and Deglise, X. (2005). Photodegradation and photostabilisation of wood – the state of the art. *Polym. Degrad. Stab.* 88, 268–274. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.10.018
- Grueber, C. E., Nakagawa, S., Laws, R. J., and Jamieson, I. G. (2011). Multimodel inference in ecology and evolution: Challenges and solutions. *J. Evol. Biol.* 24, 699–711. doi: 10.1111/j.1420-9101.2010.02210.x
- Harmon, M. E., Fasth, B. G., Yatskov, M., Kastendick, D., Rock, J., and Woodall, C. W. (2020). Release of coarse woody detritus-related carbon: A synthesis across forest biomes. *Carbon Balance Manag.* 15, 1–21. doi: 10.1186/s13021-019-0136-6
- Harmon, M. E., Franklin, J. F., Swanson, F. J., Sollins, P., Gregory, S. V., Lattin, J. D., et al. (1986). Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems. *Adv. Ecol. Res.* 15, 133–302. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60121-X
- Hu, Z., Michaletz, S. T., Johnson, D. J., McDowell, N. G., Huang, Z., Zhou, X., et al. (2018). Traits drive global wood decomposition rates more than climate. *Glob. Change Biol.* 24, 5259–5269. doi: 10.1111/gcb.14357

- Janisch, J. E., Harmon, M. E., Chen, H., Fasth, B., and Sexton, J. (2005). Decomposition of coarse woody debris originating by clearcutting of an old-growth conifer forest. *Écoscience* 12, 151–160. doi: 10.2980/i1195-6860-12-2-151.1
- Janusz, G., Pawlik, A., Sulej, J., Swiderska-Burek, U., Jarosz-Wilkolazka, A., and Paszczynski, A. (2017). Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 41, 941–962. doi: 10.1093/femsre/flux049
- Josefsson, S., Leonardsson, K., Gunnarsson, J. S., and Wiberg, K. (2010). Bioturbation-driven release of buried PCBs and PBDEs from different depths in contaminated sediments. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7456–7464. doi: 10.1021/es100615g
- Kahl, T., and Bauhus, J. (2014). An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. *Nat. Conserv.* 7, 15–27. doi: 10.3897/natureconservation.7.7281
- Kahl, T., Arnstadt, T., Baber, K., Bässler, C., Bauhus, J., Borken, W., et al. (2017). Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *For. Ecol. Manag.* 391, 86–95. doi: 10.1016/j.foreco.2017.02.012
- Kaiser, K., Wemheuer, B., Korolkow, V., Wemheuer, F., Nacke, H., Schöning, I., et al. (2016). Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. *Sci. Rep.* 6, 33696. doi: 10.1038/srep33696
- Kandeler, E., Gebala, A., Boeddinghaus, R. S., Müller, K., Rennert, T., Soares, M., et al. (2019). The mineralosphere—succession and physiology of bacteria and fungi colonising pristine minerals in grassland soils under different land-use intensities. *Soil Biol. Biochem.* 136:107534. doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107534
- Kipping, L., Gossner, M. M., Koschorreck, M., Muszynski, S., Maurer, F., Weisser, W. W., et al. (2022). Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats. *Glob. Biogeochem. Cycles* 36:e2021GB007143. doi: 10.1029/2021GB007143
- Kubartová, A., Ottosson, E., and Stenlid, J. (2015). Linking fungal communities to wood density loss after 12 years of log decay. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91:fv032. doi: 10.1093/femsec/fiv032
- Kueppers, L. M., and Harte, J. (2005). Subalpine forest carbon cycling: Short- and long-term influence of climate and species. *Ecol. Appl.* 15, 1984–1999. doi: 10.1890/04-1769
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., and Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed effects models. *J. Stat. Softw.* 82, 1–26. doi: 10.18637/jss.v082.i13
- Lasota, S., Stephan, I., Horn, M. A., Otto, W., and Noll, M. (2019). Copper in wood preservatives delayed wood decomposition and shifted soil fungal but not bacterial community composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 85, 1–13. doi: 10.1128/AEM.02391-18
- Lee, M. R., Oberle, B., Olivás, W., Young, D. F., and Zanne, A. E. (2020). Wood construction more strongly shapes deadwood microbial communities than spatial location over 5 years of decay. *Environ. Microbiol.* 22, 4702–4717. doi: 10.1111/1462-2920.15212
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., and Herve, M. (2018). *Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means*. R package Version, 1.1, 3.
- Lüdecke, D. (2020). sjPlot: Data visualization for statistics in social science. R Package Version, 2.1.
- Lüdecke, D., Makowski, D., Waggoner, P., and Patil, I. (2020). *Package 'performance': R package 0.7.1*.
- Magaudá, G., Adamo, M., and Rocchetti, F. (2001). Damage caused by destructive insects to cellulose previously subjected to gamma-ray irradiation and artificial ageing. *Restaurator* 22:41. doi: 10.1515/REST.2001.242
- Meentemeyer, V. (1978). Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. *Ecology* 59, 465–472. doi: 10.2307/1936576
- Molinas-González, C., Castro, J., and Leverkus, A. (2017). Deadwood decay in a burnt mediterranean pine reforestation. *Forests* 8:158. doi: 10.3390/f8050158
- Moll, J., Heintz-Buschart, A., Bässler, C., Hofrichter, M., Kellner, H., Buscot, F., et al. (2021). Amplicon sequencing-based bipartite network analysis confirms a high degree of specialization and modularity for fungi and prokaryotes in deadwood. *mSphere* 6, e856–e820. doi: 10.1128/mSphere.00856-20
- Moore, T. R., Trofymow, J. A., Taylor, B., Prescott, C., Camiré, C., Duschene, L., et al. (1999). Litter decomposition rates in Canadian forests. *Glob. Change Biol.* 5, 75–82. doi: 10.1046/j.1365-2486.1998.00224.x
- Muszynski, S., Maurer, F., Henjes, S., Horn, M. A., and Noll, M. (2021). Fungal and bacterial diversity patterns of two diversity levels retrieved from a late decaying *Fagus sylvatica* under two temperature regimes. *Front. Microbiol.* 11:151. doi: 10.3389/fmicb.2020.548793
- Myneni, R. B., Dong, J., Tucker, C. J., Kaufmann, R. K., Kauppi, P. E., Liski, J., et al. (2001). A large carbon sink in the woody biomass of Northern forests. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 14784–14789. doi: 10.1073/pnas.261555198
- Noll, M., Buettner, C., and Lasota, S. (2019). Copper containing wood preservatives shifted bacterial and fungal community compositions in pine sapwood in two field sites. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 142, 26–35. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.04.007
- Oberle, B., Lee, M. R., Myers, J. A., Osazuwa-Peters, O. L., Spasojevic, M. J., Walton, M. L., et al. (2020). Accurate forest projections require long-term wood decay experiments because plant trait effects change through time. *Glob. Change Biol.* 26, 864–875. doi: 10.1111/gcb.14873
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., et al. (2017). *Vegan: Community ecology package*. R Package Version 2.5-3.
- Parisi, F., Pioli, S., Lombardi, F., Fravolini, G., Marchetti, M., and Tognetti, R. (2018). Linking deadwood traits with saproxylic invertebrates and fungi in European forests—a review. *iForest* 11, 423–436. doi: 10.3832/ifor2670-011
- Pietsch, K. A., Eichenberg, D., Nadrowski, K., Bauhus, J., Buscot, F., Purahong, W., et al. (2019). Wood decomposition is more strongly controlled by temperature than by tree species and decomposer diversity in highly species rich subtropical forests. *Oikos* 128, 701–715. doi: 10.1111/oik.04879
- Pietsch, K. A., Ogle, K., Cornelissen, J. H. C., Cornwell, W. K., Bönisch, G., Craine, J. M., et al. (2014). Global relationship of wood and leaf litter decomposability: The role of functional traits within and across plant organs. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 23, 1046–1057. doi: 10.1111/geb.12172
- Purahong, W., Kahl, T., Krüger, D., Buscot, F., and Hoppe, B. (2019). Home-field advantage in wood decomposition is mainly mediated by fungal community shifts at “home” versus “away”. *Microb. Ecol.* 78, 725–736. doi: 10.1007/s00248-019-01374-6
- Ruokolainen, A., Shorohova, E., Penttälä, R., Kotkova, V., and Kushnevskaia, H. (2018). A continuum of dead wood with various habitat elements maintains the diversity of wood-inhabiting fungi in an old-growth boreal forest. *Eur. J. For. Res.* 137, 707–718. doi: 10.1007/s10342-018-1135-y
- Russell, M. B., Fraver, S., Aakala, T., Gove, J. H., Woodall, C. W., D’Amato, A. W., et al. (2015). Quantifying carbon stores and decomposition in dead wood: A review. *For. Ecol. Manag.* 350, 107–128. doi: 10.1016/j.foreco.2015.04.033
- Schmalenberger, A., Pritzkow, W., Ojeda, J. J., and Noll, M. (2011). Characterization of main sulfur source of wood-degrading basidiomycetes by S K-edge X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES). *Int. Biodeterior. Biodegradation* 65, 1215–1223. doi: 10.1016/j.ibiod.2011.08.013
- Seibold, S., Bässler, C., Brandl, R., Gossner, M. M., Thorn, S., Ulyshen, M. D., et al. (2015). Experimental studies of dead-wood biodiversity—A review identifying global gaps in knowledge. *Biol. Conserv.* 191, 139–149. doi: 10.1016/j.biocon.2015.06.006
- Sharman, C. V., and Smith, R. S. (1970). Gamma radiation sterilization of ponderosa pine and birch sapwood. *Wood Fiber Sci.* 1970, 134–143.
- Shorohova, E., and Kapitsa, E. (2014). Influence of the substrate and ecosystem attributes on the decomposition rates of coarse woody debris in European boreal forests. *For. Ecol. Manag.* 315, 173–184. doi: 10.1016/j.foreco.2013.12.025
- Smith, G. R., and Peay, K. G. (2021). Multiple distinct, scale-dependent links between fungi and decomposition. *Ecol. Lett.* 24, 1352–1362. doi: 10.1111/ele.13749
- Song, Z., Kennedy, P. G., Liew, F. J., Schilling, J. S., and Bennett, A. (2017). Fungal endophytes as priority colonizers initiating wood decomposition. *Funct. Ecol.* 31, 407–418. doi: 10.1111/1365-2435.12735
- Stutz, K. P., Dann, D., Wambsganss, J., Scherer-Lorenzen, M., and Lang, F. (2017). Phenolic matter from deadwood can impact forest soil properties. *Geoderma* 288, 204–212. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.11.014
- Tabachnick, B. G., and Fidell, L. S. (1996). *Using multivariate statistics*. New York, NY: Harper Collins.
- Talbot, J. M., Yelle, D. J., Nowick, J., and Treseder, K. K. (2012). Litter decay rates are determined by lignin chemistry. *Biogeochemistry* 108, 279–295. doi: 10.1007/s10533-011-9599-6
- R Core Team (2016). *R: A language and environment for statistical computing (Computer software manual)*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Kipping et al.

10.3389/ffgc.2022.1020737

Vera, F. W. M., Bakker, E. S., and Olff, H. (2006). Large herbivores: Missing partners of western European light-demanding tree and shrub species? *Conserv. Biol.* 11, 203–231. doi: 10.1017/CBO9780511617461.009

Vogel, S., Gossner, M. M., Mergner, U., Müller, J., and Thorn, S. (2020). Optimizing enrichment of deadwood for biodiversity by varying sun exposure and tree species: An experimental approach. *J. Appl. Ecol.* 57, 2075–2085. doi: 10.1111/1365-2664.13648

Weedon, J. T., Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H. C., Zanne, A. E., Wirth, C., and Coomes, D. A. (2009). Global meta-analysis of wood decomposition rates: A role for trait variation among tree species? *Ecol. Lett.* 12, 45–56. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01259.x

Wickham, H., Chang, W., and Wickham, M. H. (2016). *Ggplot2: Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. R package Version, 2.1*

Zanne, A. E., Oberle, B., Dunham, K. M., Milo, A. M., Walton, M. L., and Young, D. F. (2015). A deteriorating state of affairs: How endogenous and exogenous factors determine plant decay rates. *J. Ecol.* 103, 1421–1431. doi: 10.1111/1365-2745.12474

Zelinka, S. L., Kirker, G. T., Bishell, A. B., and Glass, S. V. (2020). Effects of wood moisture content and the level of acetylation on brown rot decay. *Forests* 11:299. doi: 10.3390/f11030299



Supplementary Material

Article Title: Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats

Lydia Kipping^{1,2,3} †, Florian Maurer² †, Martin M. Gossner^{4, 5}, Sarah Muszynski², Tiemo Kahl⁶, Harald Kellner⁷, Wolfgang Weiser⁸, Nico Jehmlich¹, Matthias Noll^{2, 3} *

¹Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ GmbH, Department of Molecular Systems Biology, Leipzig, Germany

²Coburg University of Applied Sciences and Arts, Institute for Bioanalysis, Coburg, Germany

³Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), University of Bayreuth, Bayreuth, Germany

⁴Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland

⁵Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, Zürich, Switzerland

⁶UNESCO Biosphere Reserve Thuringian Forest, Schmiedefeld am Rennsteig, Germany

⁷Department of Bio- and Environmental Sciences, International Institute Zittau, Technical University of Dresden, Zittau, Germany

⁸ Department of Ecology and Ecosystem Management, Technical University of Munich, Freising-Weihenstephan

*** Correspondence:**

Corresponding Author
matthias.noll@hs-coburg.de

† both authors contributed equally to this work.

1 Supplementary Data

Data Sets. Datasets are uploaded at “BExIS – Biodiversity Exploratories Information System” (www.bexis.uni-jena.de), and can be found by entering the Data Set ID in the webpage.

“PlotID” of Data Set 1 correspond to:

- “Plots” in Data Set 2
- “EP_Plot_ID” in Data Set 3
- “EP_PlotID” in Data Set 4
- “PlotID” in corresponding Publication of Data Set 5
- “EP_Plotid” in Data Set 6.

Data Set 1. ID 30908: Loss of wood mass for 3900 woodblocks from 13 different tree species decayed on Hainich, Swabian Alb & Schorfheide research plots of the BeshortDead - FunWood IV Project, 2017-2018

Data Set 2. ID 24766: Open Climate Data of the Exploratories Project (<https://www.bexis.uni-jena.de/sws/PublicClimateDataLink/Index>)

Data Set 3. ID 1000: Basic information and coordinates of field plots of the Biodiversity Exploratories project

Data Set 4.

For Bexis: ID 24646: ForMI dynamics – Forest Management Intensity Index Dynamics of all forest Eps

For publication: Kahl T, Bauhus J (2014) An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. *Nature Conservation-Bulgaria* 7 (7):15-27. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.7.7281>

Data Set 5.

For Bexis: ID 26487: Land use in grasslands: raw data of yearly owner interviews

For Publication: Vogt J, Klaus VH, Both S, Furstenau C, Gockel S, Gossner MM, Heinze J, Hemp A, Holzel N, Jung K, Kleinebecker T, Lauterbach R, Lorenzen K, Ostrowski A, Otto N, Prati D, Renner S, Schumacher U, Seibold S, Simons N, Steitz I, Teuscher M, Thiele J, Weithmann S, Wells K, Wiesner K, Ayasse M, Bluthgen N, Fischer M, Weisser WW (2019) Eleven years' data of grassland management in Germany. *Biodivers Data J* 7:e36387. <https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e36387>

Data Set 6. ID 22246: MinSoil 2017 - Soil pH.



2 Supplementary Figures and Tables

The supporting information includes additional results for the first model and second model based on linear mixed effects models:

- Interaction test of significance for the first model;
- Test of the predictive power for both models;
- Selection of important variables based on the multimodel inference approach for the second model

2.1 Supplementary Tables

Supplementary Table 1. Tree specific wood traits from the publication of Kahl et al. (2017).

Tree Species	Calcium µg/g	Carbon %	Lignin %	Magnesium µg/g	Mangan µg/g	Nitrogen %	Organic extractives %	Phenol %	Phosphorous µg/g	Potassium µg/g	Sulfur µg/g	Wood Density g/cm ³
<i>Acer</i>	2307.6	46	28.4	357	30.8	0.14	0.8	0.05	202.5	1569	172	9.6
<i>Betula</i>	1288.4	45.6	23.4	111	11.1	0.06	1.2	0.04	125.7	1034	120	10.3
<i>Carpinus</i>	1850.3	45.4	23.6	190	68.2	0.19	0.8	0.1	133.9	1350	160	12.2
<i>Fagus</i>	1017.3	45.8	26.9	291	96.3	0.12	0.5	0.03	93.6	1416	125	13.0
<i>Fraxinus</i>	726.1	46	26.6	206	4.9	0.12	1.88	0.17	85.5	1836	129	11.4
<i>Larix</i>	4411.3	45.1	28.4	202	26.6	0.19	1.4	0.1	145.9	343	47	10.0
<i>Picea</i>	1316.6	46.6	27.6	134	138.1	0.07	0.9	0.05	37.3	436	61	8.1
<i>Pinus</i>	916.5	48.3	28.7	141	94.9	0.03	7.2	0.05	25.5	330	43	8.9
<i>Populus</i>	1697.6	45.7	25.5	511	6.7	0.08	0.9	0.03	116.6	2213	126	7.7
<i>Prunus</i>	820.7	46	24	151	12.2	0.13	3.3	0.12	67.2	871	69	9.1
<i>Pseudotsuga</i>	282.7	46.6	28.8	27	65.9	0.05	1.7	0.1	37.4	435	49	8.7
<i>Quercus</i>	866.5	46.1	26.7	44	19.1	0.13	1.6	0.49	23	592	109	11.9
<i>Tilia</i>	949.6	46.8	23.1	206	131.8	0.13	2.8	0.04	68.2	686	74	8.9

Supplementary Table 2. Number of plots by collection for the different land use types in the grassland habitat in the three biodiversity exploratories separated by tree species.

		<i>Acer</i>	<i>Betula</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Fagus</i>	<i>Fraxinus</i>	<i>Larix</i>	<i>Picea</i>	<i>Pinus</i>	<i>Populus</i>	<i>Prunus</i>	<i>Pseudo- -tsuga</i>	<i>Quercus</i>	<i>Tilia</i>
Schorfheide- Chorin	Meadows													
	fertilized	7	7	7	6	6	7	7	7	7	7	5	7	7
	unfertilized	11	10	11	11	9	11	9	10	10	11	9	11	10
	Pastures													
	fertilized													
	unfertilized	22	21	22	21	21	20	20	20	20	21	22	22	21
	Mown pastures													
Hainich-Dün	fertilized	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3
	unfertilized	7	7	7	6	6	7	7	7	7	7	7	6	7
	Meadows													
	fertilized	7	7	7	6	6	4	6	7	6	7	7	6	6
	unfertilized													
	Pastures													
	fertilized	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2
Hainich-Dün	unfertilized	18	17	17	18	18	13	16	15	13	17	17	15	17
	Mown pastures													
	fertilized	13	12	13	14	14	12	11	14	13	12	13	11	11
	unfertilized	8	7	7	8	8	7	6	7	6	7	7	6	6

		<i>Acer</i>	<i>Betula</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Fagus</i>	<i>Fraxinus</i>	<i>Larix</i>	<i>Picea</i>	<i>Pinus</i>	<i>Populus</i>	<i>Prunus</i>	<i>Pseudo -tsuga</i>	<i>Quercus</i>	<i>Tilia</i>
Schwabian Alb	Meadows													
	fertilized	17	18	18	15	18	17	17	17	17	18	18	16	17
	unfertilized	3	4	4	3	4	4	4	3	4	3	4	3	4
	Pastures													
	fertilized	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	unfertilized	17	17	17	17	16	17	16	16	17	15	17	16	17
	Mown pastures													
	fertilized	8	9	9	8	9	9	7	7	9	9	9	9	9
	unfertilized													

Supplementary Table 3. Number of plots by collection for the different management intensity types in the forest habitat in the three biodiversity exploratories separated by tree species.

		<i>Acer</i>	<i>Betula</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Fagus</i>	<i>Fraxinus</i>	<i>Larix</i>	<i>Picea</i>	<i>Pinus</i>	<i>Popu- lus</i>	<i>Prunus</i>	<i>Pseudo -tsuga</i>	<i>Quercus</i>	<i>Tilia</i>
Schorfheide- Chorin	Unmanaged forest	5	5	5	5	4	5	5	5	4	5	3	5	5
	Age class forest													
	<i>Fagus</i> (Beech)	16	16	16	16	16	15	15	16	16	16	16	14	16
	<i>Quercus</i> (Oak)	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	<i>Picea</i> (Spruce)													
	<i>Pinus</i> (Pine)	22	22	22	22	22	22	22	21	22	22	22	21	22
	Selection forest (trees harvested selectively)													

		<i>Acer</i>	<i>Betula</i>	<i>Carpinus</i>	<i>Fagus</i>	<i>Fraxinus</i>	<i>Larix</i>	<i>Picea</i>	<i>Pinus</i>	<i>Populus</i>	<i>Prunus</i>	<i>Pseudo-tsuga</i>	<i>Quercus</i>	<i>Tilia</i>
Hainich-Dün	Unmanaged forest	13	13	13	12	13	13	12	12	13	12	12	13	13
	Age class forest													
	<i>Fagus</i> (Beech)	23	22	23	23	21	20	22	23	23	23	24	24	23
	<i>Quercus</i> (Oak)													
	<i>Picea</i> (Spruce)	4	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	4	4
	<i>Pinus</i> (Pine)													
Schwabian Alb	Selection forest (trees harvested selectively)	9	9	8	7	9	9	9	9	9	8	9	8	9
	Unmanaged forest	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Age class forest													
	<i>Fagus</i> (Beech)	30	30	33	27	31	31	28	28	31	32	33	33	32
	<i>Quercus</i> (Oak)													
	<i>Picea</i> (Spruce)	9	11	11	11	11	11	11	12	11	12	12	11	11
	<i>Pinus</i> (Pine)													
	Selection forest (trees harvested selectively)													



Supplementary Table 4. Model based test of mass loss between the habitats forest and grassland of deadwood separate by tree species identity (Model 1). Adjusted p-values and significances were calculated using Satterthwaite's method.

Tree species Identity	Ratio	SE	Df	Z ratio	P value	Significance
<i>Acer platanoides</i>	0.695	0.048	2525.9	-5.280	1.29×10^{-7}	***
<i>Betula pendula</i>	0.354	0.025	2550.3	-14.946	$<2 \times 10^{-16}$	***
<i>Carpinus betulus</i>	0.588	0.040	2475.4	-7.803	6.06×10^{-15}	***
<i>Fagus sylvatica</i>	0.418	0.029	2572.8	-12.521	$<2 \times 10^{-16}$	***
<i>Fraxinus excelsior</i>	0.521	0.036	2541.6	-9.412	$<2 \times 10^{-16}$	***
<i>Larix decidua</i>	0.766	0.054	2589.3	-3.811	0.0001	***
<i>Picea abies</i>	0.611	0.043	2635.4	-6.950	3.66×10^{-12}	***
<i>Pinus sylvestris</i>	0.672	0.047	2575.9	-5.701	1.19×10^{-8}	***
<i>Populus tremula</i>	0.597	0.042	2578.8	-7.385	1.52×10^{-13}	***
<i>Prunus avium</i>	0.508	0.035	2544.0	-9.765	$<2 \times 10^{-16}$	***
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	0.501	0.035	2532.3	-10.006	$<2 \times 10^{-16}$	***
<i>Quercus robur</i>	0.943	0.066	2562.5	-0.847	0.3971	n.s.
<i>Tilia cordata</i>	0.388	0.027	2528.3	-13.708	$<2 \times 10^{-16}$	***
Hainich- Dün	0.561	0.020	293.4	-16.439	$<2 \times 10^{-16}$	***
Schorfheide-Chorin	0.561	0.020	293.4	-16.439	$<2 \times 10^{-16}$	***
Swabian-Alb	0.561	0.020	293.4	-16.439	$<2 \times 10^{-16}$	***

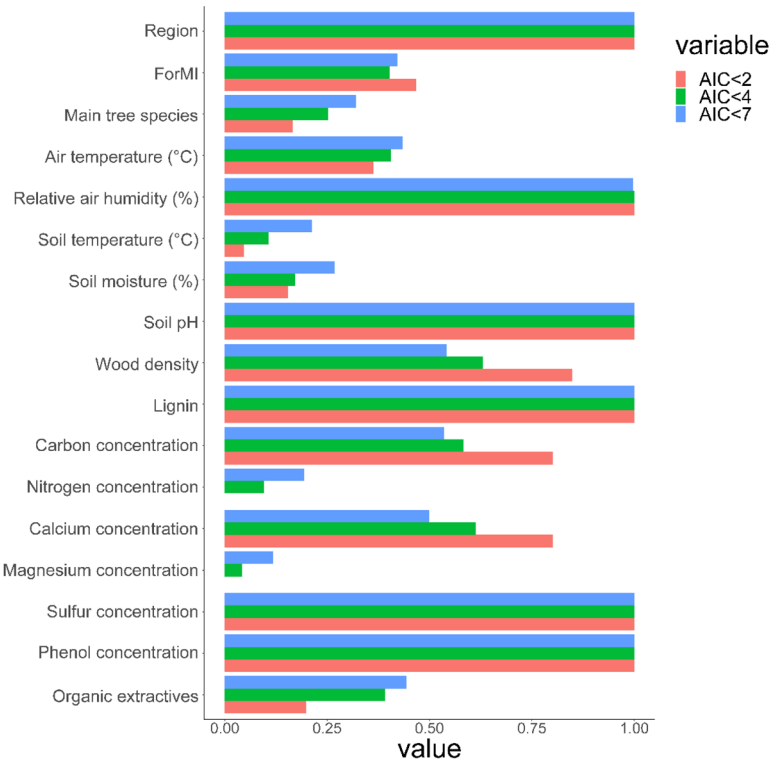
Supplementary Table 5. The predictive capacity of model 1 and 2 to describe our data by calculation of the R-squared (R^2). Conditional R^2 is related to both fixed and random factors and marginal R describes only fixed factors.

Main Model after single term deletion (Model 1)		
	Forest and Grassland combined	
Conditional R ²	0.651	
Marginal R ²	0.562	
Final Model (Model 2)		
	Forest	Grassland
Conditional R ²	0.612	0.624
Marginal R ²	0.495	0.476

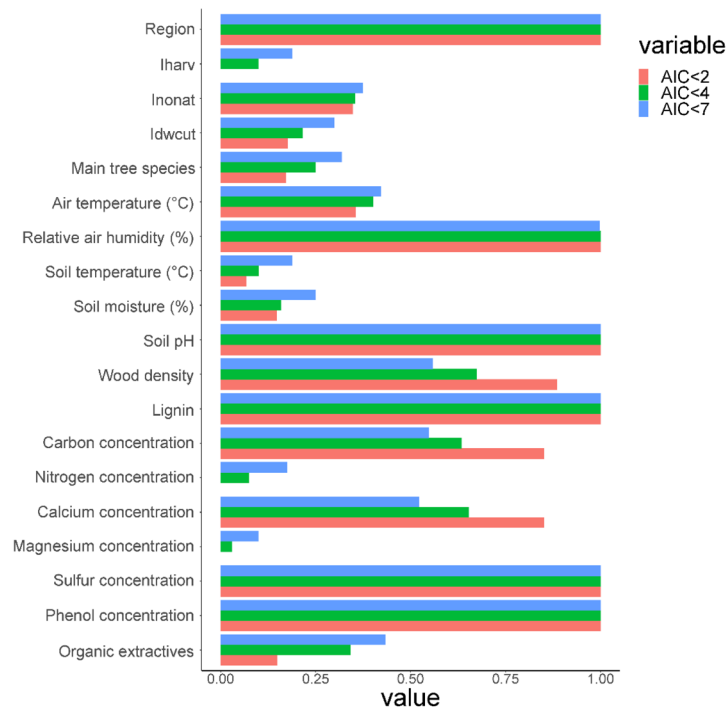
2.2 Supplementary Figures



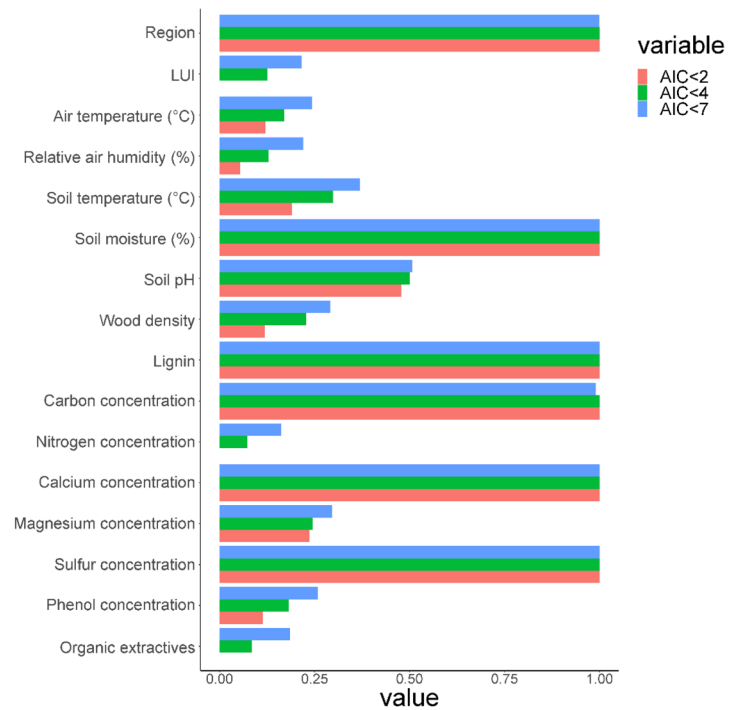
Supplementary Figure 1. Exposure (A, C) and recovery (B, D) of deadwood from 13 tree species in forest (A, B) and grassland (C, D) plots.



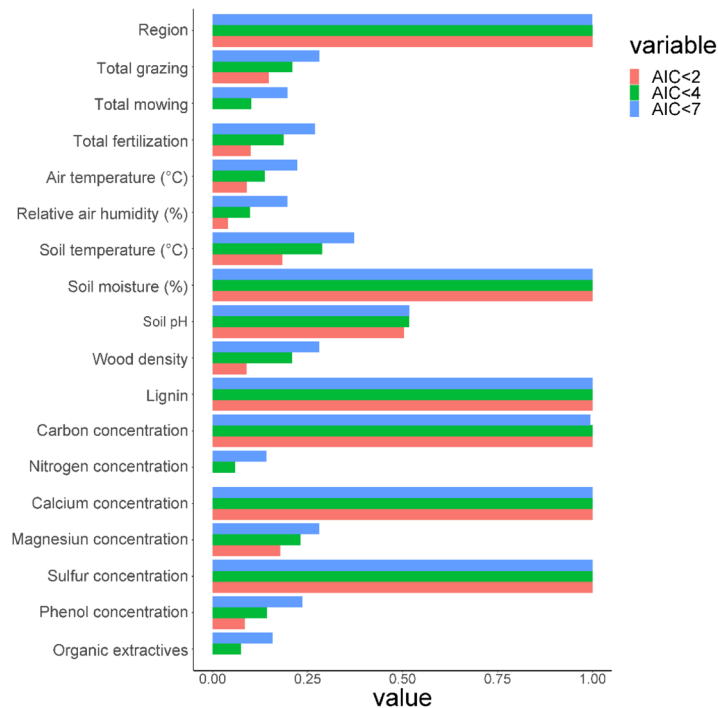
Supplementary Figure 2. Relative importance of independent variables for the best model of forest with combined forest management intensity (ForMI). Calculation based on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of variables with an importance value > 0.75 (Model 2). Definition of the ForMI index can be found by Kahl and Bahus (2014).



Supplementary Figure 3. Relative importance of independent variables for the best model of forest with single forest management intensity (ForMI) components; proportion of tree species that are not part of the natural community (Inonat), proportion of harvested wood volume (Iharv), proportion of deadwood wit saw cuts (Idwcut). Calculation based on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of variables with an importance value > 0.75 (Model 2). Definition of the ForMI index and its components can be found by Kahl and Bahuš (2014).



Supplementary Figure 4. Relative importance of independent variables for the best model of grassland with combined land use intensity (LUI). Calculation based on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of variables with an importance value > 0.75 (Model 2). Definition of the LUI index can be found by Blüthgen et al. (2012).



Supplementary Figure S5. Relative importance of independent variables for the best model of grassland with single land-use intensity (LUI) components; total grazing, total mowing and total fertilization. Calculation based on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of variables with an importance value > 0.75 (Model 2). Definition of the LUI index can be found by Blüthgen et al. (2012).

References

Blüthgen, N., Dormann, C. F., Prati, D., Klaus, V. H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., et al. (2012). A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. *Basic Appl. Ecol.* 13, 207–220. doi:10.1016/j.baae.2012.04.001

Kahl, T., Arnstadt, T., Baber, K., Bässler, C., Bauhus, J., Borken, W., et al. (2017). Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *Forest Ecology and Management* 391, 86–95. doi: 10.1016/j.foreco.2017.02.012

Kahl, T., and Bauhus, J. (2014). An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. *Nat. Conserv.* 7, 15–27. doi: 10.3897/natureconservation.7.7281

5.3 Publikation 2

Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats

Kipping L, Gossner MM, Koschorreck M, Muszynski S, Maurer F, Weisser WW, Jehmlich N, Noll M

Global Biogeochemical Cycles, 36. Jg., Nr. 5, S. e2021GB007143

DOI: <https://doi.org/10.1029/2021GB007143>

Eingegangen: 5. August 2021. Angenommen: 19. April 2022. Veröffentlicht: 25. April 2022.

MN, NJ und TK entwickelten die Ideen und entwarfen die Methodik; FM, NJ, SM und MN führten die Probensammlung durch; LK und MK übernahmen die Datenerhebung, während LK und MMG die Daten analysierten. MN, LK und MMG übernahmen die Hauptverantwortung für die Erstellung des Manuskripts. Alle Autoren trugen kritisch zu den Entwürfen bei und gaben die endgültige Freigabe zur Veröffentlichung.

© 2022. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



Global Biogeochemical Cycles

RESEARCH ARTICLE

10.1029/2021GB007143

Key Points:

- Tree species identity is an important driver of CO₂ and CH₄ emission rates
- CO₂ emission is two-thirds higher in forest compared to grassland habitats
- Forest management intensity decreased CO₂ emission rates, whereas CH₄ was only affected by single management components

Supporting Information:

Supporting Information may be found in the online version of this article.

Correspondence to:

M. Noll, N. Jehmlich, and M. M. Gossner,
matthias.noll@hs-coburg.de;
nico.jehmlich@ufz.de;
martin.gossner@wsl.ch

Citation:

Kipping, L., Gossner, M. M., Koschorreck, M., Muszynski, S., Maurer, F., Weisser, W. W., et al. (2022). Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats. *Global Biogeochemical Cycles*, 36, e2021GB007143. <https://doi.org/10.1029/2021GB007143>

Received 5 AUG 2021
 Accepted 19 APR 2022

Author Contributions:

Conceptualization: Lydia Kipping, Matthias Koschorreck, Wolfgang W. Weisser, Nico Jehmlich, Matthias Noll
Formal analysis: Martin M. Gossner
Funding acquisition: Matthias Koschorreck, Nico Jehmlich, Matthias Noll
Investigation: Lydia Kipping
Methodology: Lydia Kipping, Martin M. Gossner, Matthias Koschorreck, Sarah Muszynski, Florian Maurer, Nico Jehmlich, Matthias Noll

© 2022. The Authors.
 This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Emission of CO₂ and CH₄ From 13 Deadwood Tree Species Is Linked to Tree Species Identity and Management Intensity in Forest and Grassland Habitats

Lydia Kipping^{1,2,3} , Martin M. Gossner^{4,5} , Matthias Koschorreck⁶ , Sarah Muszynski², Florian Maurer², Wolfgang W. Weisser⁷ , Nico Jehmlich¹ , and Matthias Noll^{2,3}

¹Department of Molecular Systems Biology, Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ GmbH, Leipzig, Germany, ²Coburg University of Applied Sciences and Arts, Institute for Bioanalysis, Coburg, Germany, ³Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), University of Bayreuth, Bayreuth, Germany, ⁴Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland, ⁵Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, Zürich, Switzerland, ⁶Department of Lake Research, Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ GmbH, Magdeburg, Germany, ⁷Department of Ecology and Ecosystem Management, Technische Universität München, München, Germany

Abstract Deadwood is an important component of the global carbon cycle, and its decomposition releases carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄) into the atmosphere. However, the main drivers of these greenhouse gas emissions from deadwood are not well understood. We investigated drivers that govern the CO₂ and CH₄ emission rates of 793 deadwood specimens from 13 different tree species, which were exposed on 27 forest and 38 grassland plots at Schorheide-Chorin (Germany) for one year. Tree species identity was an important driver for emissions of both gases, whereas habitat type and management intensity were only important for CO₂ emission rate. CO₂ emission rates were positively linked to mass loss and were one-third higher in forest compared to grassland habitats. The wood traits organic extractives, lignin, and sulfur content were negatively associated with CO₂ emission rates, whereas carbon, nitrogen, and magnesium content showed the opposite effect. Among climate variables, air humidity in forest and soil moisture in grassland habitats positively affected CO₂ emission rates. CH₄ emission rates showed a negative relationship with increasing wood density exposed in both habitat types but were positively related to tree species with higher sulfur contents. Taken together, CO₂ emission rates from deadwood were well predicted by wood traits, management intensity and climatic variables, whereas CH₄ emission rates were less well predictable and were influenced only by wood traits that differed from those of CO₂ emissions. Our results provide a deeper insight into the mineralization processes of deadwood and should be considered in further carbon cycle assessments.

Plain Language Summary Living trees are an essential reservoir for carbon storage. While the process of photosynthesis describes the ability of plants to fix atmospheric carbon, the decomposition of deadwood is the first stage of recycling this nutrient. Aerobic decomposition of deadwood is mainly carried out by specialized fungi that release carbon into the atmosphere during their respiration processes. Most microorganisms require oxygen to utilize deadwood and form carbon dioxide during respiration. In addition, archaea can respire carbon dioxide in the absence of oxygen, which leads to methane production. In our study, we determined the gas emission rates of carbon dioxide and methane for 13 tree species and investigated the influence of regional climate and habitat conditions and types (grassland and forest). The emission rates of carbon dioxide and methane largely differed among tree species, which probably depended on their wood traits. Both gas emission rates were higher under humidity, while higher temperatures increased only carbon dioxide emission rates. Methane emission rates were independent of habitat conditions, while carbon dioxide in forest habitats were higher and influenced by naturally existing tree species. Our results improve future assessment of the impact of deadwood on the global carbon cycle.

1. Introduction

Forests are one of the largest reservoirs of carbon (C) and are of eminent importance to the global terrestrial C cycle. The total global forest C stock is 861 Pg, of which 44% is stored in soil, 42% in above- and belowground biomass, 8% in deadwood, and 5% in litter (Pan et al., 2011). Intact forests are a C net sink because C sequestration

Project Administration: Martin M. Gossner, Matthias Koschorreck, Nico Jehmlich, Matthias Noll

Resources: Wolfgang W. Weisser

Supervision: Matthias Koschorreck, Matthias Noll

Validation: Martin M. Gossner

Visualization: Lydia Kipping, Martin M. Gossner

Writing – original draft: Lydia Kipping, Martin M. Gossner, Matthias Koschorreck, Nico Jehmlich, Matthias Noll

Writing – review & editing: Lydia Kipping, Martin M. Gossner, Matthias Koschorreck, Sarah Muszynski, Florian Maurer, Wolfgang W. Weisser, Nico Jehmlich, Matthias Noll

(e.g., by photosynthesis) is more prominent compared to forest ecosystem respiration (Luyssaert et al., 2007). The latter is based on autotrophic respiration by living matter such as trees or heterotrophic respiration by microorganisms, as well as biological transformation processes (Magnússon et al., 2016; Yoon et al., 2015). Heterotrophic respiration is caused by a variety of decomposition processes that, in addition to carbon dioxide (CO₂) emission into the atmosphere, lead to C transformation and partly to C storage in soils (Cornwell et al., 2009; Harmon & Franklin, 1989; Russell et al., 2015).

Deadwood decomposition occurs through biological transformation, physical fragmentation, and leaching processes (Harmon et al., 1986; Magnússon et al., 2016), all of which cause mass loss. Such mass loss is the result of decomposition over time and reflects the overall ecosystem service of deadwood decomposition (Russell et al., 2015). To compare mass loss after exposure time with the current decomposition rate from deadwood, CO₂ emission rates were measured (Kahl et al., 2015). Studies of deadwood emission rates have focused primarily on CO₂ emissions and less attention has been paid to methane (CH₄) emissions (Covey & Megonigal, 2019). Interestingly, two different studies observed a positive correlation of both gas emission rates during decomposition indicating deadwood as a biological source for CH₄ emission (Mukhin & Voronin, 2009; Mukhortova et al., 2021). CH₄ emission rates from deadwood can originate from anaerobic microbial decomposition by methanogens (Covey et al., 2012; Hietala et al., 2015) and are attributed to oxygen-depleted habitat conditions, which can be found in the inner parts of wood. As deadwood can act as a net source or net sink of CH₄ (Warner et al., 2017), the overall link to biotic and abiotic variables during decomposition processes is important to understand but is still unclear.

CO₂ and CH₄ emission rates of deadwood from forest habitats are affected by tree species identity (Kahl et al., 2015; Warner et al., 2017) and the present microbial community composition (Kahl et al., 2015). Such microbial composition patterns change successively during decomposition processes (Hu et al., 2017; Valentín et al., 2014), with their activity promoted by higher macronutrients, low lignin and extractive contents (Kahl et al., 2017), and facilitated by increasing temperature and moisture (Herrmann & Bauhus, 2013; Mukhortova et al., 2021). For CO₂ emission rates, the importance of temperature was shown to increase in the mid-stage of decomposition (Gough et al., 2007; Ohtsuka et al., 2014; Russell et al., 2014). In addition, higher deadwood moisture and rainfall led to increased CO₂ emission rates (Herrmann & Bauhus, 2013; Hu et al., 2020) and decomposition rates as long as the wood moisture content was between 20% and 80% (vol./vol.; Cornelissen et al., 2012). Effects of temperature and moisture on CH₄ emission from decomposing organisms were so far mostly estimated in soil (Tang et al., 2017; Zhang et al., 2020). A recent study about the decomposition of birch (*betula*) and larch (*larix*) showed that CH₄ production and consumption are moisture and temperature dependent (Mukhortova et al., 2021). When air temperature rises above 15°C in the early decay stage then deadwood act as a CH₄ source (Mukhortova et al., 2021). In addition, soil contact accelerated deadwood decomposition, leading to increased CO₂ emission as well as a shift to CH₄ production (Oberle et al., 2018).

Land use and forest management have been shown to have a significant impact on biodiversity patterns and ecosystem processes (Felipe-Lucia et al., 2020; Gossner et al., 2014). In particular, declining microbial species richness in response to habitat loss resulted in decreased microbial activity and thus decreased rates of deadwood decomposition (Tomao et al., 2020; Young et al., 2005). In turn, CO₂ emission rates were shown to be directly correlated with fungal and bacterial richness (Pastorelli et al., 2021), which are influenced by different management strategies. The factors that govern respiration processes from deadwood decomposition are not fully understood and the majority of existing studies focus on forest environments with closed canopies or old-growth forests with high levels of deadwood (Harmon et al., 2020).

A few studies in tropical regions have examined wood decomposition under open canopies or open land (Dossa et al., 2020; Harmon et al., 2020), characterized by warmer and drier conditions, which increases the decomposition rates. On the other hand, opening canopies might dry and heat deadwood to a point, which inhibits microbial activities and leads to reduced decomposition rates (Erickson et al., 1985). For temperate regions, canopy openness leads to decreasing moisture and increasing temperature, which is mostly beneficial to overall diversity and resulting in a saproxylic community that is distinct from more shaded conditions (Seibold et al., 2016; Vogel et al., 2020). In addition, Smith and Peay (2021) showed a shift and decrease in decomposing fungi with a forest to shrubland gradient. As deforestation has led to an increased grassland area in temperate regions (Hoekstra et al., 2005), these habitats coming into focus. Isolated trees or groups of trees in European and North American grasslands are common to provide shelter and food for livestock. Pasture trees were historically nut-bearing

species such as *Quercus*, *Fagus*, and *Castanea*, or fleshy-fruited species such as *Pyrus* in silvopastoral systems that combine animal pasturing with fruit production (Hartel et al., 2013). Such trees in open environments spread laterally in response to light availability, resulting in large individuals that periodically lose deadwood, mainly by falling branches. However, the abundance of deadwood and deadwood decomposing organisms is much lower in grasslands compared to forests, and predictions about the impact on the terrestrial C cycle are so far scarce.

To gain a better understanding of the main drivers of CO₂ and CH₄ emission rates from deadwood mineralization in the early stage of decay, we placed deadwood specimens of standardized size and surface area-to-volume ratio (SA/V) in forest and grassland habitats along gradients of management intensities. Prior to infield exposure, specimens were gamma-sterilized to exclude wood-inhabiting decaying organisms, as these have been shown to affect deadwood decomposition in the early stages. Accordingly, the specimens could only be colonized by the local, plot-specific microbial communities, emphasizing the environmental characteristics and anthropogenic management regime from the respective plot.

This study addresses five a priori hypotheses (I) CO₂ emission rates are higher in forest compared to grassland habitats (II) management intensity, higher temperatures and higher moisture conditions of the environmental plots facilitate CO₂ emission rates in both habitat types (III) CO₂ emission rates are affected by tree species identity and their wood traits, with lignin and organic extractive in particular having negative effects, and macronutrients having positive effects on emission rates (IV) deadwood is an important source of CH₄ emission which is linked to tree species, temperature and moisture, while habitat type and management intensity are less important, and finally (V) CO₂ emission rates better reflect the cumulative mass loss of the respective tree species than CH₄ emission rates.

2. Materials and Methods

2.1. Study Area and Sample Exposure

This study was performed within the large-scale and long-term project “Biodiversity Exploratories” (www.biodiversity-exploratories.de) which investigates the relationship between management intensity, biodiversity and ecosystem processes in Germany (Fischer et al., 2010). It comprises a hierarchical set of standardized field plots in different regions covering a variety of management types and intensities in grassland and forest habitats. In this study, we focused on the UNESCO Biosphere Reserve Schorfheide-Chorin, as one of the “Exploratories”, which is located in North-Eastern Germany (52°47′25″–53°13′26″N/13°23′27″–14°08′53″E) and covers an area of 1,300 km², characterized by outwash plains as well as hilly ground and terminal moraines with numerous lakes, an altitude of 3–140 m a.s.l., mean annual precipitation of 500–600 mm, and mean annual temperature from 8 to 8.5°C (Fischer et al., 2010).

All deadwood specimens (50 [longitudinal] × 25 × 15 mm) with the same surface area to volume were made from the outer part of the same corresponding tree (e.g., sapwood) without bark and were gamma sterilized at 25 kGy (Synergy Health GmbH, Radeberg, Germany) to eradicate potential endophytes as previously explained (Jakobs-Schönwandt et al., 2010; Muszynski et al., 2021). All deadwood specimens of one tree species originated from the same tree trunk. Thereafter each deadwood specimen was kiln dried, weighted to determine the initial mass and labeled by pencil for assignment before and after exposure. In May 2017, 845 deadwood specimens were exposed on 38 grassland and 27 forest plots in Schorfheide-Chorin, well-spread across the spatial distribution of the habitats within the region. Two deadwood specimens for each tree species were placed aboveground on each plot that the transverse surfaces were exposed to both air and soil.

2.2. Sampling of Wood Specimen and Preparing for Gas Analysis

After exposure in the field from May 2017 to late June/early July 2018 (370 days of exposure), deadwood specimens were collected and transported to the laboratory. In total, 793 pairs were unambiguously assigned to 13 tree species including nine angiosperms: *Acer platanoides* ($n_{\text{grassland}} = 36$, $n_{\text{forest}} = 26$), *Betula pendula* ($n_{\text{grassland}} = 34$, $n_{\text{forest}} = 26$), *Carpinus betulus* ($n_{\text{grassland}} = 37$, $n_{\text{forest}} = 26$), *Fagus sylvatica* ($n_{\text{grassland}} = 34$, $n_{\text{forest}} = 26$), *Fraxinus excelsior* ($n_{\text{grassland}} = 35$, $n_{\text{forest}} = 27$), *Populus tremula* ($n_{\text{grassland}} = 36$, $n_{\text{forest}} = 27$), *Prunus avium* ($n_{\text{grassland}} = 36$, $n_{\text{forest}} = 27$), and *Quercus robur* ($n_{\text{grassland}} = 37$, $n_{\text{forest}} = 26$), *Tilia cordata* ($n_{\text{grassland}} = 38$, $n_{\text{forest}} = 27$) and four

gymnosperms: *Larix decidua* ($n_{\text{grassland}} = 38$, $n_{\text{forest}} = 27$), *Picea abies* ($n_{\text{grassland}} = 35$, $n_{\text{forest}} = 27$), *Pinus sylvestris* ($n_{\text{grassland}} = 38$, $n_{\text{forest}} = 25$), and *Pseudotsuga menziesii* ($n_{\text{grassland}} = 38$, $n_{\text{forest}} = 27$).

One deadwood specimen was cut in half to transfer it into a 100 mL glass vial with a septum cap and gastight closed. After an incubation of 90 min at room temperature, 2 mL of the headspace were transferred twice by a gastight syringe (Syringe 1,000, removable needle, Hamilton, Bonaduz, Switzerland) into an evacuated 3 mL vial (Exetainer®, Labco, Lampeter, United Kingdom). The vials were stored at room temperature until gas analyses. Our procedure was cross-checked before the sampling campaign with similar deadwood specimen and 100 mL reaction volume by gas flux measurements (Licor 8100-A) as explained earlier (Knohl et al., 2003), which did not indicate saturation during the 90 min. incubation period. Since gas emission rates were measured at a single time point, we selected a standardized incubation temperature to answer the question of how exposure over 1 year under different conditions affects instantaneous emission rates. In addition, the standardized temperature compensates for variable temperatures at the collection time due to a large number of samples and exploratory size. The average temperature on collection days was 18.7°C with a maximum of 24.8°C throughout the day. Therefore, we selected room temperature, which in some cases could underestimate the results.

The second deadwood specimen from the same plot and tree species was dried for over 48 hr in a climatic chamber (103°C) and then placed in a desiccator until the weight of each specimen was determined. The percentage mass loss was determined by dividing the dry weight after exposure from the initial dry weight from each wood specimen.

2.3. Gas Analysis

CO₂ and CH₄ mixing ratios in the gas samples were simultaneously analyzed by using a gas chromatograph (8610C, SRI Instruments, Torrance, USA) with a flame ionization detector (Tabachnick & Fidell) coupled to a methanizer catalyst as explained in detail by Koschorreck et al. (2008). Briefly, a stainless steel packed column, HayeSepD was used for separating the gaseous components. The temperature of the column oven was kept constant at 50°C, while the temperature of the methanizer and detector was kept at 380°C. Nitrogen gas with a flow rate of 1.5 mL min⁻¹ was used as carrier gas. The sample pressure was adjusted to the atmospheric pressure and 300 µL gas sample was injected. The gas analysis was calibrated with a certified gas mixture (10 ppm CH₄, 1,000 ppm CO₂, Nippon Gases). The mixing ratios of CO₂ and CH₄ were computed using the software PeakSimple (SRI instruments, Torrance, USA) and fitted to the following equation:

$$E = \left(\frac{d_{t-90}(\text{CO}_2 \text{ or } \text{CH}_4)}{t} \right) \left(\frac{V}{m_{\text{sample}}} \right) \frac{P}{(R(T + 273.15))}$$

The emission rate E represents the CO₂ or CH₄ concentration after an incubation time (t) of 90 min compared to the initial atmospheric concentration, was extrapolated to the total volume (V ; 100 mL vial minus initial specimen volume) and divided by the mass of associated deadwood specimen (m_{sample}). P is the atmospheric pressure (101,325 kg m⁻¹ s⁻²), R is the ideal gas law constant (8.31447 kg m² mol⁻¹ K⁻¹ s⁻²), T is the incubation temperature (20°C), and 273.15 is the conversion factor from Celsius to Kelvin.

2.4. Environmental Variables, Management Intensities, and Wood Properties

Environmental variables such as relative air humidity (% vol/vol) at 2 m above ground, soil moisture (% wt/wt) at 10 cm below surface, air temperature (°C) at 10 cm above surface, soil temperature (°C) at 10 cm below surface and soil pH were collected by the Biodiversity Exploratories for each plot during the exposed year as previously described (Hänsel et al., 2019). The average values were calculated for each variable and used in further statistical analyses.

The management intensities, land use intensities in grassland and forest management intensities (Blüthgen et al., 2012; Kahl & Bauhus, 2014) were included as drivers in subsequent analyses (Supplementary Table S1 in Supporting Information S1). Briefly, forest management intensity index (ForMI) was defined as the sum of three components including the proportion of living wood volume consisting of tree species non-natural to the sites (Inonat), the proportion of harvested wood volume (Iharv), and the proportion of deadwood volume with saw cuts (Idwcut; Kahl & Bauhus, 2014). The land use intensity index (LUI) of grassland plots (Vogt et al., 2019)

was defined as the sum of three components including mowing, grazing, and fertilisation activities according to Blüthgen et al. (2012).

In addition, wood properties of each of the 13 tree species were used as additional drivers based on literature data (Kahl et al., 2017), which calculated the average value per tree species (Supplementary Table S2 in Supporting Information S1). We used lignin, phenol, organic extractives, wood density, and the content of sulfur, nitrogen, carbon, calcium and magnesium of each tree species, as their relevance in wood decomposition has already been shown (Kahl et al., 2017).

2.5. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted in *R* v4.0.2 (Team, 2016). In a first approach (main model), we tested whether CO₂ and CH₄ emission of wood specimens depend on habitat type (forest vs. grassland; hypothesis 1, 4), management intensity (hypothesis 2) and tree species (hypothesis 3, 4) by conducting linear mixed effects models using the lmer function in lmerTest package (Kuznetsova et al., 2017). Either log CO₂ or log CH₄ was used as response variables, tree species, habitat type and management intensity and their interaction as fixed factors and PlotID as random factor. Type III analysis of variance (anova) with p-values for F-tests after single term deletions (drop1 function) using Satterthwaite's method were carried out. Management intensity values in forest and grassland plots were normalized within each habitat type to achieve comparable scales. Continuous variables were standardized (scaled to zero mean and unit variance) using the decostand function in the vegan package (Oksanen et al., 2019). Additionally, the main model results of CO₂ and CH₄ emission rates were displayed separately by tree species and habitat type (grassland and forest). The adjusted model-predicted mean and 95% confidence interval were generated in the package emmeans (Lenth et al., 2018) and illustrated together with the field observation data displayed as boxplots using the *R* package ggplot2 (Wickham et al., 2016). Corresponding significance was tested using emmeans function and based on Satterthwaite's method.

In a second approach (trait model), we evaluated the importance of tree species traits, environmental variables and management intensities for CO₂ and CH₄ emissions separately by habitat type (hypotheses 2, 3 and 4). To avoid multicollinearity, we first evaluated the Spearman correlations among all variables and excluded one of each variable pair with a correlation >0.7 as introduced earlier (Tabachnick & Fidell, 1996). This resulted in two analyses; one with combined management intensities (either ForMI or LUI) and another one with its components: ForMI (lharv, lnonat, ldwcut) or LUI (grazing, mowing, fertilization). The variables wood density, carbon, sulfur, calcium, magnesium, nitrogen, phenol, lignin, soil pH, relative air humidity, soil moisture, air temperature, and soil temperature were used as additional drivers. Subsequently, we applied a multimodel inference approach (Grueber et al., 2011) based on a global model (lmer) including all selected and standardized (see above) fixed variables with either log CO₂ or log CH₄ as dependent variables and PlotID and tree species identity as random effect. Therefore, we used the dredge function based on AICc (small-sample-size corrected version of Akaike information criterion) in the *R* package MuMIn (Barton & Barton, 2015). We subsequently selected the important variables based on models with delta AIC <2 (substantial support), AIC <4 and AIC <7 (some support) as suggested by Burnham et al. (2011) (Burnham et al., 2011) using the get.models function. The relative importance of each independent variable was assessed by calculating the cumulative Akaike weights of models containing a particular predictor. Next, we used all variables with an Importance value >0.75 in a final trait model with a model structure consistent with the global model (Supplementary Figures S1–S4 in Supporting Information S1). The standardized model estimates of the fixed effects were plotted using the package sjPlot (Lüdtke, 2018). To compute the predictive power of both models the marginal and conditional *r*-squared values were calculated using r2_nakagawa function in the performance package (Lüdtke et al., 2020). To address the potential issue of multicollinearity, we checked our final trait model for multicollinearity by using the collinearity function in the performance package. Variance inflation factor was below 10 in all cases indicating low correlation.

In addition, CO₂ and CH₄ emission rates, which represented a current measurement of decomposition rates, were correlated with mass loss as a result of overall deadwood decomposition over time (hypothesis 5). To visualize this relationship within and between tree species identity, we used ggscatter function in the ggpubr package (Kassambara, 2018). Tests for linear relationships were based on spearman correlation and performed using stat_cor function.

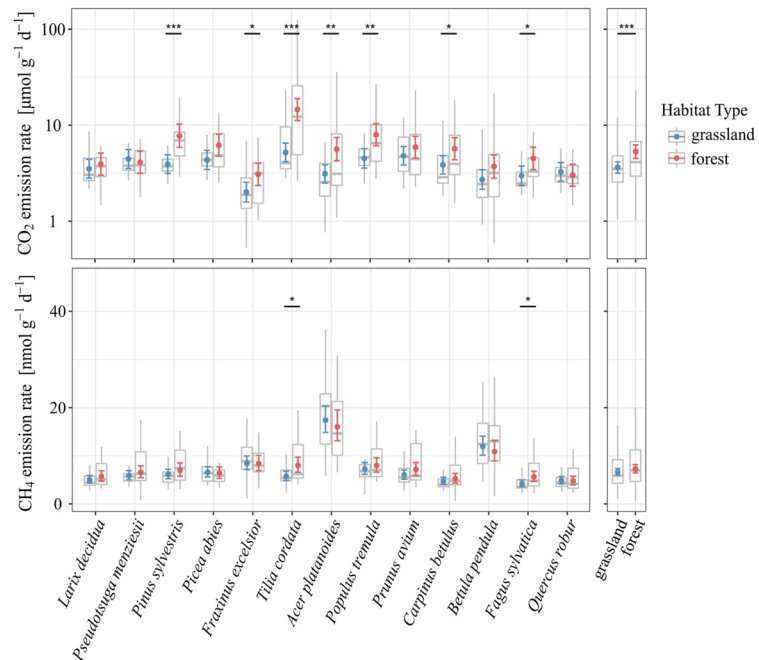


Figure 1. Carbon dioxide (CO_2) and methane (CH_4) emission rates of deadwood for 13 tree species exposed in different habitats ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). Gray boxplots represent the field observation data. Circles and error bars are the mean and 95% confidence intervals of each mean predicted by the main model and illustrated separately for grassland (blue) and forest (red). Significant differences within and between grassland and forest sites are indicated and based on the linear mixed effect model using Satterthwaite's method (Table 1, Supplement Table S3 in Supporting Information S1). Significance values ≤ 0.05 are shown with *; Significance values ≤ 0.01 are shown with **; Significance values ≤ 0.001 are shown with ***.

3. Results

3.1. Effects of Tree Species, Habitat Type and Management Intensity on CO_2 and CH_4 Emission Rates

All sterilized deadwood specimens emitted both CO_2 and CH_4 (Figure 1). Average emission rates of CO_2 were about one order of magnitude higher than the average CH_4 emission rates. Emission rates for both gases varied strongly among the 13 tree species and between habitat types (Table 1). Average CO_2 emission rates were significantly higher for specimens exposed to forest than for specimens in grassland habitats, which was not found for CH_4 emission rates (Figure 1, Supplementary Table S3 in Supporting Information S1). Results from the main model also indicated that management intensity affects CO_2 emission rates (Table 1). In total, the main model explained 48.6% of the variability for CO_2 and 58.1% for CH_4 emission rates (conditional R^2 ; Supplementary Table S4 in Supporting Information S1).

CO_2 emission rates were significantly affected by the interaction of tree species identity and habitat type or management intensity, indicating that the emission rates of certain tree species depend on environmental conditions (Table 1). The observed significant difference in CO_2 emission rates between forest and grassland habitats varied across all 13 tree species and was particularly confirmed by *P. sylvestris*, *F. excelsior*, *T. cordata*, *A. platanoides*, *P. tremula*, *C. betulus* and *F. sylvatica* (Figure 1).

Only tree species identity was significantly associated with CH_4 emission rates (Table 1). No significant interactions were observed for either habitat types or management intensities (Table 1). Accordingly, only the two tree

Table 1

Linear Mixed Effect Model Testing on Whether Carbon Dioxide (CO₂) and Methane (CH₄) Emission Rate Depend on Tree Species, Habitat Type (Grassland and Forest), and Management Intensity (LUI = Land Use Intensity Index or ForMI = Forest Management Intensity Index)

Variable	CO ₂ emission rates						
	Sum sq	Mean sq	Num DF	Den DF	F Value	P Value	Significance
Habitat	3.825	3.825	1	65.9	12.81	0.00065	***
Tree Species	76.028	6.336	12	693.9	21.22	<2 x 10 ⁻¹⁶	***
Management Intensity (LUI/ForMI)	2.594	2.594	1	64.6	8.69	0.00445	**
Habitat: Tree Species	14.313	1.193	12	694.7	4.00	5.27 x 10 ⁻⁶	***
Tree Species: Management Intensity	8.095	0.675	12	693.3	2.26	0.00828	**
Habitat: Management Intensity	0.082	0.082	1	64.6	0.28	0.60128	
Variable	CH ₄ emission rates						
	Sum Sq	Mean Sq	Num DF	Den DF	F value	P value	Significance
Habitat	0.187	0.187	1	66.4	1.29	0.25993	
Tree Species	85.713	7.143	12	689.1	49.44	<2 x 10 ⁻¹⁶	***
Management Intensity (LUI/ForMI)	0.024	0.024	1	65.2	0.16	0.68761	
Habitat: Tree Species	2.435	0.203	12	689.9	1.40	0.15830	
Tree Species: Management Intensity	1.309	0.109	12	688.6	0.75	0.69751	
Habitat: Management Intensity	0.115	0.115	1	65.2	0.80	0.37585	

Note. ANOVA results of the variables and separated plots of habitat as random factor ($n_{\text{grassland}} = 38$, $n_{\text{forest}} = 27$) based on Satterthwaite's method (Sum Sq = Sum of square, Mean Sq = Mean of square, Num DF = Number of degrees of freedom, Den DF = Denominator degree of freedom). Significance-values ≤ 0.05 are shown with *; Significance-values ≤ 0.01 are shown with **; Significance-values ≤ 0.001 are shown with ***.

species *T. cordata* and *F. sylvatica* showed significantly higher CH₄ emission rates in forest compared to grassland habitats (Figure 1, Supplementary Table S3 in Supporting Information S1).

3.2. Tree Species-Specific Traits, Components of Management Intensity and Environmental Variables as the Driver of Gas Emission Rates

To disentangle the importance of different variables in explaining CO₂ and CH₄ emission rates, we reduced the global model by a model averaging procedure (Supplementary Figures S1–S4 in Supporting Information S1) to retrieve a trait model for each habitat type. Exposed in forest habitats, CO₂ emission rates increased with decreasing ForMI, increasing relative air humidity, and with the following tree species-specific traits: decreasing content of lignin, organic extractives, and sulfur, but increasing content of carbon, nitrogen, and magnesium (Figure 2, Supplementary Table S5 in Supporting Information S1). The final model including the components of ForMI indicated that mainly tree species non-natural to the sites (Inonat) caused the influence of management intensity on CO₂ emission rates (Supplementary Table S6, Supplementary Figure S5 in Supporting Information S1). Exposed in grassland habitats, CO₂ emission rates increased with decreasing wood density and increasing soil moisture (Figure 2, Supplementary Tables S5 in Supporting Information S1).

CH₄ emission rates from specimens exposed in forest habitats increased with decreasing air temperature and wood density, and increasing sulfur content using the combined ForMI (Figure 2, Supplementary Table S7 in Supporting Information S1). Using the components of ForMI, CH₄ emission rates were additionally positively affected by decreasing proportion of deadwood volume with saw cuts (Idwcut), decreasing air temperature, decreasing soil pH, decreasing wood density, and increasing sulfur content (Figure 3, Supplementary Table S8 in Supporting Information S1). For specimens exposed in grassland habitats, CH₄ emission rates were positively associated with air humidity and sulfur content, but negatively with wood density, when using the combined LUI (Figure 2, Supplementary Table S7 in Supporting Information S1). In addition, the model based on the single LUI components showed a positive relationship between CH₄ emission rates and fertilization, air humidity, soil temperature, and sulfur content, but a negative relationship with grazing, air temperature, and wood density (Figure 3, Supplementary Table S8 in Supporting Information S1).

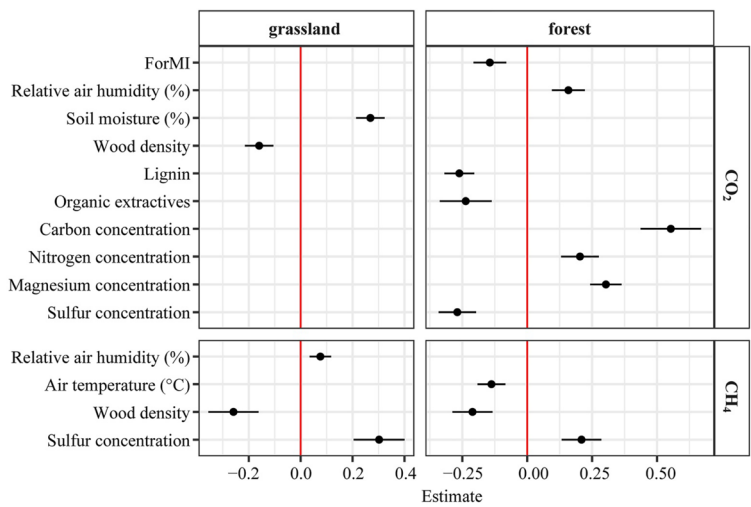


Figure 2. Important variables for carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄) emission rates are based on the trait models with combined land use intensity index (LUI) or forest management intensity index (ForMI), separated by habitat types. Selection of variables was based on weights by Akaike information criterion and importance values > 0.75 (Details for CO₂ emission rates see supplement Figure S1 and CH₄ see supplement Figure S3 in Supporting Information S1). Black circles and lines show the standardized model estimates and ±95% confidence interval.

3.3. Relationship Between CO₂ or CH₄ Emissions Rates With Mass Loss

In the case of deadwood decay, gas emission rates reflect a snapshot of ecosystem respiration whereas mass loss represents a rather overall effect of decomposition over the entire exposure time. Mass loss correlated significantly with CO₂ emission rates exposed in both habitat types (Figure 4). In particular, CO₂ emission rates of *A. platanoides*, *F. sylvatica*, *P. avium* and *Tilia platyphyllos* were positively correlated with mass loss in both habitat types. Some tree species exhibited only a significant relationship for forest (*C. betulus*, *P. sylvestris*, *P. tremula* and *Q. robur*) or grassland (*B. pendula*, *F. excelsior*, *L. decidua*, *P. abis*) habitats. In contrast, a significant but

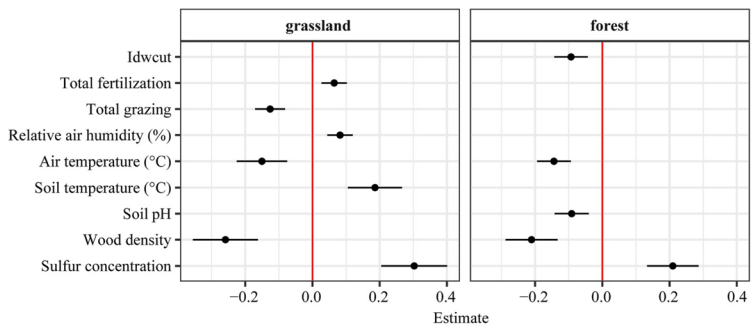


Figure 3. Important variables for methane (CH₄) emission rate based on the trait model with components of land use intensity index and forest management intensity index, separated by habitat type. Selection of variables was based on weights by Akaike information criterion and importance values > 0.75. Details for CH₄ emission rates see supplement Figure S4 in Supporting Information S1). Black circles and lines show the standardized model estimates and ±95% confidence interval.

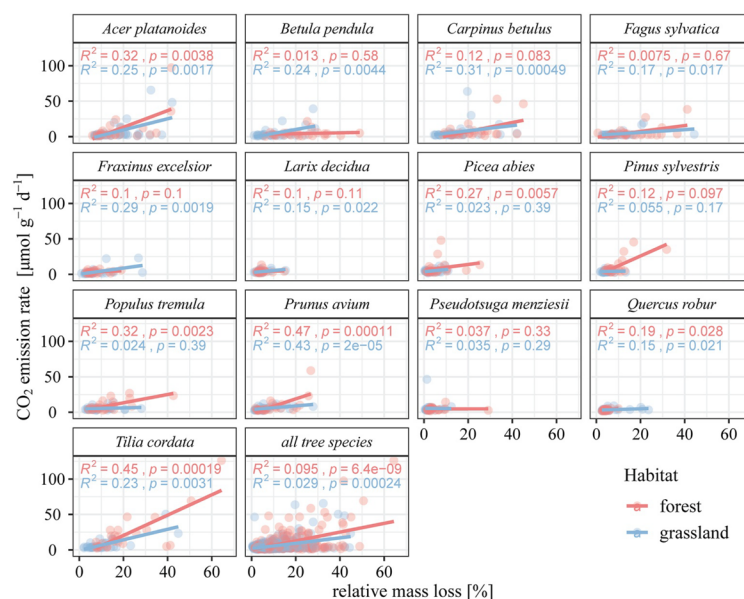


Figure 4. Relationship between CO₂ emission rates and deadwood mass loss of 13 tree species ($n_{\text{forest}} = 340$, $n_{\text{grassland}} = 453$). The red and blue lines represent the linear Spearman correlation with p values of samples derived from forest and grassland plots, respectively.

marginal correlation was observed between CH₄ emission rates and mass loss (Figure 5). Overall, the positive correlation was slightly lower for specimens exposed in forest than for specimens exposed in grassland habitats. Regarding individual tree species, CH₄ emission rates of *A. platanoides*, *P. avium* and *T. platyphyllos* were significantly associated with mass loss in grassland habitats. Additionally, CO₂ emission rates were significantly correlated to CH₄ emission rates (Supplementary Figure S6 in Supporting Information S1).

4. Discussion

We used this experimental design to combine an incubation analysis of standardized and sterilized wood specimens in the field experiment with a laboratory measurement of gas emission rates and weight loss. Because the primary focus was on differences in emission rates among tree species, habitat types, and environmental conditions, standardized start and end conditions were used. The sterilization of the wood specimens inactivates all endophytes and wood-inhabiting organisms (Freitag & Morrell, 1998; Sharman & Smith, 1970) and offers a similar starting point for all specimens before the subsequent colonization of saprotrophic microorganisms during field exposure. To provide similar incubation conditions, the gas measurements were conducted at room temperature and field temperatures at collection time were neglected.

To identify various drivers, literature-based tree-specific wood traits associated with the exploratory site Schorfheide-Chorin, as well as environmental variables of the exposure year and management intensities values were included in our data analyses. As all specimens were retrieved from one tree trunk per tree species, uniform wood traits were present at the start of exposure.

Our results underestimated the real in field effect because the wood traits were not from the actual samples and using the mean of environmental variables minimized the seasonal effect. Thus, our models could only explain

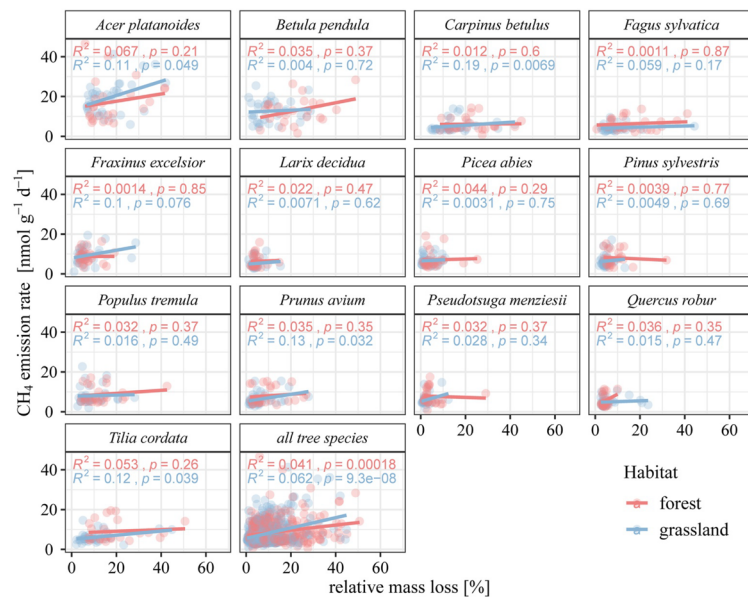


Figure 5. Relationship between CH_4 emission rates and deadwood mass loss of 13 tree species ($n_{\text{forest}} = 340$, $n_{\text{grassland}} = 453$). The red and blue lines represent the linear Spearman correlation with p values of samples derived from forest and grassland plots, respectively.

48.6% for CO_2 emission rates and 58.1% for CH_4 emission rates. Nevertheless, these results underline several known observations and therefore represent a valid method.

Our findings support that deadwood decay in the early stage was a source of both CO_2 and CH_4 with tree species identity as an important driver. CO_2 emission rates were additionally shaped by environmental conditions varying between habitat types and management intensities (Table 1). In addition, the effect of tree species identity was particularly linked to tree species-specific wood traits (Figures 2 and 3), accompanied by the effects of a few site-specific environmental variables. In the upcoming sections, each driver will be discussed for both gases separately.

4.1. CO_2 Emission Rates From Deadwood Were Driven by Tree Species Identity and Environmental Conditions

The averaged deadwood CO_2 emission rates were one-third higher exposed in forest compared to grassland habitats as the principal finding for hypothesis 1 (Figure 1). During deadwood decay, CO_2 is formed by the respiration processes of decomposing microorganisms (Lagomarsino et al., 2021), while their activity determines the magnitude of emission rates. As already shown for forest habitats, this activity is sensitive to environmental changes (Herrmann & Bauhus, 2013), particularly local environmental conditions shaped by forest habitat structure. Furthermore, these microorganisms exhibit substrate specificity leading to tree species-dependent diversity, as shown in the German exploratories (Purahong et al., 2018). In this context, the home-field hypothesis was put forward, postulating that deadwood is faster decomposed when exposed in forest stands of the same tree species than in forest stands of other tree species (Ayres et al., 2009). Such increased decomposition rates in home-field habitats have already been detected for litter (Austin et al., 2014; Ayres et al., 2009) or deadwood of the same exploratories (Purahong et al., 2019), and support our findings of higher CO_2 emission rates in forests as a natural

source of deadwood compared to grassland habitats. Such trees in open environments provide a habitat for a large number of individuals and, through the periodic loss of dead matter, influence the microorganisms present by shifting to increased saprotrophic activity (Smith & Peay, 2021). The saprotrophic communities for efficient deadwood decomposition were potentially less frequent in grassland compared to forest habitats. However, this home-field hypothesis was so far only postulated for forest sites with co-occurring similar deadwood substrates, for example, decomposition of beech deadwood in a beech forest stand (Purahong et al., 2019). Our results suggest that this hypothesis can also be applied to a forest-grassland comparison, where forest stands are home-fields for all tree species compared to grasslands most likely because of the presence of effective decomposer communities (Figure 1). Our forest plots faced a history of more than 50 years as forests (Fischer et al., 2010) with continuous bioavailable deadwood as substrate, which enabled an adaptation of native saprotrophic community members to deadwood substrates (Di Lonardo et al., 2018; Gao et al., 2016). As the deadwood specimens were sterilized prior to exposure, biogenic inoculum from the particular habitat was potentially crucial for the CO₂ emission rates, as saprotrophic communities colonized deadwood specimens more frequently in forest compared to grassland habitats.

Differences in CO₂ emission rates were also affected by management intensity showing a negative relationship with ForMI, confirming hypothesis 2 (Table 1, Figure 2). This might be explained by a loss of microbial decomposer abundance and diversity with increasing management intensity, as shown in previous studies of German forest sites (Gossner et al., 2014; Purahong et al., 2014). As the main deadwood decomposers were less frequently present with increasing ForMI, CO₂ emission rates were reduced. Moreover, the effect of ForMI was mainly attributed to the proportion of tree species non-natural to the site (Inonat; Figure 3, Supplementary Table S6 in Supporting Information S1). Our study sites would be naturally composed of indigenous broadleaved forests (mainly beech), whereas conifers (e.g., pines) were planted by humans for economic reasons and thus are defined as non-natural and exposed to a higher forest management regime (Kahl & Bauhus, 2014). The main effect of Inonat suggests, that the composition of tree species of the forest ecosystem is more important than the proportion of harvested wood volume (Iharv) or proportion of deadwood volume with saw cuts (Idwcut). Moreover, forests dominated by beech and oak caused higher CO₂ emission rates compared to mixed forests or pine forests (Supplementary Figure S5 in Supporting Information S1), indicating that forests of both main tree species serve as a source of potent deadwood decomposing microorganisms that accelerate the decomposition of all 13 tree species. In addition, the main tree species in these forests shaped deadwood decomposing microorganisms by different percentages of leaf to soil surface area, which is lower in angiosperm-dominated forest stands compared to gymnosperm forest stands (Iio et al., 2014). These proportions caused higher water precipitation on the angiosperm forest floors (Augusto et al., 2015), positively increasing air humidity below the canopy (Scharenbroch & Bockheim, 2007) and thus enhanced CO₂ emission rates in our study (Figure 2). Angiosperm-dominated forests corresponding to a low Inonat showed correlations with increasing soil moisture and decreasing soil temperature (Supplementary Figure S7 in Supporting Information S1). These results are in-line with previous studies in Germany as higher moisture concentrations stimulated the microbial activities in a beech and spruce forest environment of southern Germany (Herrmann & Bauhus, 2013). Moreover, higher moisture caused higher respiration rates in an Irish forest environment (Olajuyigbe et al., 2012) and increase CO₂ emission rates of *larix* and *betula* in Russian forest environment (Mukhortova et al., 2021). Therefore, the effect of moisture on CO₂ emission rates was in line with our hypothesis 2. In summary, the higher respiration rates of deadwood decomposing microorganisms in more natural forest environments indicate their increased activity, which was likely associated with increased decomposition of deadwood.

In addition, we found higher soil moisture to increase CO₂ emission rates of specimens exposed in grassland habitats, indicating that moisture was also of pivotal importance in grassland habitats and water availability was better retained in the soil. Unlike forests, the soil in the grassland is not protected by a canopy, which leads to different soil conditions and a more direct weather input (Scharenbroch & Bockheim, 2007). Precipitation and soil conditions as drivers of decomposition processes have already been shown in temperate forests (Oberle et al., 2018) and grassland habitats for litter (Bontti et al., 2009). As the soil microbial community can influence the decomposing microbial community (Wu et al., 2019), colonization of deadwood specimens likely occurs from belowground. Further investigations are needed to fully understand and predict CO₂ emission rates from deadwood in grassland habitats. However, the temperature had no significant effect on CO₂ emissions contradicting our hypothesis 2.

CO₂ emission rates were significantly affected by tree species identity in our study, supporting previous studies and our hypothesis 3 (Kahl et al., 2015; Purahong et al., 2016; Warner et al., 2017). Each tree species is constituted by tree species-specific wood traits, which all affect their degradability and mineralization rate (Freschet, Aerts, & Cornelissen, 2012). Exposed in forest habitats, we found a negative effect of lignin on CO₂ emission rates (Figure 2). The quantity of lignin is typically higher in gymnosperms compared to angiosperms (Fengel & Wegener, 2011). Moreover, the quality of lignin structures differed as guaiacyl moieties were more frequent in gymnosperms (Hatakka & Hammel, 2011) and sinapyl moieties more frequent in angiosperms, with latter moieties being more frequent and faster biodegradable (Freschet, Weedon, et al., 2012; Higuchi, 2006). However, the negative effect of lignin on CO₂ emission rates could also be observed within angiosperms. Deadwood from *T. platyphyllos* with low lignin content compared to other tree species in this study (Figure 2; Kahl et al., 2017) showed the highest CO₂ emission rates (Figure 1). In contrast, *F. excelsior* is characterized by high lignin contents (Kahl et al., 2017), and consequently had the lowest emission rates (Figure 1). However, *B. pendula* showed the same low CO₂ emission rates as *F. excelsior*, but has a low lignin amount. This unexpected effect was possibly caused by the occurring high wood density of *B. pendula* compared to other tree species in this study (Kahl et al., 2017). Wood density changes during decomposition and correlates with increasing porosity (Błomska et al., 2018; Piaszczyk et al., 2020), which makes deadwood more accessible for deadwood decomposers.

We found wood traits such as higher content of decomposer nutrients (carbon, nitrogen and magnesium) had a positive effect on CO₂ emission rates, while organic extractives and sulfur content had a negative effect (Figure 3). Organic extractives, as the sum of diverse compounds involved in plant defense mechanisms, can inhibit fungal decomposition activity (Gierlinger et al., 2004; Kahl et al., 2017), which would explain the observed negative effect on CO₂ emission rates. In contrast, the natural abundance of nitrogen and magnesium promoted deadwood decomposing microorganisms and enzyme activities (Bebber et al., 2011; Hu et al., 2020; Rosenstock et al., 2016; Zak et al., 2019), which consequently increased CO₂ emission rates.

4.2. CH₄ Emission Depends Mainly on Tree Species

Overall deadwood was a source of CH₄ (Figure 1), as recently observed in other studies of temperate forest environments (Covey et al., 2016; Lagomarsino et al., 2021; Mukhin & Voronin, 2009; Mukhortova et al., 2021; Oberle et al., 2018), as well as standing dead trees in tropical forests (Kumar et al., 2021), Australian diebacks (Jeffrey et al., 2019) and wetlands (Carmichael et al., 2018; Carmichael & Smith, 2016). Therefore, our hypothesis 4 in temperate regions was supported. Based on the high variability of CH₄ emission rates, it was previously concluded that deadwood act as a net source but also as a net sink and thereby annulling emissions (Warner et al., 2017). Deadwood was found to be inhabited by a broad diversity of methanotrophs (Mäkipää et al., 2017) that contribute to consuming CH₄, as the majority of these methanotrophs rely only on this C-source. In contrast, CH₄ is released into the atmosphere as a breakdown product of deadwood decay (Covey et al., 2016; Kolb et al., 2005; Täumer et al., 2021) and as part of the methanogenic activity (Covey et al., 2012; Hietala et al., 2015).

Tree species influenced the CH₄ emission rates (Table 1), which has been indicated in previous studies, but these were based on different experimental settings, such as larger sample size or direct measurement with a portable gas analyzer (Covey et al., 2016; Lenhart et al., 2012; Mukhortova et al., 2021; Warner et al., 2017). In our study, this effect is attributed to the following specific wood traits. Decreasing wood density and increasing sulfur content correlated positively with CH₄ emission rates exposed in both habitat types (Figure 2). Low wood density is associated with higher porosity, which increases the internal diffusion ratio (Schwarze, 2007), which in turn facilitates the efflux of CH₄ produced in the inner wood. Wood density also influences the water dynamic of deadwood leading to a better water holding capacity with decreasing density (Zhao et al., 2014). Higher water content has a positive effect on the establishment of anoxic environments and thus enables methanogenic activities. Probably, such lower density conditions caused higher methanogenic activities in deadwood. Next to wood density, sulfur content was a strong driver in both habitat types (Figure 2). Methanogens rely on the key enzyme Methyl-coenzyme M reductase to release CH₄ (Thauer, 1998), which is sensitive to sulfur dioxide and other sulfur species (Karhadkar et al., 1987; Khan & Trottier, 1978). However, if sulfur is bioavailable, it is directly assimilated by decomposing community members (Schmalenberger et al., 2011) leading to increased biodegradation on the one hand and almost non-bioavailable sulfur species to inhibit methanogenic breakdown.

High relative air humidity was positively associated with CH₄ emission rates of specimens exposed in grassland (Figure 2), favoring anoxic conditions in deadwood and thus promoting methanogenic activities (Covey & Megonigal, 2019). In turn, CH₄ emission rates decreased with high air temperature exposed in forest habitats (Figure 2). Shifts in the temperature regime directly affected the archaeal community composition and function (Conrad et al., 2009; Ding & Cai, 2003), including dominant methanogens as well as methanotrophs. Both CH₄ production and CH₄ consumption are temperature sensitive and have been shown to operate contrary (Mukhortova et al., 2021). If the oxidation was more stimulated by higher temperature than methanogenesis, this would lead to the observed negative impact of temperature. In addition, neither management intensities based on ForMI nor LUI affected CH₄ emission rates, but their respective components (Figure 3). Exposed in forest habitats, a higher proportion of deadwood originated from management activity (ldwcut) decreased CH₄ emission rates (Figure 3, Supplementary Table S6 in Supporting Information S1), indicating that methanogenic activity is more productive in non-managed forest environments. Exposed in grassland habitats, CH₄ emission rates were increased by fertilization but reduced by grazing (Figure 3, Supplementary Table S6 in Supporting Information S1). Fertilization causes an exogenous supply of nitrogen and other macronutrients which potentially remove fermentation limitations, thereby offering more methanogenic substrates to increase CH₄ emission rates or directly support methanogenic activity (Murray & Zinder, 1984). On the other hand, grazing activity reduced CH₄ emission rates, indicating that tremendous shifts in the habitat conditions by grazing reduced the methanogenic activity. Possibly grazing reduces soil pH as well as its moisture but leads to an increase in soil temperature (Supplementary Figure S7 in Supporting Information S1).

4.3. Mass Loss Is Linked to CO₂ and Less Linked to CH₄ Emission Rates

Overall CO₂ emission rates were positively correlated to mass loss, which underlines our hypothesis 5. However, this relationship depended on tree species identity (Figure 4). So far CO₂ emission rates were linked to respiration in short-term observations, which were directly connected to environmental conditions (Yang et al., 2016). As mass loss is not only correlated to respiration but also with leaching and fragmentation, our results suggest that snapshot analyses of gas emission rates in the early stage of decay are linked to mass loss and can be used to predict overall deadwood decay processes. Interestingly, the overall contribution of mass loss to CH₄ emission rates from all deadwood specimens was higher exposed in grassland habitats compared to forest habitats (Figure 5), which is in contrast to CO₂ emission rates (Figure 4). Previously, a correlation between CH₄ emission rate and overall decay rate was shown only for *Fraxinus* (Oberle et al., 2018), which was confirmed for grassland in our study. Detailed analyses of CH₄ emission rates between and within deadwood tree species varied strongly and showed only a marginal correlation to mass loss. Accordingly, it can be assumed that the decomposition of our sterilized deadwood specimens on forest and grassland soils was mainly determined by aerobic processes, which were only partially accompanied by methanogenic decomposition processes. Another indication that CH₄ production and decomposition activity are linked to each other was the positive correlation between CH₄ and CO₂ emission rates (Supplementary Figure S6 in Supporting Information S1), which was also reported by Mukhortova et al. (2021). Therefore, CH₄ emission rates provide rather supplementing information and are not a reliable predictor for deadwood decomposition processes. However, if once anoxic environments were long-term present such CH₄ emission rates are more relevant (Covey & Megonigal, 2019).

5. Conclusions

In our study, we identified important drivers of CO₂ emission rates from 13 tree species exposed in forest habitats, which were extended to grassland habitats and substantially improved our understanding of deadwood decomposition. Our findings suggest that the home-field hypothesis can be extended, as many deadwood tree species showed a higher CO₂ emission rate in forest habitats compared to grassland habitats. Therefore, deadwood decomposition productivity is higher in forest habitats due to more suitable habitat conditions and potentially higher abundance and diversity of decomposer communities. CO₂ emission rates are linked to mass loss, suggesting that current emissions directly reflect early stage decay processes. In contrast, CH₄ emission rates were highly variable in both habitat types and are thus rather indicative of methanogenic activity in anaerobic decomposition situation. We observed that forest management intensity decreased CO₂ emission rates, whereas CH₄ was only affected by management components. We highlight the complex interactions during deadwood mineralization,

which finally determine CO₂ and CH₄ emissions and help to predict sinks and sources of both greenhouse gases under different global change scenarios.

Data Availability Statement

Data from this study were conducted within the project “Biodiversity Exploratories” (www.biodiversity-exploratories.de) and are available at the BExSI - Biodiversity Exploratories Information System (<https://www.bexis.uni-jena.de/>). The generated gas emission rates are available under ID: 30,983 and the additional datasets are linked under the corresponding publication-ID: 31,051 or Supporting Information S1.

Acknowledgments

We thank the managers of the three Exploratories, Kirsten Reichel-Jung, Katrin Lorenzen, Miriam Teuscher and all former managers for their work in maintaining the plot and project infrastructure; Christiane Fischer and Jule Mangels for giving support through the central office, Michael Owonibi for managing the central data base, and Markus Fischer, Eduard Linsenmair, Dominik Hessenmüller, Daniel Prati, Ingo Schöning, François Buscot and Ernst-Detlef Schulze and the late Elisabeth Kalko for their role in setting up the Biodiversity Exploratories project. We thank the administration of the Hainich national park, the UNESCO Biosphere Reserve Swabian Alb and the UNESCO Biosphere Reserve Schorfheide-Chorinas well as all landowners for the excellent collaboration. The work has been (partly) funded by the DFG Priority Program 1374 “Biodiversity-Exploratories”. Field work permits were issued by the responsible state environmental offices of Brandenburg. For support with the measurement at the gas chromatograph, we thank Martin Wiprecht from the Helmholtz-Centre for Environmental Research – Magdeburg. For support by field work and sample preparation, we thank Rahel Bauer, Sophia Bender, Anna Danzberger, Jessy-Lee Fournes, Celina Gern, Carolin Gold, Viktoria Göbel, Christof Hartung, Christian Heby, Nicholas Holzschek, Maik Klaedtke, Ines Kleemeier, Viviane Kraus, Michael Langer, Gina-Marie Meyer, Sarah Neuroth, Debora Obergföll, Gülsan Önder, Nicola Pfeuffer, Maik Reimann, Roxana Röthing, Christoph Rudisch, Isabel Sander, Henry Scheibel, Felix Schneider, Johanna Stenglein, Tessa Wolter and Fabienne Zapf. The work has been funded by the DFG Priority Program 1374 “Infrastructure-Biodiversity-Exploratories” (grant numbers: NO 834/5-4 and JE 724/7-4). Open access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

References

- Augusto, L., De Schrijver, A., Vesterdal, L., Smolander, A., Prescott, C., & Ranger, J. (2015). Influences of evergreen gymnosperm and deciduous angiosperm tree species on the functioning of temperate and boreal forests. *Biological Reviews*, 90(2), 444–466. <https://doi.org/10.1111/brv.12119>
- Austin, A. T., Vivanco, L., González-Arzac, A., & Pérez, L. I. (2014). There's no place like home? An exploration of the mechanisms behind plant litter-decomposer affinity in terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, 204(2), 307–314. <https://doi.org/10.1111/nph.12959>
- Ayres, E., Steltzer, H., Simmons, B. L., Simpson, R. T., Steinweg, J. M., Wallenstein, M. D., et al. (2009). Home-field advantage accelerates leaf litter decomposition in forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), 606–610. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.12.022>
- Barton, K., & Barton, M. K. (2015). Package ‘MuMIn’. *Versions*, 1, 18.
- Bebber, D. P., Watkinson, S. C., Boddy, L., & Darrah, P. R. (2011). Simulated nitrogen deposition affects wood decomposition by cord-forming fungi. *Oecologia*, 167(4), 1177–1184. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-2057-2>
- Błońska, E., Klammerus-Iwan, A., Łagan, S., & Lasota, J. (2018). Changes to the water repellency and storage of different species of deadwood based on decomposition rate in a temperate climate. *Ecology*, 99(8), e2023. <https://doi.org/10.1002/eco.2023>
- Blüthgen, N., Dormann, C. F., Prati, D., Klaus, V. H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., et al. (2012). A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. *Basic and Applied Ecology*, 13(3), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.baaec.2012.04.001>
- Bontti, E. E., Decant, J. P., Munson, S. M., Gathany, M. A., Przesłowska, A., Haddix, M. L., et al. (2009). Litter decomposition in grasslands of central North America (US Great Plains). *Global Change Biology*, 15(5), 1356–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01815.x>
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., & Huyvaert, K. P. (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: Some background, observations, and comparisons. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(1), 23–35. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/41413994>
- Carmichael, M. J., Helton, A. M., White, J. C., & Smith, W. K. (2018). Standing dead trees are a conduit for the atmospheric flux of CH₄ and CO₂ from wetlands. *Wetlands*, 38(1), 133–143. <https://doi.org/10.1007/s13157-017-0963-8>
- Carmichael, M. J., & Smith, W. K. (2016). Standing dead trees: A conduit for the atmospheric flux of greenhouse gases from wetlands? *Wetlands*, 36(6), 1183–1188. <https://doi.org/10.1007/s13157-016-0845-5>
- Conrad, R., Klose, M., & Noll, M. (2009). Functional and structural response of the methanogenic microbial community in rice field soil to temperature change. *Environmental Microbiology*, 11(7), 1844–1853. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01909.x>
- Cornelissen, J. H. C., Sass-Klaassen, U., Poorter, L., van Geffen, K., van Logtestijn, R. S. P., van Hal, J., et al. (2012). Controls on coarse wood decay in temperate tree species: Birth of the LOGLIFE experiment. *Ambio*, 41(3), 231–245. <https://doi.org/10.1007/s13280-012-0304-3>
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H. C., Allison, S. D., Bauhus, J., Eggleton, P., Preston, C. M., et al. (2009). Plant traits and wood fates across the globe: Rotted, burned, or consumed? *Global Change Biology*, 15(10), 2431–2449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01916.x>
- Covey, K. R., de Mesquita, C. P. B., Oberle, B., Maynard, D. S., Bettigole, C., Crowther, T. W., et al. (2016). Greenhouse trace gases in deadwood. *Biogeochemistry*, 130(3), 215–226. <https://doi.org/10.1007/s10533-016-0253-1>
- Covey, K. R., & Megonigal, J. P. (2019). Methane production and emissions in trees and forests. *New Phytologist*, 222(1), 35–51. <https://doi.org/10.1111/nph.15624>
- Covey, K. R., Wood, S. A., Warren, R. J., II, Lee, X., & Bradford, M. A. (2012). Elevated methane concentrations in trees of an upland forest. *Geophysical Research Letters*, 39(15). <https://doi.org/10.1029/2012gl052361>
- Di Lonardo, D., Manrubia, M., De Boer, W., Zweers, H., Veen, G., & Van der Wal, A. (2018). Relationship between home-field advantage of litter decomposition and priming of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 126, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.07.025>
- Ding, W., & Cai, Z. (2003). Effect of temperature on methane production and oxidation in soils. *Ying yong sheng tai xue bao = The journal of applied ecology*, 14(4), 604–608. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/12920913>
- Dossa, G. G. O., Paudel, E., Schaefer, D., Zhang, J.-L., Cao, K.-F., Xu, J.-C., & Harrison, R. D. (2020). Quantifying the factors affecting wood decomposition across a tropical forest disturbance gradient. *Forest Ecology and Management*, 468, 118166. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118166>
- Erickson, H. E., Edmonds, R. L., & Peterson, C. E. (1985). Decomposition of logging residues in Douglas-fir, Western hemlock, Pacific silver fir, and ponderosa pine ecosystems. *Canadian Journal of Forest Research*, 15(5), 914–921. <https://doi.org/10.1139/x85-147>
- Felipe-Lucia, M. R., Soliveres, S., Penone, C., Fischer, M., Ammer, C., Boch, S., et al. (2020). Land-use intensity alters networks between biodiversity, ecosystem functions, and services. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(45), 28140–28149. <https://doi.org/10.1073/pnas.2016210117>
- Fengel, D., & Wegener, G. (2011). *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter.
- Fischer, M., Bossdorf, O., Gockel, S., Hänsel, F., Hemp, A., Hessenmüller, D., et al. (2010). Implementing large-scale and long-term functional biodiversity research: The Biodiversity Exploratories. *Basic and Applied Ecology*, 11(6), 473–485. <https://doi.org/10.1016/j.baaec.2010.07.009>
- Freitag, C. M., & Morrell, J. J. (1998). Use of gamma radiation to eliminate fungi from wood. *Forest Products Journal*, 48(3), 76
- Freschet, G. T., Aerts, R., & Cornelissen, J. H. C. (2012). A plant economics spectrum of litter decomposability. *Functional Ecology*, 26(1), 56–65. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01913.x>
- Freschet, G. T., Weedon, J. T., Aerts, R., van Hal, J. R., & Cornelissen, J. H. (2012). Interspecific differences in wood decay rates: Insights from a new short-term method to study long-term wood decomposition. *Journal of Ecology*, 100(1), 161–170. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01896.x>

- Gao, J., Kang, F., & Han, H. (2016). Effect of litter quality on leaf-litter decomposition in the context of home-field advantage and non-additive effects in temperate forests in China. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25(5), 1911–1920. <https://doi.org/10.15244/pjoes/62822>
- Gierlinger, N., Jacques, D., Schwanninger, M., Wimmer, R., & Pâques, L. E. (2004). Heartwood extractives and lignin content of different larch species (*Larix* sp.) and relationships to brown-rot decay-resistance. *Trees*, 18(2), 230–236. <https://doi.org/10.1007/s00468-003-0300-0>
- Gossner, M. M., Schall, P., Ammer, C., Ammer, U., Engel, K., Schubert, H., et al. (2014). Forest management intensity measures as alternative to stand properties for quantifying effects on biodiversity. *Ecosphere*, 5(9), 1–111. <https://doi.org/10.1890/ES14-00177.1>
- Gough, C. M., Vogel, C. S., Kazanski, C., Nagel, L., Flower, C. E., & Curtis, P. S. (2007). Coarse woody debris and the carbon balance of a north temperate forest. *Forest Ecology and Management*, 244(1), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.03.039>
- Grueber, C., Nakagawa, S., Laws, R., & Jamieson, I. (2011). Multimodel inference in ecology and evolution: Challenges and solutions. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(4), 699–711. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02210.x>
- Hänsel, F., Forteva, S., Wöllauer, S., & Nauss, T. (2019). Öffentlich verfügbare klimadaten der Exploratorien/open climate data of the exploratories. Retrieved from <https://www.bexis.uni-jena.de/PublicData/PublicData.aspx?DatasetId=24766>
- Harmon, M. E., Fasth, B. G., Yatskov, M., Kastendick, D., Rock, J., & Woodall, C. W. (2020). Release of coarse woody detritus-related carbon: A synthesis across forest biomes. *Carbon Balance and Management*, 15(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13021-019-0136-6>
- Harmon, M. E., & Franklin, J. F. (1989). Tree seedlings on logs in picea-tsuga forests of Oregon and Washington. *Ecology*, 70(1), 48–59. <https://doi.org/10.2307/1938411>
- Harmon, M. E., Franklin, J. F., Swanson, F. J., Sollins, P., Gregory, S. V., Lattin, J. D., et al. (1986). Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems. In *Advances in Ecological Research*, In A. MacFadyen, & E. D. Ford (Eds.), (Vol. 15, pp. 133–302). Academic Press.
- Hartel, T., Dorrestein, I., Klein, C., Máthé, O., Moga, C. I., Öllerer, K., et al. (2013). Wood-pastures in a traditional rural region of Eastern Europe: Characteristics, management and status. *Biological Conservation*, 166, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.06.020>
- Hatakka, A., & Hammel, K. E. (2011). Fungal biodegradation of lignocelluloses. In *Industrial applications* (pp. 319–340). Springer.
- Herrmann, S., & Bauhus, J. (2013). Effects of moisture, temperature and decomposition stage on respirational carbon loss from coarse woody debris (CWD) of important European tree species. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 28(4), 346–357. <https://doi.org/10.1080/02827581.2012.747622>
- Hietala, A. M., Dörsch, P., Kvaalen, H., & Solheim, H. (2015). Carbon dioxide and methane formation in Norway spruce stems infected by white-rot fungi. *Forests*, 6(9), 3304–3325. Retrieved from <https://www.mdpi.com/1999-4907/6/9/3304>
- Higuchi, T. (2006). Look back over the studies of lignin biochemistry. *Journal of Wood Science*, 52(1), 2–8. <https://doi.org/10.1007/s10086-005-0790-z>
- Hoekstra, J. M., Boucher, T. M., Ricketts, T. H., & Roberts, C. (2005). Confronting a biome crisis: Global disparities of habitat loss and protection. *Ecology Letters*, 8(1), 23–29. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00686.x>
- Hu, Z., Chen, H. Y., Yue, C., Gong, X. Y., Shao, J., Zhou, G., et al. (2020). Traits mediate drought effects on wood carbon fluxes. *Global Change Biology*, 26(6), 3429–3442. <https://doi.org/10.1111/gcb.15088>
- Hu, Z., Xu, C., McDowell, N. G., Johnson, D. J., Wang, M., Luo, Y., et al. (2017). Linking microbial community composition to C loss rates during wood decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 104, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.10.017>
- Iio, A., Hikosaka, K., Anten, N. P. R., Nakagawa, Y., & Ito, A. (2014). Global dependence of field-observed leaf area index in woody species on climate: A systematic review. *Global Ecology and Biogeography*, 23(3), 274–285. <https://doi.org/10.1111/geb.12133>
- Jakobs-Schönwandt, D., Mathies, H., Abraham, W.-R., Pritzkow, W., Stephan, I., & Noll, M. (2010). Biodegradation of a biocide (Cu-N-cyclohexyldiazonium dioxide) component of a wood preservative by a defined soil bacterial community. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(24), 8076–8083. <https://doi.org/10.1128/aem.01092-10>
- Jeffrey, L. C., Reithmaier, G., Sippo, J. Z., Johnston, S. G., Tait, D. R., Harada, Y., & Maher, D. T. (2019). Are methane emissions from mangrove stems a cryptic carbon loss pathway? Insights from a catastrophic forest mortality. *New Phytologist*, 224(1), 146–154. <https://doi.org/10.1111/nph.15995>
- Kahl, T., Arnstadt, T., Baber, K., Bässler, C., Bauhus, J., Borken, W., et al. (2017). Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *Forest Ecology and Management*, 391, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.012>
- Kahl, T., Baber, K., Otto, P., Wirth, C., & Bauhus, J. (2015). Drivers of CO₂ emission rates from dead wood logs of 13 tree species in the initial decomposition phase. *Forests*, 6(7), 2484–2504. Retrieved from <https://www.mdpi.com/1999-4907/6/7/2484>
- Kahl, T., & Bauhus, J. (2014). An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. *Nature Conservation*, 7, 15–27. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.7.7281>
- Karhadkar, P. P., Audic, J.-M., Faup, G. M., & Khanna, P. (1987). Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. *Water Research*, 21(9), 1061–1066. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(87\)90027-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(87)90027-3)
- Kassambara, A. (2018). Package 'ggpubr': 'ggplot2'-based publication ready plots. Version 0.2, Retrieved from <https://rpkgs.datanovia.com/ggpubr/index>
- Khan, A., & Trottier, T. (1978). Effect of sulfur-containing compounds on anaerobic degradation of cellulose to methane by mixed cultures obtained from sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(6), 1027–1034. <https://doi.org/10.1128/aem.35.6.1027-1034.1978>
- Knohl, A., Schulze, E.-D., Kollé, O., & Buchmann, N. (2003). Large carbon uptake by an unmanaged 250-year-old deciduous forest in Central Germany. *Agricultural and Forest Meteorology*, 118(3–4), 151–167. [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(03\)00115-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(03)00115-1)
- Kolb, S., Knief, C., Dunfield, P. F., & Conrad, R. (2005). Abundance and activity of uncultured methanotrophic bacteria involved in the consumption of atmospheric methane in two forest soils. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1150–1161. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00791.x>
- Koschorreck, M., Wendt-Potthoff, K., Scharf, B., & Richnow, H. H. (2008). Methanogenesis in the sediment of the acidic Lake Cavihué in Argentina. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 178(2), 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.jvolgeores.2008.06.017>
- Kumar, A. M., Ezhumalai, R., Pandey, A., & Rao, M. S. (2021). Emission of methane from dead trees/snags of tropical and sub-tropical forest ecoregions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 10(05), 418–428. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1005.049>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed. *Effects Models*, 82(13), 26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Lagomarsino, A., De Meo, I., Agnelli, A. E., Paletto, A., Mazza, G., Bianchetto, E., & Pastorelli, R. (2021). Decomposition of black pine (*Pinus nigra* JF Arnold) deadwood and its impact on forest soil components. *The Science of the Total Environment*, 754, 142039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142039>
- Lenhart, K., Bunge, M., Ratering, S., Neu, T. R., Schüttmann, I., Greule, M., et al. (2012). Evidence for methane production by saprotrophic fungi. *Nature Communications*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/ncomms2049>
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., & Herve, M. (2018). Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. *R package version*, 1(1), 3.

- Lüdtke, D. (2018). sjPlot: Data visualization for statistics in social science. *R package 2.8.7*. Version 2.8.7, Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=sjPlot>
- Lüdtke, D., Makowski, D., Waggoner, P., & Patil, I. (2020). Package 'performance'. *R package*. Version 0.7.1.
- Luyssaert, S., Inglima, I., Jung, M., Richardson, A. D., Reichstein, M., Papale, D., et al. (2007). CO₂ balance of boreal, temperate, and tropical forests derived from a global database. *Global Change Biology*, 13(12), 2509–2537. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01439.x>
- Magnússon, R. Í., Tietema, A., Cornelissen, J. H. C., Hefting, M. M., & Kalbitz, K. (2016). Tamm Review: Sequestration of carbon from coarse woody debris in forest soils. *Forest Ecology and Management*, 377, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.06.033>
- Mäkipää, B., Rajala, T., Schigel, D., Rinne-Garmston, K., Pennanen, T., O. A., & Ovaskainen, O. (2017). Interactions between soil- and dead wood-inhabiting fungal communities during the decay of Norway spruce logs. *The ISME Journal*, 11(9), 1964–1974. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.57>
- Mukhin, V., & Voronin, P. Y. (2009). Methanogenic activity of woody debris. *Russian Journal of Ecology*, 40(3), 149–153. <https://doi.org/10.1134/S1067413609030011>
- Mukhortova, L., Pashenova, N., Meteleva, M., Krivobokov, L., & Guggenberger, G. (2021). Temperature sensitivity of CO₂ and CH₄ fluxes from coarse woody debris in northern boreal forests. *Forests*, 12(5), 624. <https://doi.org/10.3390/f12050624>
- Murray, P. A., & Zinder, S. H. (1984). Nitrogen fixation by a methanogenic archaeobacterium. *Nature*, 312(5991), 284–286. <https://doi.org/10.1038/312284a0>
- Muszynski, S., Maurer, F., Henjes, S., Horn, M. A., & Noll, M. (2021). Fungal and bacterial diversity patterns of two diversity levels retrieved from a late decaying fagus sylvatica under two temperature regimes. *Frontiers in Microbiology*, 3168. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.548793>
- Oberle, B., Covey, K. R., Dunham, K. M., Hernandez, E. J., Walton, M. L., Young, D. F., & Zanne, A. E. (2018). Dissecting the effects of diameter on wood decay emphasizes the importance of cross-stem conductivity in Fraxinus americana. *Ecosystems*, 21(1), 85–97. <https://doi.org/10.1007/s10021-017-0136-x>
- Ohtsuka, T., Shizu, Y., Hirota, M., Yashiro, Y., Shugang, J., Jimura, Y., & Koizumi, H. (2014). Role of coarse woody debris in the carbon cycle of Takayama forest, central Japan. *Ecological Research*, 29(1), 91–101. <https://doi.org/10.1007/s11284-013-1102-5>
- Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGinn, D., et al. (2019). Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-5. Retrieved from <https://cran.r-project.org>
- Olajuyigbe, S., Tobin, B., & Nieuwenhuis, M. (2012). Temperature and moisture effects on respiration rate of decomposing logs in a Sitka spruce plantation in Ireland. *Forestry: International Journal of Financial Research*, 85(4), 485–496. <https://doi.org/10.1093/forestry/CPS045>
- Pan, Y., Birdsey, R. A., Fang, J., Houghton, R., Kauppi, P. E., Kurz, W. A., et al. (2011). A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science*, 333(6045), 988–993. <https://doi.org/10.1126/science.1201609>
- Pastorelli, R., Paletto, A., Agnelli, A. E., Lagomarsino, A., & De Meo, I. (2021). Microbial diversity and ecosystem functioning in deadwood of black pine of a temperate forest. *Forests*, 12(10), 1418. <https://doi.org/10.3390/f12101418>
- Piasczyk, W., Lasota, J., & Błońska, E. (2020). Effect of organic matter released from deadwood at different decomposition stages on physical properties of forest soil. *Forests*, 11(1), 24. <https://doi.org/10.3390/f11010024>
- Purahong, W., Arnstadt, T., Kahl, T., Bauhus, J., Kellner, H., Hofrichter, M., et al. (2016). Are correlations between deadwood fungal community structure, wood physico-chemical properties and lignin-modifying enzymes stable across different geographical regions? *Fungal Ecology*, 22, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.01.002>
- Purahong, W., Kahl, T., Krüger, D., Buscot, F., & Hoppe, B. (2019). Home-field advantage in wood decomposition is mainly mediated by fungal community shifts at "home" versus "away". *Microbial Ecology*, 78(3), 725–736. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01334-6>
- Purahong, W., Kahl, T., Schloter, M., Bauhus, J., Buscot, F., & Krüger, D. (2014). Comparing fungal richness and community composition in coarse woody debris in Central European beech forests under three types of management. *Mycological Progress*, 13(3), 959–964. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0954-y>
- Purahong, W., Wubet, T., Krüger, D., & Buscot, F. (2018). Molecular evidence strongly supports deadwood-inhabiting fungi exhibiting unexpected tree species preferences in temperate forests. *The ISME Journal*, 12(1), 289–295. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.177>
- Rosenstock, N. P., Berner, C., Smits, M. M., Krám, P., & Wallander, H. (2016). The role of phosphorus, magnesium and potassium availability in soil fungal exploration of mineral nutrient sources in Norway spruce forests. *New Phytologist*, 211(2), 542–553. <https://doi.org/10.1111/nph.13928>
- Russell, M. B., Fraver, S., Aakala, T., Gove, J. H., Woodall, C. W., D'Amato, A. W., & Ducey, M. J. (2015). Quantifying carbon stores and decomposition in dead wood: A review. *Forest Ecology and Management*, 350, 107–128. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.04.033>
- Russell, M. B., Woodall, C. W., Fraver, S., D'Amato, A. W., Domke, G. M., & Skog, K. E. (2014). Residence times and decay rates of downed woody debris biomass/carbon in eastern US forests. *Ecosystems*, 17(5), 765–777. <https://doi.org/10.1007/s10021-014-9757-5>
- Scharenbroch, B., & Bockheim, J. (2007). Impacts of forest gaps on soil properties and processes in old growth northern hardwood-hemlock forests. *Plant and Soil*, 294(1), 219–233. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9248-y>
- Schmalenberger, A., Pritzkow, W., Ojeda, J. J., & Noll, M. (2011). Characterization of main sulfur source of wood-degrading basidiomycetes by S K-edge X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(8), 1215–1223. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.08.013>
- Schwarze, F. (2007). Wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews*, 21(4), 133–170. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.09.001>
- Seibold, S., Bässler, C., Brandl, R., Büche, B., Szallies, A., Thorn, S., et al. (2016). Microclimate and habitat heterogeneity as the major drivers of beetle diversity in dead wood. *Journal of Applied Ecology*, 53(3), 934–943. <https://doi.org/10.1111/1365-2666.12607>
- Sharma, C. V., & Smith, R. S. (1970). Gamma radiation sterilization of ponderosa pine and birch sapwood. *Wood and Fiber Science*, 2(2), 134–143.
- Smith, G. R., & Peay, K. G. (2021). Multiple distinct, scale-dependent links between fungi and decomposition. *Ecology Letters*, 1352–1362. <https://doi.org/10.1111/ele.13749>
- Tabachnick, B. G., & Fidell, L. S. (1996). *Using multivariate statistics*. Harper Collins.
- Tang, S., Cheng, W., Hu, R., Nakajima, M., Guigue, J., Kimani, S. M., et al. (2017). Decomposition of soil organic carbon influenced by soil temperature and moisture in Andisol and Inceptisol paddy soils in a cold temperate region of Japan. *Journal of Soils and Sediments*, 17(7), 1843–1851. <https://doi.org/10.1007/s11368-016-1607-y>
- Täumer, J., Kolb, S., Boeddinghaus, R. S., Wang, H., Schöning, L., Schrupf, M., et al. (2021). Divergent drivers of the microbial methane sink in temperate forest and grassland soils. *Global Change Biology*, 27(4), 929–940. <https://doi.org/10.1111/gcb.15430>
- Team, R. (2016). *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Thauer, R. K. (1998). Biochemistry of methanogenesis: A tribute to marjory Stephenson: 1998 Marjory Stephenson prize lecture. *Microbiology*, 144(9), 2377–2406. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-9-2377>

- Tomao, A., Bonet, J. A., Castaño, C., & de-Miguel, S. (2020). How does forest management affect fungal diversity and community composition? Current knowledge and future perspectives for the conservation of forest fungi. *Forest Ecology and Management*, 457, 117678. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117678>
- Valentin, L., Rajala, T., Peltoniemi, M., Heinonsalo, J., Pennanen, T., & Mäkipää, R. (2014). Loss of diversity in wood-inhabiting fungal communities affects decomposition activity in Norway spruce wood. *Frontiers in Microbiology*, 5, 230. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00230>
- Vogel, S., Gossner, M. M., Mergner, U., Müller, J., & Thorn, S. (2020). Optimizing enrichment of deadwood for biodiversity by varying sun exposure and tree species: An experimental approach. *Journal of Applied Ecology*, 57(10), 2075–2085. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13648>
- Vogt, J., Klaus, V. H., Both, S., Fürstenau, C., Gockel, S., Gossner, M. M., et al. (2019). Eleven years' data of grassland management in Germany. *Biodiversity Data Journal*, 7. <https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e36387>
- Warner, D. L., Villarreal, S., McWilliams, K., Inamdar, S., & Vargas, R. (2017). Carbon dioxide and methane fluxes from tree stems, coarse woody debris, and soils in an upland temperate forest. *Ecosystems*, 20(6), 1205–1216. <https://doi.org/10.1007/s10021-016-0106-8>
- Wickham, H., Chang, W., & Wickham, M. H. (2016). Package 'ggplot2'. *Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics*. Version, 2(1), 1–189.
- Wu, C., Zhang, Z., Wang, H., Huang, G., Shu, C., Kong, F., et al. (2019). Home-field advantage of CWD decomposition in subtropical forests varied by field sites. *Forest Ecology and Management*, 444, 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.04.051>
- Yang, C., Schaefer, D. A., Liu, W., Popescu, V. D., Yang, C., Wang, X., et al. (2016). Higher fungal diversity is correlated with lower CO₂ emissions from dead wood in a natural forest. *Scientific Reports*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep31066>
- Yoon, T. K., Noh, N. J., Kim, S., Han, S., & Son, Y. (2015). Coarse woody debris respiration of Japanese red pine forests in Korea: Controlling factors and contribution to the ecosystem carbon cycle. *Ecological Research*, 30(4), 723–734. <https://doi.org/10.1007/s11284-015-1275-1>
- Young, J., Watt, A., Nowicki, P., Alard, D., Clitherow, J., Henle, K., et al. (2005). Towards sustainable land use: Identifying and managing the conflicts between human activities and biodiversity conservation in Europe. *Biodiversity & Conservation*, 14(7), 1641–1661. <https://doi.org/10.1007/s10531-004-0536-z>
- Zak, D. R., Argiroff, W. A., Freedman, Z. B., Upchurch, R. A., Entwistle, E. M., & Romanowicz, K. J. (2019). Anthropogenic N deposition, fungal gene expression, and an increasing soil carbon sink in the Northern Hemisphere. *Ecology*, 100(10), e02804. <https://doi.org/10.1002/ecy.2804>
- Zhang, Y., Hou, W., Chi, M., Sun, Y., An, J., Yu, N., & Zou, H. (2020). Simulating the effects of soil temperature and soil moisture on CO₂ and CH₄ emissions in rice straw-enriched paddy soil. *CATENA*, 194, 104677. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104677>
- Zhao, W., Blauw, L. G., Van Logtestijn, R. S., Cornwell, W. K., & Cornelissen, J. H. (2014). Interactions between fine wood decomposition and flammability. *Forests*, 5(4), 827–846. <https://doi.org/10.3390/f5040827>



Global Biogeochemical Cycles

Supporting Information for

Title: Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats

Lydia Kipping^{1,2,3}, Martin M. Gossner^{4,5#}, Matthias Koschorreck⁶, Sarah Muszynski², Florian Maurer², Wolfgang W. Weisser⁷, Nico Jehmlich^{1#}, Matthias Noll^{2,3#}

¹Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ GmbH, Department of Molecular Systems Biology, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig, Germany

²Coburg University of Applied Sciences and Arts, Institute for Bioanalysis, Friedrich-Streib-Str. 2, 96450 Coburg, Germany

³Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), University of Bayreuth, Bayreuth, Germany

⁴Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland

⁵Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, 8092 Zürich, Switzerland

⁶Helmholtz-Centre for Environmental Research – UFZ GmbH, Department of Lake Research, Brückstr.3a, 39114 Magdeburg, Germany

⁷Department of Ecology and Ecosystem management, Technische Universität München, Hans-Carl-von-Carlowitz-Platz 2, D-85350 Freising-Weihenstephan

Contents of this file

Figures S1 to S7

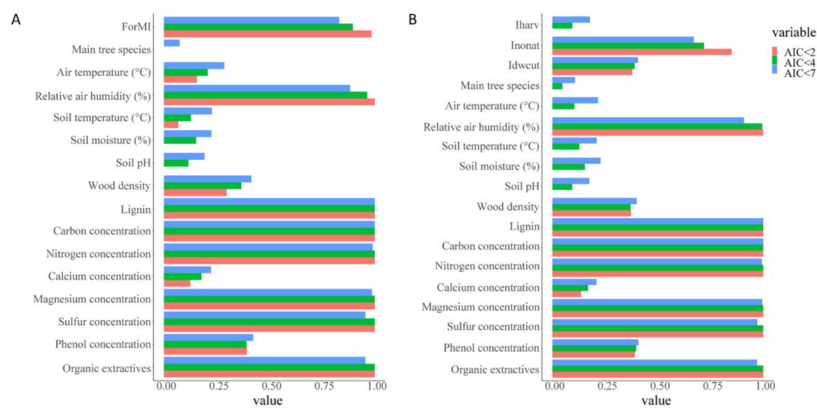
Tables S1 to S9

Data Set 1 to 7

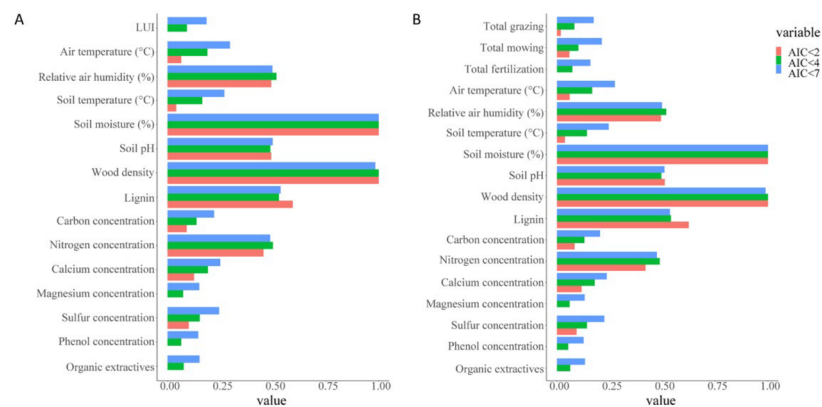
Introduction

The supporting information include additional results for the first approach (main model) and second approach (trait model) based on linear mixed effects models:

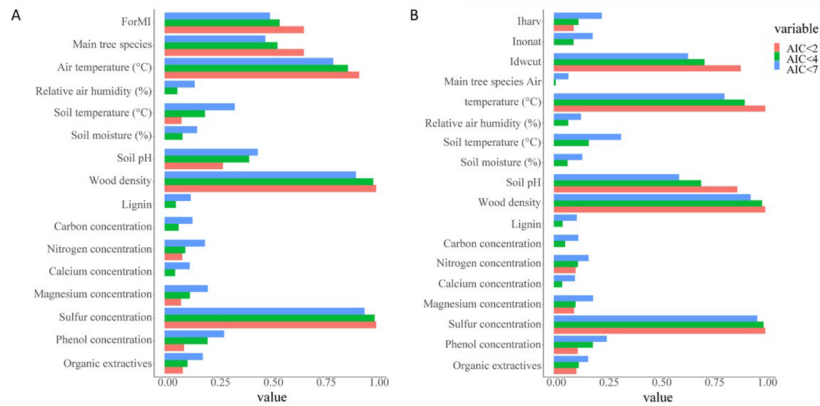
- Interaction test of significance for the main model;
- Test of the predictive power for both models;
- Selection of important variables based on the multimodel inference approach for the trait model;
- Any known imperfections or anomalies in the data.]



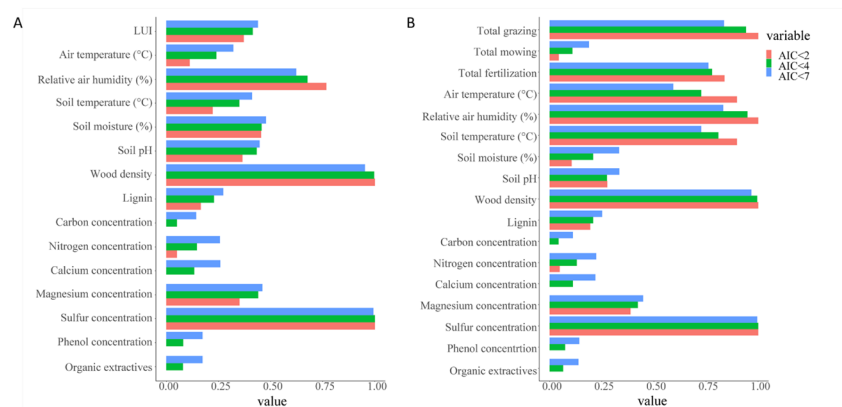
Supplementary Figure S1. Relative importance of independent variables for the best model of methane (CO₂) emission rates from deadwood of 13 tree species exposed in forest plots (n = 340). Independent variables are tree species traits, environmental variables and combined forest management intensity index (ForMI) (A) or separate ForMI components; proportion of tree species that are not part of the natural community (Inonat), proportion of harvested wood volume (Iharv), proportion of deadwood wit saw cuts (Idwcut) (B). The calculation of the relative important variables based on the sum of weights by Akaike information criterion (AIC).



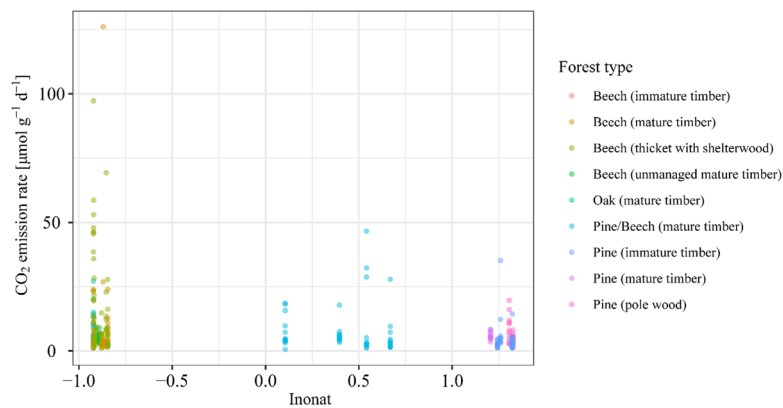
Supplementary Figure S2. Relative importance of independent variables for the best model of carbon dioxide (CO₂) emission rates from deadwood of 13 tree species exposed in grassland plots (n = 453). Independent variables are tree species traits, environmental variables and combined land-use intensity index (LUI) (A) or separate LUI components; total grazing, total mowing and total fertilization (B). The calculation of the relative important variables based on the sum of weights by Akaike information criterion (AIC).



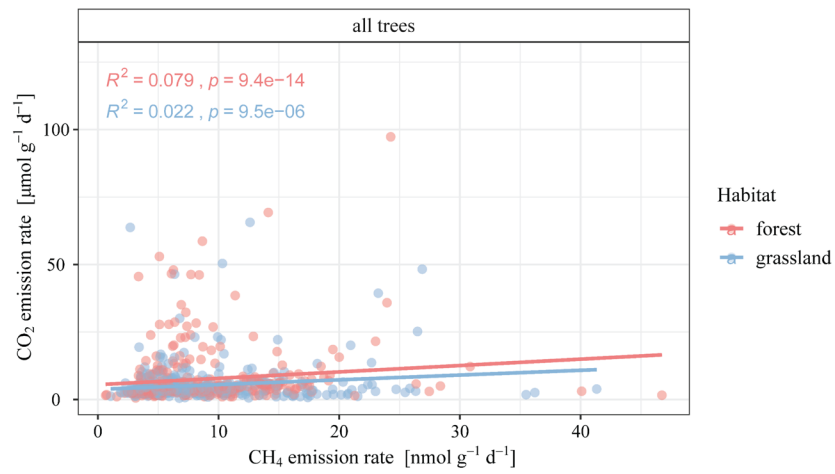
Supplementary Figure S3. Relative importance of independent variables for the best model of methane (CH₄) emission rates from deadwood of 13 tree species exposed in forest plots (n = 340). Independent variables are tree species traits, environmental variables and combined forest management intensity index (ForMI) (A) or separate ForMI components; proportion of tree species that are not part of the natural community (Inonat), proportion of harvested wood volume (Iharv), proportion of deadwood with saw cuts (Idwcut) (B). The calculation of the relative important variables based on the sum of weights by Akaike information criterion (AIC).



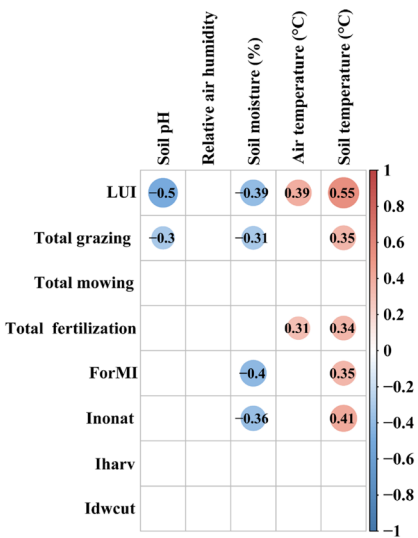
Supplementary Figure S4. Relative importance of independent variables for the best model of methane (CH₄) emission rates from deadwood of 13 tree species exposed in grassland plots (n = 453). Independent variables are tree species traits, environmental variables and combined land-use intensity index (LUI) (A) or separate LUI components; total grazing, total mowing and total fertilization (B). The calculation of the relative important variables based on the sum of weights by Akaike information criterion (AIC).



Supplementary Figure S5. Relationship of carbon dioxide (CO₂) emission rates and Inonat (the proportion of living wood volume consisting of tree species non-natural to the sites) of 13 tree species deadwood (n_{forest} = 340) exposed in different forest types.



Supplementary Figure S6. Relationship between CH₄ and CO₂ emission rates of 13 tree species ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). The red and blue lines represent the correlation of samples derived from forest and grassland plots, respectively.



Supplementary Figure S7. Spearman Correlation between management intensities and environmental variables in forest and grassland plots. Only significant correlations are shown. Significant was set as < 0.05.

Supplementary Table S1. *Land-use and management types for grassland and forest habitats in the biodiversity Exploratory Schorfheide Chorin.*

	Grassland
Meadows	
fertilized	7
unfertilized	11
Pastures	
fertilized	-
unfertilized	22
Mown pastures	
fertilized	3
unfertilized	7
	Forest
Unmanaged forest	5
Age class forest	
beech	16
oak	7
spruce	-
pine	22
Selection forest (trees harvested selectively)	-

Supplement Table S2 Tree specific wood traits from the publication of Kahl et al. (2017).

Tree Species	Carbon	Nitrogen	Phosphorous	Sulfur	Calcium	Potassium	Magnesium	Mangan	Phenol	Lignin	Organic extractives	Wood Density
	%	%	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	%	%	%	g/cm ³
<i>Quercus</i>	46.1	0.13	23	109	866.5	592	44	19.1	0.49	26.7	1.6	11.9
<i>Fagus</i>	45.8	0.12	93.6	125	1017.3	1416	291	96.3	0.03	26.9	0.5	13.0
<i>Betula</i>	45.6	0.06	125.7	120	1288.4	1034	111	11.1	0.04	23.4	1.2	10.3
<i>Carpinus</i>	45.4	0.19	133.9	160	1850.3	1350	190	68.2	0.1	23.6	0.8	12.2
<i>Prunus</i>	46	0.13	67.2	69	820.7	871	151	12.2	0.12	24	3.3	9.1
<i>Populus</i>	45.7	0.08	116.6	126	1697.6	2213	511	6.7	0.03	25.5	0.9	7.7
<i>Acer</i>	46	0.14	202.5	172	2307.6	1569	357	30.8	0.05	28.4	0.8	9.6
<i>Tilia</i>	46.8	0.13	68.2	74	949.6	686	206	131.8	0.04	23.1	2.8	8.9
<i>Fraxinus</i>	46	0.12	85.5	129	726.1	1836	206	4.9	0.17	26.6	1.88	11.4
<i>Picea</i>	46.6	0.07	37.3	61	1316.6	436	134	138.1	0.05	27.6	0.9	8.1
<i>Pinus</i>	48.3	0.03	25.5	43	916.5	330	141	94.9	0.05	28.7	7.2	8.9
<i>Pseudotsuga</i>	46.6	0.05	37.4	49	282.7	435	27	65.9	0.1	28.8	1.7	8.7
<i>Larix</i>	45.1	0.19	145.9	47	4411.3	343	202	26.6	0.1	28.4	1.4	10.0

Supplementary Table S3. Interaction test of significance by linear mixed model for carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄) across habitats and fixed for tree species. Adjusted p-values and significances were calculated using Satterthwaite's method. Significance-values ≤ 0.05 are shown with *; Significance-values ≤ 0.01 are shown with **; Significance-values ≤ 0.001 are shown with ***.

	CO ₂					
	Ratio	SE	Df	T ratio	P value	Significance
<i>Acer platanoides</i>	0.552	0.103	439.1	-3.188	0.0015	**
<i>Betula pendula</i>	0.732	0.141	466.8	-1.622	0.1055	
<i>Carpinus betulus</i>	0.679	0.123	408.4	-2.135	0.0333	*
<i>Fagus sylvatica</i>	0.660	0.123	436.0	-2.225	0.0266	*
<i>Fraxinus excelsior</i>	0.652	0.121	435.6	-2.298	0.0221	*
<i>Larix decidua</i>	0.895	0.162	406.2	-0.616	0.5383	
<i>Picea abies</i>	0.704	0.128	416.5	-1.932	0.0540	
<i>Pinus sylvestris</i>	0.508	0.094	427.1	-3.670	0.0003	***
<i>Populus tremula</i>	0.567	0.104	427.1	-3.082	0.0023	**
<i>Prunus avium</i>	0.814	0.145	399.7	-1.150	0.2510	
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	1.080	0.198	418.7	0.420	0.6746	
<i>Quercus robur</i>	1.084	0.193	396.2	0.452	0.6514	
<i>Tilia cordata</i>	0.358	0.065	402.8	-5.701	2.31E-08	***
	CH ₄					
	Ratio	SE	Df	T ratio	P value	Significance
<i>Acer platanoides</i>	1.087	0.144	403.6	0.626	0.5317	
<i>Betula pendula</i>	1.098	0.150	428.1	0.686	0.4934	
<i>Carpinus betulus</i>	0.905	0.116	371.9	-0.775	0.4389	
<i>Fagus sylvatica</i>	0.744	0.098	398.3	-2.235	0.0260	*
<i>Fraxinus excelsior</i>	1.009	0.134	397.9	0.068	0.9458	
<i>Larix decidua</i>	0.883	0.113	369.9	-0.971	0.3323	
<i>Picea abies</i>	1.028	0.133	379.2	0.215	0.8298	
<i>Pinus sylvestris</i>	0.877	0.115	389.7	-1.000	0.3181	
<i>Populus tremula</i>	0.911	0.119	391.3	-0.714	0.4757	
<i>Prunus avium</i>	0.842	0.107	363.0	-1.355	0.1764	
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	0.898	0.117	381.7	-0.826	0.4090	
<i>Quercus robur</i>	1.019	0.129	359.9	0.146	0.8843	
<i>Tilia cordata</i>	0.721	0.097	409.5	-2.445	0.0149	*

Supplementary Table S4: *Test of the predictive power by calculation of the R-squared (R^2) for the main model and trait model. Conditional R^2 is related to both fixed and Plot-ID by habitats as random factors and marginal R^2 describes only fixed factors.*

	CO₂		CH₄	
	Main Model		Main Model	
Conditional R^2	0.485		0.581	
Marginal R^2	0.262		0.371	
	Trait Model		Trait Model	
	forest	grassland	forest	grassland
Conditional R^2	0.422	0.507	0.498	0.668
Marginal R^2	0.298	0.221	0.174	0.244

Supplementary Table S5. Effect of important species traits, environmental variables and combined land use intensity index (LUI) or forest management intensity index (ForMI) on carbon dioxide (CO₂) emission rates based on trait model for importance variables. Analysis was performed separately for different habitat types (50 grassland plots, 50 forest plots) containing deadwood logs of 13 different tree species ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). Model fit variables are calculated on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of all variables with an importance value > 0.75 (supplementary figure S1-S2).

CO ₂						
Grassland						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.342	0.074	27.89	18.18	5.34E-17	***
Soil moisture	0.269	0.055	36.67	4.89	2.02E-05	***
Wood density	-0.160	0.055	10.99	-2.92	0.0139	*
Forest						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.588	0.072	15.79	21.95	2.96E-13	***
ForMI	-0.144	0.063	26.08	-2.27	0.0314	*
Relative air humidity	0.159	0.064	25.62	2.49	0.0195	*
Lignin	-0.261	0.058	6.05	-4.53	0.0039	**
Organic extractives	-0.237	0.100	6.09	-2.36	0.0554	.
Carbon concentration	0.553	0.117	6.03	4.74	0.0032	**
Nitrogen concentration	0.203	0.073	6.12	2.79	0.0308	*
Magnesium concentration	0.303	0.061	6.00	5.00	0.0024	**
Sulfur concentration	-0.269	0.072	6.09	-3.73	0.0095	**

Supplementary Table S6. Effect of important species traits, climate variables and components of land use intensity index (LUI) or forest management intensity index (ForMI) on carbon dioxide (CO₂) emission rates based on trait model for importance variables. Analysis was performed separately for different habitat types (50 grassland plots, 50 forest plots) containing deadwood logs of 13 different tree species ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). Model fit variables are calculated on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of all variables with an importance value > 0.75 (supplementary figure S1-S2).

CO ₂						
Grassland						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.342	0.074	27.89	18.18	5.34E-17	***
Soil moisture	0.269	0.055	36.67	4.89	2.02E-05	***
Wood density	-0.160	0.055	10.99	-2.92	0.0139	*
Forest						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.590	0.074	16.41	21.61	1.74E-13	***
Inonat	-0.123	0.065	25.81	-1.88	0.0713	.
Relative air humidity	0.161	0.066	25.46	2.45	0.0214	*
Lignin	-0.262	0.057	6.06	-4.56	0.0038	**
Organic extractives	-0.237	0.100	6.10	-2.38	0.0543	.
Carbon concentration	0.553	0.116	6.03	4.76	0.0031	**
Nitrogen concentration	0.204	0.072	6.12	2.81	0.0300	*
Magnesium concentration	0.303	0.060	6.00	5.03	0.0024	**
Sulfur concentration	-0.270	0.072	6.10	-3.76	0.0092	**

Supplementary Table S7. Effect of important species traits, environmental variables and combined land use intensity index (LUI) or forest management intensity index (ForMI) on methane (CH_4) emission rates based on trait model for importance variables. Analysis was performed separately for different habitat types (50 grassland plots, 50 forest plots) containing deadwood logs of 13 different tree species ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). Model fit variables are calculated on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of all variables with an importance value > 0.75 (supplementary figure S3-S4).

CH_4						
Grassland						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.874	0.092	14.37	20.31	5.52E-12	***
Relative air humidity	0.076	0.041	39.03	1.84	0.0741	•
Wood density	-0.259	0.097	10.01	-2.67	0.0235	*
Sulfur concentration	0.302	0.098	9.99	3.08	0.0116	*
Forest						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.976	0.082	20.46	23.90	2.00E-16	***
Air temperature	-0.138	0.054	26.98	-2.55	0.0166	*
Wood density	-0.211	0.077	9.96	-2.73	0.0214	*
Sulfur concentration	0.209	0.077	10.00	2.73	0.0211	*

Supplementary Table S8. Effect of important species traits, environmental variables and components of land use intensity index (LUI) or forest management intensity index (ForMI) on methane (CH_4) emission rates based on trait model for importance variables. Analysis was performed separately for different habitat types (50 grassland plots, 50 forest plots) containing deadwood logs of 13 different tree species ($n_{\text{grassland}} = 453$, $n_{\text{forest}} = 340$). Model fit variables are calculated on weights by Akaike information criterion (AIC) and selection of all variables with an importance value > 0.75 (supplementary figure S3-S4).

CH₄						
Grassland						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.872	0.090	13.25	20.71	1.76E-11	***
Total grazing	-0.126	0.045	34.10	-2.81	0.0081	**
Total fertilization	0.065	0.038	34.92	1.71	0.0964	.
Relative air humidity	0.082	0.038	35.15	2.16	0.0374	*
Soil temperature	0.186	0.081	34.55	2.31	0.0273	*
Air temperature	-0.150	0.075	33.98	-2.00	0.0538	.
Wood density	-0.259	0.097	10.01	-2.67	0.0235	*
Sulfur concentration	0.303	0.098	9.99	3.09	0.0115	*
Forest						
Variable	Estimate	Standard Error	Degrees of freedom	T value	P value	Significance
(Intercept)	1.972	0.080	18.45	24.62	1.43E-15	***
Idwcut	-0.093	0.050	25.37	-1.86	0.0738	.
Air temperature	-0.144	0.050	24.80	-2.87	0.0082	**
Soil pH	-0.091	0.051	24.55	-1.79	0.0856	.
Wood density	-0.211	0.077	9.96	-2.72	0.0217	*
Sulfur concentration	0.210	0.077	10.00	2.73	0.0211	*

Supplementary Table S9. *Test of multicollinearity based on the trait model for CH₄ emission rates for grassland and forest habitats.*

Grassland				
Parameter	Compound index		Components	
	VIF	SE_factor	VIF	SE_factor
LUI				
Total grazing			1.855	1.362
Total mowing	1.471	1.213	1.164	1.079
Total fertilization			1.225	1.107
Air temperature	4.106	2.026	4.205	2.051
Relative air humidity	1.052	1.026	1.094	1.046
Soil temperature	4.667	2.160	4.993	2.235
Soil moisture	1.737	1.318	2.118	1.455
Soil pH	1.773	1.332	1.814	1.347
Wood density	2.953	1.718	2.953	1.718
Lignin	2.359	1.536	2.359	1.536
Carbon concentration	8.435	2.904	8.435	2.904
Nitrogen concentration	3.626	1.904	3.626	1.904
Calcium concentration	4.195	2.048	4.195	2.048
Magnesium concentration	2.791	1.671	2.791	1.671
Sulfur concentration	3.559	1.887	3.559	1.887
Phenol concentration	1.860	1.364	1.860	1.364
Organic extractives	5.117	2.262	5.117	2.262
Forest				
Parameter	Compound index		Components	
	VIF	SE_factor	VIF	SE_factor
Inonat			2.259	1.503
ForMI				
Iharv	1.984	1.408	1.476	1.215
Idwcut			1.194	1.093
Air temperature	4.464	2.113	4.646	2.155
Relative air humidity	1.486	1.219	1.492	1.222
Soil temperature	4.449	2.109	4.563	2.136
Soil moisture	1.513	1.230	1.567	1.252
Soil pH	1.216	1.103	1.243	1.115
Wood density	2.954	1.719	2.954	1.719
Lignin	2.356	1.535	2.356	1.535
Carbon concentration	8.400	2.898	8.400	2.898
Nitrogen concentration	3.624	1.904	3.624	1.904
Calcium concentration	4.190	2.047	4.191	2.047
Magnesium concentration	2.793	1.671	2.793	1.671
Sulfur concentration	3.559	1.887	3.559	1.887
Phenol concentration	1.859	1.364	1.859	1.363
Organic extractives	5.094	2.257	5.094	2.257

Data Sets. Datasets are uploaded at “BExIS – Biodiversity Exploratories Information System” (www.bexis.uni-jena.de) under “Open Data”.

“PlotID” of Data Set 1 and 2 correspond to:

- “Plots” in Data Set 3
- “EP_Plot_ID” in Data Set 4
- “EP_PlotID” in Data Set 5
- “PlotID” in corresponding Publication of Data Set 6
- “EP_Plotid” in Data Set 7.

Data Set 1. ID 30983: Carbon dioxide and methane emission rates of 1300 woodblocks from 13 different tree species for grassland and forest EP (Schorfheide)

Data Set 2. ID 30908: Loss of wood mass for 3900 woodblocks from 13 different tree species decayed on Hainich, Swabian Alb & Schorfheide research plots of the BeshortDead - FunWood IV Project, 2017-2018

Data Set 3. ID 24766: Open Climate Data of the Exploratories Project (<https://www.bexis.uni-jena.de/sws/PublicClimateDataLink/Index>)

Data Set 4. ID 1000: Basic information and coordinates of field plots of the Biodiversity Exploratories project

Data Set 5.

For Bexis: ID 24646: ForMI dynamics – Forest Management Intensity Index Dynamics of all forest Eps

For publication: Kahl T, Bauhus J (2014) An index of forest management intensity based on assessment of harvested tree volume, tree species composition and dead wood origin. Nature Conservation-Bulgaria 7 (7):15-27. <https://doi.org/10.3897/natureconservation.7.7281>

Data Set 6.

For Bexis: ID 26487: Land use in grasslands: raw data of yearly owner interviews

For Publication: Vogt J, Klaus VH, Both S, Furstenau C, Gockel S, Gossner MM, Heinze J, Hemp A, Holzel N, Jung K, Kleinebecker T, Lauterbach R, Lorenzen K, Ostrowski A, Otto N, Prati D, Renner S, Schumacher U, Seibold S, Simons N, Steitz I, Teuscher M, Thiele J, Weithmann S, Wells K, Wiesner K, Ayasse M, Bluthgen N, Fischer M, Weisser WW (2019) Eleven years' data of grassland management in Germany. Biodivers Data J 7:e36387. <https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e36387>

Data Set 7. ID 22246: MinSoil 2017 – Soil pH

5.4 Publikation 3

Enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi that degrade temperate tree species

Kipping L, Jehmlich N, Moll J, Noll M, Gossner MM, Van Den Bossche T, Edelmann P, Borken W,
Hofrichter M, Kellner H

The ISME journal, 18. Jg., Nr. 1, S. wrae050.

DOI: <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae050>

Eingegangen: 29. Dezember 2023. Angenommen: 19. März 2024. Veröffentlicht: 22. März 2024.

HK und NJ entwarfen das Feldexperiment und führten die Probennahme durch. LK und NJ führten die Laborexperimente sowie die massenspektrometrische Analyse durch. TB unterstützte bei der Proteomanalyse, während JM die Metabarcoding-Analyse durchführte. MMG und MN trugen zur statistischen Auswertung bei. PE und WB stellten die Daten zum Massenverlust zur Verfügung. LK, HK und NJ führten die Datenanalyse und Interpretation durch und verfassten das Manuskript, wobei MH mit biochemischem und stilistischem Fachwissen unterstützte. Alle Autoren trugen kritisch zu den Entwürfen bei und gaben die endgültige Freigabe zur Veröffentlichung.

© The Author(s) 2024. Published by Oxford University Press on behalf of the International Society for Microbial Ecology. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



The ISME Journal, 2024, 18(1), wrae050

<https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae050>

Advance access publication: 22 March 2024

Original Article

Enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi that degrade temperate tree species

Lydia Kipping^{1,2}, Nico Jehmlich¹, Julia Moll³, Matthias Noll^{2,4}, Martin M. Gossner^{5,6}, Tim Van Den Bossche^{7,8}, Pascal Edelmann⁹, Werner Borken⁴, Martin Hofrichter¹⁰, Harald Kellner^{10,*}

¹Department of Molecular Toxicology, Helmholtz-Centre for Environmental Research—UFZ GmbH, 04318 Leipzig, Germany

²Institute for Bioanalysis, University of Applied Sciences Coburg, 96450 Coburg, Germany

³Department of Soil Ecology, Helmholtz Centre for Environmental Research—UFZ GmbH, 06120 Halle (Saale), Germany

⁴Department of Soil Ecology, University of Bayreuth, 95448 Bayreuth, Germany

⁵Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, 8903 Birmensdorf, Switzerland

⁶Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, 8092 Zürich, Switzerland

⁷VIB—UGent Center for Medical Biotechnology, VIB, 9052 Ghent, Belgium

⁸Department of Biomolecular Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Ghent University, 9052 Ghent, Belgium

⁹Department of Ecology and Ecosystem Management, Center of School of Life and Food Sciences Weihenstephan, TU München, 85354 Freising, Germany

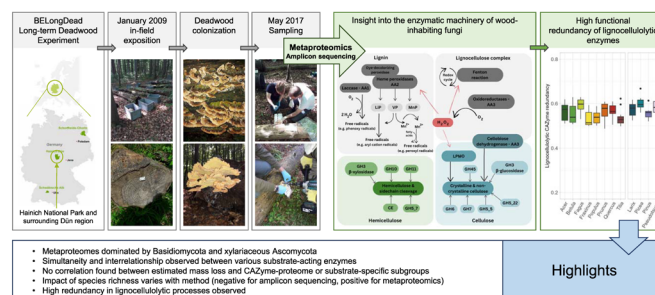
¹⁰Department of Bio- and Environmental Sciences, International Institute Zittau, TU Dresden, 02763 Zittau, Germany

*Corresponding author: Harald Kellner, Department of Bio- and Environmental Sciences, International Institute Zittau, TU Dresden, Markt 23, 02763 Zittau, Germany. Email: harald.kellner@tu-dresden.de

Abstract

Deadwood provides habitat for fungi and serves diverse ecological functions in forests. We already have profound knowledge of fungal assembly processes, physiological and enzymatic activities, and resulting physico-chemical changes during deadwood decay. However, in situ detection and identification methods, fungal origins, and a mechanistic understanding of the main lignocellulolytic enzymes are lacking. This study used metaproteomics to detect the main extracellular lignocellulolytic enzymes in 12 tree species in a temperate forest that have decomposed for 8 ½ years. Mainly white-rot (and few brown-rot) Basidiomycota were identified as the main wood decomposers, with *Armillaria* as the dominant genus; additionally, several soft-rot xylariaceous Ascomycota were identified. The key enzymes involved in lignocellulolysis included manganese peroxidase, peroxide-producing alcohol oxidases, laccase, diverse glycoside hydrolases (cellulase, glucosidase, xylanase), esterases, and lytic polysaccharide monooxygenases. The fungal community and enzyme composition differed among the 12 tree species. Ascomycota species were more prevalent in angiosperm logs than in gymnosperm logs. Regarding lignocellulolysis as a function, the extracellular enzyme toolbox acted simultaneously and was interrelated (e.g. peroxidases and peroxide-producing enzymes were strongly correlated), highly functionally redundant, and present in all logs. In summary, our in situ study provides comprehensive and detailed insight into the enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi in temperate tree species. These findings will allow us to relate changes in environmental factors to lignocellulolysis as an ecosystem function in the future.

Graphical abstract



Keywords: metaproteomics, lignocellulolytic enzymes, deadwood decomposition, Ascomycota, Basidiomycota, angiosperms, gymnosperms, functional redundancy, simultaneous, decay, species richness

Received: 29 December 2023. Revised: 19 February 2024. Accepted: 19 March 2024

© The Author(s) 2024. Published by Oxford University Press on behalf of the International Society for Microbial Ecology.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

Microbial communities exhibit overwhelming diversity; how this diversity relates to ecosystem functioning has been intensely researched, but many aspects remain unknown. Metaproteomics is a powerful tool for revealing the hidden aspects of microbial communities and functions in environmental samples. This sophisticated method can link species diversity to activities and ultimately to resulting ecosystem processes [1]. Metaproteomics has been primarily applied to describe the functionality of microbes, mainly prokaryotic communities, in studies using pure or enriched cultures and less so in *in situ* studies [2, 3], with only a few examples for fungi [4].

Deadwood is a complex substrate and a crucial component of forests, sequestering 73 ± 6 Pg or ~8% of the global terrestrial carbon stock [5]. It provides habitat and nutrients for numerous specialized organisms, including deadwood-colonizing fungi, bacteria, archaea, arthropods, and nematodes. Intensive surveys and amplicon sequencing have steadily increased our understanding of microbial and invertebrate diversity in deadwood [6–9]. It has become evident that varying wood properties among tree species and exogenous parameters such as climate, soil traits, and forest structure affect colonization and decay dynamics in temperate forests [6, 10–12].

Deadwood, which has a low nutrient content and a recalcitrant lignin barrier that protects polysaccharides from decomposition, is difficult to exploit as a resource for most microorganisms. Filamentous fungi have well-adapted decomposition strategies, making them the dominant decomposers for this substrate. Depending on the target polymers and the color of the wood residues, these fungi are generally divided into four ecological groups: (i) white-rot fungi (WRF) (Basidiomycota), which attack lignin, metabolize hemicelluloses and some cellulose but leave behind whitish fibers; (ii) brown-rot fungi (BRF) (Basidiomycota), which attack and metabolize cellulose, including crystalline moieties and hemicelluloses, and leave behind mostly brownish lignin cubicles; (iii) soft-rot fungi (SRF) (Ascomycota), which attack cellulose, and to a lesser extent lignin, and metabolize hemicelluloses, leaving behind a brownish grey, spongy wood-like structure; and (iv) wood-associated fungi, which are mostly commensal and belong to Ascomycota, utilize low-molecular-mass wood ingredients and the products of wood decomposers [13, 14]. Each ecological group of fungi has specific underlying mechanisms, including the use of specific extracellular enzymes and radical-based oxidation mechanisms, which are also evident in differences in their genomes [15–17]. In laboratory studies, WRF were found to use a variety of peroxidases, peroxide (H_2O_2)-producing enzymes, laccases, lytic-polysaccharide monooxygenases (LPMOs), glycoside hydrolases (GHs), and esterases to simultaneously break down lignin, hemicelluloses, and cellulose [13, 18, 19]. In contrast, BRF mainly use hydroxyl radicals ($\bullet OH$) released by Fenton reactions and a few hydrolases to attack cellulose and hemicelluloses [20, 21]. Furthermore, xylariaceous SRF contribute to cellulose and hemicellulose decomposition via diverse GHs, and they also partially degrade some lignin via the use of feruloyl esterase and laccase [22]. Enzymes that act on polymeric cell wall polysaccharides and lignin are classified in the CAZy database [23]. Various specialized wood-inhabiting fungi have been observed, isolated, and genome-sequenced [15–17], or their proteomes have been analyzed [24]. These findings provide the necessary basis for metaproteomic studies of the fungal enzyme repertoire and associated activities in environmental samples.

The decomposition process is divided into different stages marked by changes in fungal communities, ecological guilds, and

wood quality [25–27]. Molecular taxonomy-based studies have revealed strong community differences between host tree species, indicating that specialized organisms contribute to the decomposition process [28, 29]. The relatively high number of wood colonizers and their changes during the decay process, along with the specificity of fungal taxa, raise questions about how the fungal community composition is related to the decomposition process and whether widespread functional redundancy occurs. Functional redundancy is the ability of different microbial taxa to carry out equal or similar functions [30, 31]. This theory assumes that shifts in community composition do not affect ecosystem processes as different members of the same functional group would replace each other. Knowledge of functional redundancy during the decomposition process of wood, especially regarding fungal contributions and the lignocellulolytic digestion enzymes deployed *in situ*, is scarce and needs clarification [32, 33]. Forest ecosystems are under pressure from anthropogenic impacts, and understanding the underlying molecular mechanisms, particularly the enzymatic mechanisms in their natural environment and their ecosystem relevance to higher levels, such as carbon sequestration, is important.

The main objective of this study was to determine the complex relationship between fungi and their extracellular lignocellulolytic enzyme machinery during deadwood decomposition. To achieve this goal, we applied an *in situ* metaproteomic approach to the deadwood of twelve common tree species after ~8 ½ years of decay in a temperate forest. This experiment is part of a long-term deadwood experiment with a focus on biodiversity, management, and ecosystem processes [10]. We aimed to identify the key fungal drivers involved in deadwood decomposition and to characterize the types of lignocellulolytic enzymes they employ across 12 different tree species. We investigated the impact of mass loss in individual logs on the fungal metaproteome and explored the correlation between fungal richness and their metaproteome. Because of the presence of numerous active fungal species after ~8 ½ years of wood decomposition, we also investigated if functional redundancy within the lignocellulolytic enzymatic machinery occurs *in situ*.

Methods

Study area and deadwood sampling

This study was conducted within the Biodiversity-Exploratories Long-term Deadwood (BElongDead) Experiment, which is an interdisciplinary effort investigating the diversity and function of deadwood-inhabiting organisms during the entire decay process [10]. BElongDead is part of the DFG-funded research platform Biodiversity-Exploratories in three German regions with standardized study plots [34], where logs of 12–13 tree species (from one donor location) with a diameter of 30–40 cm and length of 4 m were placed in 100×100 m forest plots at the beginning of 2009 (official start: 1. January 2009). For this study, wood samples were collected from 12 plots in one region (Hainich National Park and surrounding Dün; 51.097324N 10.458212E) in central Germany in May 2017 after ~8 ½ years of exposure. The region covers an area of 1300 km², ranges between 285 and 550 m above sea level, and is one of the largest continuous deciduous forest areas in central Germany. Because of its status as a strictly protected area, most of the forest stands are not used for forestry. The main tree species, *Fagus sylvatica*, covers 83% of the forest area, whereas the remaining 17% is coniferous forest dominated by *Picea abies* [34].

Wood chips of 12 temperate tree species (eight angiosperms and four gymnosperms) per 12 plots were collected without bark using a power drill with a 2-cm auger 25 cm in length

(Supplementary Table S1). Between each sampling, the auger was flame sterilized. Because of losses during laboratory handling and subsequent processing, a total of 127 wood samples were further subjected to metaproteomic and amplicon sequencing of the microbial community.

Estimation of mass loss

Mass loss was estimated for individual logs based on decay functions published previously [35] as part of the entire BElongDead Experiment encompassing 1066 logs. By recording the density, mass, and volume loss of the exposed logs, the mass loss of all individual logs was calculated as the relative difference (%) between January 2009 and October/November 2018 (9.8 years). By determining the deadwood densities of the logs in 2012, 2015, and 2018, the mathematical models were refined to calculate the mass loss over time. The sigmoidal model best described the mass loss of *Fraxinus*, *Pinus*, and *Quercus*, whereas the linear model was best for all the other tree species. Based on these models, we estimated the relative mass loss separately for our 127 samples after $\sim 8\frac{1}{2}$ years of exposure.

Amplicon sequencing for proteomics database selection

An amplicon sequencing approach using standard fungal primers [11, 36] was performed to (i) identify the most abundant wood-decomposing fungi as the basis for the metaproteomic database and (ii) compare both meta-approaches. Briefly, genomic DNA was isolated from ~ 100 mg of each milled wood sample (i.e. a fine powder) using a Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA). The fungal ITS2 region was amplified using the primers fITS7/ITS4 and sequenced using MiSeq (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA). Amplified sequence variants (ASVs) were generated using DADA2 [37] implemented in the “dadasnake” pipeline [38] as previously described [39], but the maximum number of “expected errors” was set to 2, and the reads were truncated at the first nucleotide with a quality score of 10. To consider potential intraspecific sequence variation, fungal ASVs were clustered into operational taxonomic units (OTUs) at 97% sequence similarity using VSEARCH [40]. Taxonomy was assigned using the Bayesian classifier implemented in “mothur” [41] against the UNITE database (version 9.0) [42], and fungal ecology was assigned using “FungalTrait” [43].

Protein extraction and sample preparation

The collected wood chips were handled according to a previously described procedure [44] (exhaustively described in the Supplementary Methods). Briefly, the wood chips were fine milled and extracted using a cell lysis step that included thaw-freeze cycles and ultrasonication. Phenolic extraction was then performed, followed by subsequent precipitation, centrifugation, and pellet-washing steps. The pellets were dissolved in SDS buffer, heated, and separated via SDS-PAGE. The protein bands were cut from the SDS-PAGE gel, destained, dehydrated, and proteolytically cleaved using trypsin. The peptide lysates were desalted using ZipTip- μ C18 tips prior to nanoLC-MS/MS.

Mass spectrometric measurement and data analysis

Peptide lysates were resuspended and injected into a nanoHPLC (UltiMate 3000 RSLCnano, Dionex, Thermo Fisher Scientific). The samples were then trapped in a C18 reverse-phase trapping column. The peptide lysates were separated by a C18 reverse-phase analytical column (Supplementary Methods). Subsequent mass spectrometric analysis of the eluted peptides was performed

on a Q Exactive HF mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) coupled with a TriVersa NanoMate ion source (Advion, Ltd, Harlow, UK) in LC chip coupling mode. The ionization and mass spectrometric settings are described elsewhere [45]. The acquired MS/MS spectra were searched against the constructed fungal database using the “Sequest HT” search algorithm (Proteome Discoverer, v2.5; Thermo Scientific). The constructed database included data from 90 fungal genomes differentiated into 84 fungal taxa representing 50 fungal genera (Supplementary File 1). Database selection was based on the most abundant species identified from the tailored amplicon sequencing experiment, their presence in a previous study conducted in the same geographical region [11], and our knowledge of common wood-associated fruiting bodies in these temperate forests [39]. Our database also included protein data from contaminants, tree species (UniProt release August 2021), and the most abundant bacteria (UniProt release January 2021) (Supplementary File 2). Data processing was performed using “Percolator” to assign reliable statistical confidence values [46] and “Pout2Prot” for protein grouping [47] exclusively of proteins assigned to fungi and prokaryotes. The resulting list of protein groups was imported into “Prophane” [48] for taxonomic annotation against the NCBI database and functional annotation against EggNOG (v5.0) and CAZy/dbCAN (Supplementary Methods). Protein group (PG) abundance quantification was performed by the normalized spectral abundance factor (NSAF) calculated from peptide spectral matches.

In total, 109 305 PGs were annotated, 97 490 of which were assigned to fungi and 11 476 to prokaryotes (Supplementary Table S3). Subsequent analyses exclusively involved PGs from fungi. The functional annotation focused on putative main extracellular enzymes involved in lignocellulolysis, which were categorized according to the CAZy database and their corresponding substrates [23]. These included enzymes that act on “lignin and related/derived aromatics” (laccase AA1 and several class-II peroxidases (PODs), AA2; unspecific peroxygenase, UPO; dye-decolorizing peroxidase, DyP); enzymes that are “lignocellulose associated” (i.e. H_2O_2 -producing oxidoreductases, mostly oxidases of the CAZyme class AA3: (aryl) alcohol oxidase (AOs), pyranose 2-oxidase); enzymes that attack “cellulose” (cellobiose dehydrogenase (CDH), β -glucosidase GH3, and GH5_22; cellobiohydrolase (CBH): GH6 and GH7; endoglucanase: GH5_5 and GH45; LPMO: AAs 9, 10, and 15); and “hemicelluloses,” such as xylan/glucomannan (β -xylosidase GH3, mannanase GH5_7, xylanase GH10, GH11, xyloglucanase GH74, acetyl xylan/feruloyl esterase CE1, and acetyl esterase CE16) (Supplementary Table S2). These enzymes were cross-validated for their functional characteristics based on an inspection of their amino acid sequence and a neighbor-joining phylogenetic analysis (Supplementary File 2). Furthermore, the GH3 and GH5 enzymes were annotated and separated into subclasses using dbCAN3 [49] with default settings (Supplementary Methods).

Data analysis and statistics

Data analysis, visualization, and statistical tests were performed in R (v4.2.2, [50]). The quality-controlled metaproteome data set included 50 fungal genera that were selected according to their abundance in the amplicon sequencing data set, which initially included 389 genera. To visualize the correspondence between the amplicon sequencing and metaproteomic data, a butterfly diagram was created using “ggplot2” [51], featuring the 50 most abundant overlapping fungal genera. Correlation analysis between the two methods was conducted using the function “mantel” (“vegan” package) [52]. Furthermore, an analysis of

the potential impact of tree species, tree clade (angio- vs. gymnosperms), and forest stand (i.e. plot) on community composition was tested for both methods by a three-way permutational multivariate analysis of variance (three-way PERMANOVA) based on Bray-Curtis distance using the function “adonis2” (“vegan” package) [52].

Subsequent steps analyzed particular wood-inhabiting fungal genera in lignocellulose degradation, and therefore NSAFs of the PGs were log10-transformed. To identify the decomposing fungi and their enzymes, we created heatmaps with “ggplot2” to visualize the taxonomic assignment at the genus level, the involved tree species, and their corresponding decomposition functions. Detailed insights into the relevant correlations between enzymes and substrate types are illustrated in scatter plots (“ggplot2”). The relationships between substrate-specific enzymes were analyzed using the “lm” function (“stats” package). Previously, the normality of the distribution of variables was assessed using histograms (“hist” function) for the variables and QQ plots (“ggqqplot” function) for the model residuals in the “ggpubr” package.

To investigate the relationship between mass loss or species richness and CAZyme abundance (NSAF), we used a linear mixed effect model (LMM) with tree species as a random factor. Models were fitted with the “lme4” package for all the summarized CAZymes and substrate-specific enzymes, specifically those that act on lignin, are lignocellulose associated (H_2O_2 -producing) or attack cellulose and hemicelluloses [53]. The quantitative predictors are scaled to zero mean and associated variance to allow comparison of estimates. The resulting estimates were subsequently visualized, and the predicted slopes, calculated with the “predict” function, were plotted against the raw data points. Normal distributions were checked by visual inspection with a QQ plot using the “ggqqplot” function (“ggpubr” package).

The functional redundancy was calculated with respect to fungal lignocellulose degradation. These were assessed based on the abundance-based fungal functional dissimilarities using Bray-Curtis dissimilarity. Using the “uniqueness” function (“adiv” package) [54, 55], the number of fungal species (N), Simpson index (D), Rao diversity (Q), and functional redundancy (R) were calculated. The scale of functional redundancy ranges from 0 (no redundancy) to 1 (high redundancy). For visualization, box-plots were generated based on tree species and substrate-specific enzyme types per tree species. An ANOVA was performed to examine the influence of tree clade and species on community-level functional redundancy.

Results

Comparison of amplicon sequencing and metaproteomic data

Using amplicon sequencing, 1184 OTUs were obtained: 757 (63.9%) belonged to Ascomycota, 316 (26.7%) belonged to Basidiomycota, and the remainder belonged to other or unknown fungal taxa (Supplementary Table S3). A total of 389 fungal genera were identified. The most abundant genus was *Cadophora* (5.4%; Ascomycota, putative endophytes/parasites), followed by *Ischnoderma* (5.1%; basidiomycetous WRF), *Ascocoryne* (4.3%; ascomycetous endophytic wood saprotroph), and several other wood-rot fungi (Supplementary Fig. S1). A PERMANOVA for amplicon sequencing analysis revealed a strong tree species effect ($P = .001$) and strong differences between tree clades ($P = .001$) but no plot effect ($P = .332$) for the fungal OTU-based community (Supplementary Table S5).

Metaproteomics revealed more than 223 000 unique peptides, subsequently used for parsimony-principle protein grouping. Leveraging the respective fungal database, we annotated 97 490 fungal PGs (Supplementary Table S3). Our findings indicate that *Armillaria* (basidiomycetous WRF) was the most abundant genus, representing 22.6% of the total protein abundance. It was followed by typical wood-decomposing fungal genera, such as *Fomitopsis* (5.2%, BRF), *Hypholoma* (4.9%, WRF), *Mycena* (3.9%, WRF), *Ischnoderma* (3.8%, WRF), *Antrrodia* (3.6%, BRF), *Resinicium* (3.6%, WRF), *Trametes* (3.3%, WRF), and the abundant xylariaceous SRF *Annulohyphoxylon* (2.5%) (Supplementary Fig. S1). Overall, 67.4% of the total protein abundance was related to WRF, 8.8% to BRF, 8.5% to SRF, and the remaining 15.3% to wood-associated endophytic and saprotrophic fungi (Supplementary Fig. S1).

The rank-abundance of the metaproteomic approach slightly differed from the amplicon sequencing approach (Supplementary Fig. S1). However, a Mantel test revealed a significant correlation ($P < .001$) in the mean abundance of fungal genera among the decomposing tree species (Supplementary Table S4 and Supplementary Fig. S2) but not in the comparisons of all single-log samples. Distinct differences were observed for *Armillaria*, which had a correspondingly low OTU frequency of 0.08%, and several genera that remained undetected via amplicon sequencing (Supplementary Fig. S1). In contrast, *Cadophora* had an amplicon frequency of 5.4%, compared with a 0.4% metaproteome abundance (Supplementary Fig. S1).

Detection of fungal lignocellulolytic CAZymes

Overall, 49 fungal PGs accounting for 2.6% of the total relative abundance were linked to the main lignocellulolytic CAZymes (i.e. Supplementary Table S2), of which *Armillaria* was the most abundant, with a 0.6% relative abundance (Supplementary Figs S1 and S3). For all the fungal genera, lignocellulolytic CAZymes were assigned based on their activity toward lignin, cellulose, hemicelluloses, or associated functions (Fig. 1, Supplementary Table S2).

The spectra of enzymes from Ascomycota and Basidiomycota exhibited distinct differences (Fig. 1). High-redox potential ligninolytic class-II PODs originated exclusively from basidiomycetous WRF and included mainly manganese peroxidase (MnP) and, to a lesser extent, versatile peroxidase (VP) and lignin peroxidase (LiP) (Fig. 1). Many peptides of lignin-modifying laccases derived from both fungal phyla were observed in the decaying logs. Peptides of DyPs and UPOs, which systematically belong to their own protein (super)families, were less frequently detected (Fig. 1). Peroxide-supplying enzymes of the CAZY group AA3 were also found (Fig. 1), namely, various AOs from both phyla and aryl-alcohol oxidase (AAO), which is specific for Basidiomycota. Pyranose 2-oxidases (i.e. glucose oxidase) play only a minor role in this process (Fig. 1). Key enzymes involved in cellulose decomposition and subsequent metabolism came from Asco- and Basidiomycota and included β -glucosidase (GH3, including dbCAN-defined subtypes e1, e16, e32, e51, e116, e147, e180, and e223; GH5_22), CBH (GH7), and endoglucanase (GH5_5), as well as, in lower abundance, CBH from the family GH6, oxidoreductase LPMO (AA9), and CDH (AA3). LPMOs from families AA10 and AA15 and ascomycetous endoglucanases from family GH45 were identified to a lesser extent (Fig. 1). The specific hemicellulolytic enzymes included frequently β -xylosidase (GH3, including subtypes e0, e21, e73, and e88), xylanases (especially the GH10 family), mannanase (GH5_7), and acetyl esterase (CE16) from Ascomycota and Basidiomycota. In addition, xyloglucanase (GH74) and acetyl xylan/feruloyl esterase (CE1) were less frequently observed (Fig. 1).



133

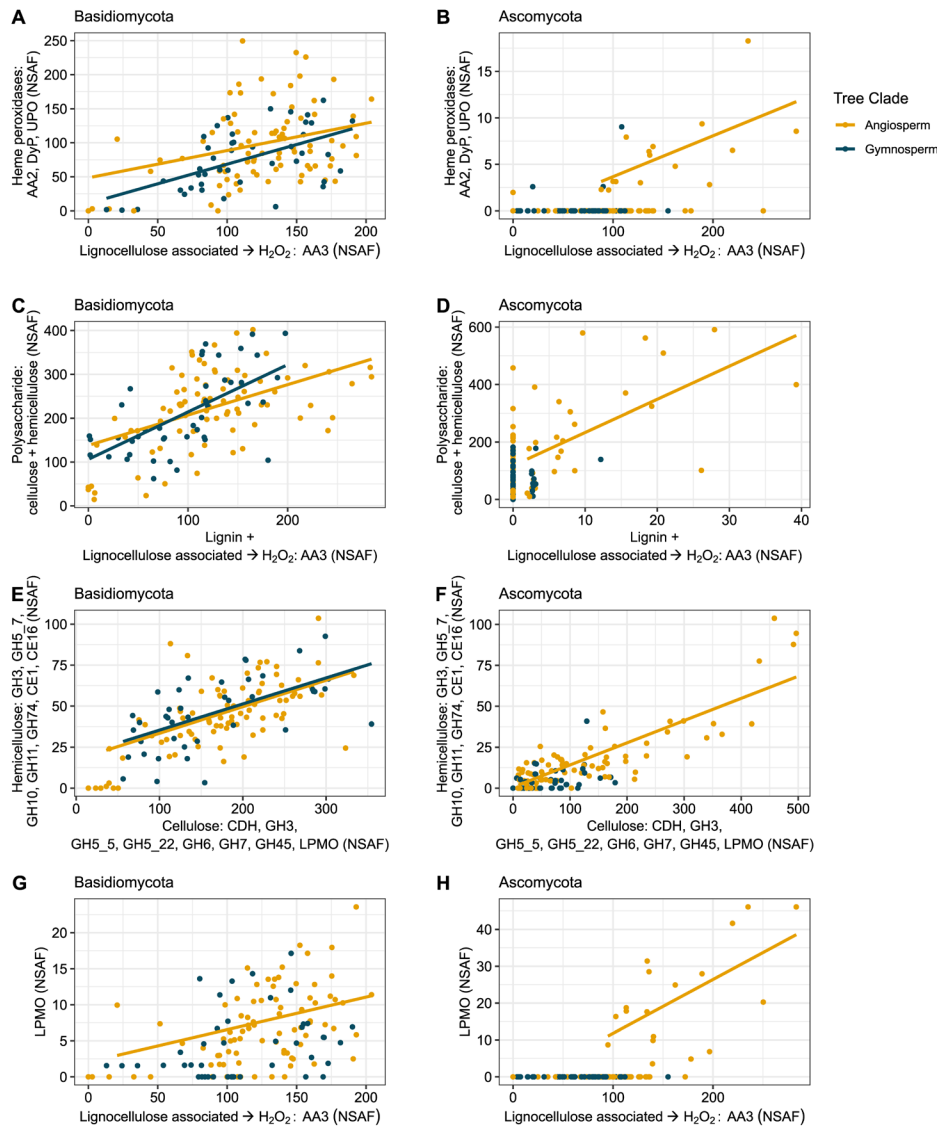


Figure 2. Correlations of lignocellulolytic CAZymes (i.e. ligninolytic class-II PODs/AA2 and other peroxidases, H_2O_2 -generating oxidoreductases/AA3, hemicellulolytic and cellulolytic GHs and LPMOs) with their target substrates. The data points represent the cumulative NSAF of the different enzymes per sample separated at the fungal phylum level (Ascomycota and Basidiomycota) and according to occurrence in logs of angiosperms and gymnosperms. The significant regressions ($P < .05$) are displayed, whereas nonsignificant regressions are omitted from the plot.

PERMANOVA revealed a strong tree species effect ($P = .001$) and plot effect ($P = .012$) for the fungal genera linked to lignocellulolytic CAZymes (Supplementary Table S5, Supplementary Fig. S3). However, considering the principal function of maintaining lignocellulolysis, it became evident that all the main extracellular enzymes were present in each tree species (Figs 1 and S4).

CAZyme correlations in angiosperm and gymnosperm wood

Correlative analyses provided insights into the interplay of different substrate-dependent enzyme types among Ascomycota and Basidiomycota and between angiosperms and gymnosperm logs (Fig. 2). Many of the analyzed enzyme (sub)classes and individual enzyme types exhibited strong simultaneity (Fig. 2). Specifically,

enzyme correlations for Basidiomycota occurred in angio- and gymnosperm logs, whereas for (mostly xylariaceous) Ascomycota, they appeared exclusively in angiosperm logs (Figs 2 and S6–S13).

A significant correlation with high abundance was detected between peroxide-producing enzymes (oxidases, AA3) and ligninolytic heme peroxidases in Basidiomycota (Fig. 2A and B), highlighting the interrelated action of these enzyme types during wood decay. However, ascomycetous heme peroxidases (i.e. low-redox potential generic class-II PODs, DyPs, and UPOs) were only moderately abundant in the angiosperm samples (up to 18 cumulative NSAF compared with up to 250 NSAF for Basidiomycota; Fig. 2A and B). Generally, lignin-modifying enzymes, including peroxide-providing oxidases (AA3), correlated significantly positively with enzymes responsible for polysaccharide degradation (i.e. cellulose and hemicelluloses) (Fig. 2C and D). A comparison of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes revealed significant positive correlations (Fig. 2E and F). Furthermore, significant correlations of peroxide-providing enzymes (AA3) with LPMOs were observed for Ascomycota and Basidiomycota only in angiosperm logs (Fig. 2G and H), indicating a distinct role of LPMOs during wood decay.

The contribution of each fungal genus differed, especially when comparing the logs per tree clade (Supplementary Figs S6–S13). Among the Basidiomycota, the genera *Armillaria*, *Hypholoma*, and *Resinicium* exhibited considerable ligninolytic potential because of the significant correlations between H_2O_2 -delivering enzymes and high-redox potential peroxidases (MnP, VP, LiP) in angiosperm and gymnosperm logs (Supplementary Fig. S6). *Bjerkandera*, *Coprinellus*, *Fomes*, *Ganoderma*, *Ischnoderma*, and *Trametes* exhibited similar patterns exclusively in angiosperm logs and *Heterobasidion* in gymnosperm logs (Supplementary Fig. S6). All abovementioned fungi possess the necessary enzymes to substantially degrade cell wall polysaccharides, as do *Antrodia* and *Fomitopsis* (both BRF) in gymnosperm logs (Supplementary Figs S8 and S10). Within Ascomycota, mainly *Annulohyphoxylon*, *Hyphoxylon*, *Kretzschmaria*, *Nemania*, and *Xylaria*, exhibited high enzyme abundances and significant correlations between different enzyme types. These genera are almost exclusively found in angiosperms and belong to the order Xylariales, which are classified as SRF (Supplementary Figs S7, S9, S11, and S13).

Effects of mass loss and species richness on the metaproteome

The estimated mass loss, ranging from 17.1% to 78.1%, was lowest in *Fraxinus* ($34 \pm 11\%$) and highest in *Betula* ($67 \pm 8\%$) and *Fagus* ($65 \pm 3\%$) (Supplementary Fig. S5), which was reflected by a significant tree species effect ($P < .001$, Supplementary Table S6). In general, the gymnosperms ($46 \pm 12\%$) exhibited lower mass loss than the angiosperms ($59 \pm 8.5\%$, $P < .001$; Supplementary Table S6) after 8 $\frac{1}{2}$ years of decomposition. However, no significant correlations were found between the total CAZymes or between CAZymes separated according to their substrates and the estimated mass loss as a decay proxy if the tree species were considered (Supplementary Table S6). These correlations varied distinctly among the tree species, revealing both positive and negative directions (Supplementary Fig. S5, Supplementary Table S6). Only considering all samples irrespective of tree species, a significant positive correlation was observed between mass loss and all the CAZymes ($P = .0053$; Supplementary Table S6, Supplementary Fig. S5).

OTU-based species richness ranged from 6 to 100 per sample and was lowest in *Tilia* (21 ± 7) and highest in *Picea* (56 ± 25). The metaproteome-based species richness ranged from 28 to

78, with the lowest occurring in *Quercus* (56 ± 16) and the highest occurring in *Populus* (75 ± 3). For both approaches, species richness exhibited significant tree species effects (OTU: $P < .001$, proteome: $P = .004$; Supplementary Table S7), but no significant differences were detected among the plots (OTU: $P = .076$, proteome: $P = .319$; Supplementary Table S7). When the species richness of both approaches was compared against that of the lignocellulolytic metaproteome (i.e. CAZyme NSAF), an opposite trend was observed. The OTU-based species richness was negatively correlated (Fig. 3), particularly significantly for ligninolytic and hemicellulolytic enzymes ($P < .05$; Supplementary Table S8). The metaproteome-based enzyme-producing species richness (counted based on the 84 taxa in the underlying database) was positively correlated with the enzyme abundance (Fig. 3) and was significant for all CAZymes ($P < .001$), ligninolytic enzymes ($P < .05$), and peroxide-producing enzymes ($P < .001$; Supplementary Table S8).

Functional redundancy

The presence and high abundance of many main lignocellulolytic enzymes (e.g. laccase, MnP, AOs, endoglucanase, CBH, and β -glucosidase) in all the tree species indicated functional redundancy (Fig. 1). Generally, a high functional redundancy of all lignocellulolytic CAZymes was observed across the 12 tree species (Fig. 4); it was lowest in *Fraxinus* (0.53 ± 0.04) and highest in *Picea* (0.62 ± 0.04), resulting in a significant tree species effect ($P < .001$) (Supplementary Table S9). Gymnosperm logs generally exhibited slightly greater redundancy (0.60 ± 0.04) than angiosperm logs (0.57 ± 0.06 , $P < .01$; Fig. 4). However, distinct differences were noted considering the enzyme substrates, with the highest redundancy for enzymes that provide peroxide (AA3) (0.72 ± 0.08) as a cosubstrate for various other enzymes (PODs, DyPs, UPOs, LPMOs) as well as for Fenton chemistry, followed by enzymes that are active on cellulose, specifically diverse GHs and LPMOs (0.52 ± 0.04), and followed by lignin-modifying enzymes, specifically laccases and peroxidases (0.48 ± 0.1) and hemicellulolytic enzymes (GHs and CE, 0.45 ± 0.13) (Fig. 4).

Discussion

Key fungi and lignocellulolytic enzymes

This study provides detailed insight into the fungal deadwood community and its enzymatic machinery that causes a complete breakdown of the lignocellulosic complex. The basis is the *a priori* knowledge of the fungal community composition at the molecular and fruiting body levels from the BELongDead Experiment [11, 28, 36, 39]. In addition, the constant inflow of new fungal genomes into databases derived from large genome-sequencing projects such as DOE-JGI Mycocosm [56] and our own sequencing efforts over the past decade [57–59] has provided the necessary data for this broad metaproteomic approach. Our database-dependent metaproteomic approach relies on amplicon sequencing results and is remarkably consistent and correlative (e.g. the Mantel test results). With both approaches, we see strong tree species effects, as shown in previous amplicon sequencing studies [11, 28, 36], and large differences between the rotting process in angiosperm and gymnosperm logs. This finding supports the assumption that most fungi are adapted to specific substrates, except for ubiquitous generalists such as the honey mushrooms *Armillaria* [60]. Generally, the analyzed metaproteome was dominated by Basidiomycota (accounting for ~67% of the identified fungal peptides), specifically WRF, although more Ascomycota taxa were included in the underlying proteome database. The predominant

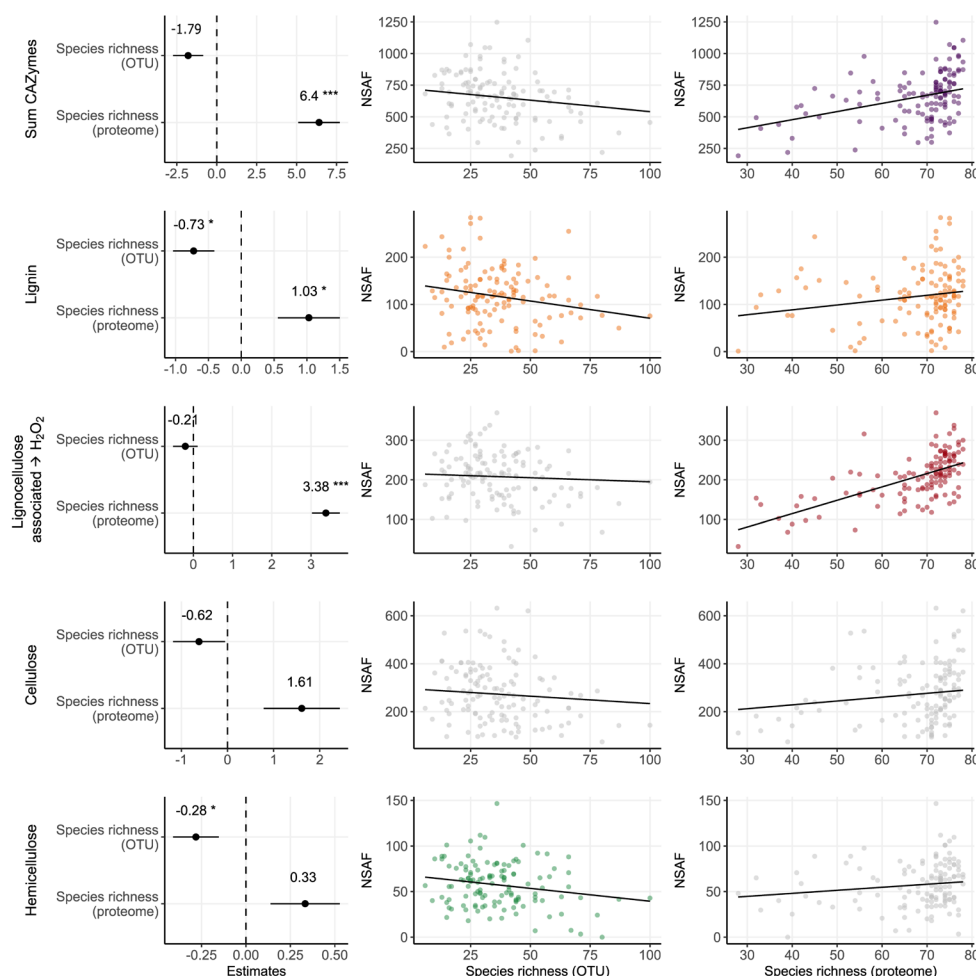


Figure 3. Effects of fungal amplicon sequencing- and metaproteomics-based species richness on the CAZymes (NSAF) and substrate-specific subgroups. Lines represent fits of the linear mixed-effects model with tree species as a random factor. Significant relationships ($P < .05$) are shown as colored points, whereas grey points indicate no significant relationships. See [Supplementary Table S8](#) for details on the fitted models.

fungal genus *Armillaria* comprises notorious tree parasites (e.g. those causing root rot) and powerful wood decomposers, known to harbor one of the largest and oldest organisms on earth [60–63]. The next most abundant genera (e.g. *Fomitopsis*, *Hypholoma*, *Mycena*, *Ischnoderma*, *Antridia*, *Resinicium*, *Trametes*, *Annulohypoxylon*) are also well-known wood-rot fungi and are widely distributed across temperate forests in Eurasia and North America [6, 11, 64, 65].

In addition, we gained detailed information about their function, including the enzymes they secrete to digest and process polymeric wood components and their preferred target substrates (angiosperm vs. gymnosperm wood, cellulose vs. hemicelluloses vs. lignin vs. low-molecular-mass fragments and wood ingredients). Basidiomycetous MnP was the most prominent and

abundant ligninolytic enzyme [13, 66] found in all decaying tree species in this study and was derived from diverse WRF species. This was expected, although not to this extent, as previous detections of MnP activities (via oxidation of Mn^{2+} into Mn^{3+}) in field samples have been highly variable and scattered compared with measurements of other enzymes such as laccase or GHs [67, 68]. Thus, these results confirm the key role of MnP in lignin degradation by Basidiomycota, as predicted by previous field studies and laboratory experiments with fungal cultures or isolated enzymes [11, 67, 69–71]. Laccases, which have a polymerizing (coupling of phenolics) and, under certain circumstances (i.e. in the presence of suitable redox mediators), depolymerizing effect on lignin fragments, are frequently observed during wood decomposition [67, 72, 73]. Laccases, which generally have lower

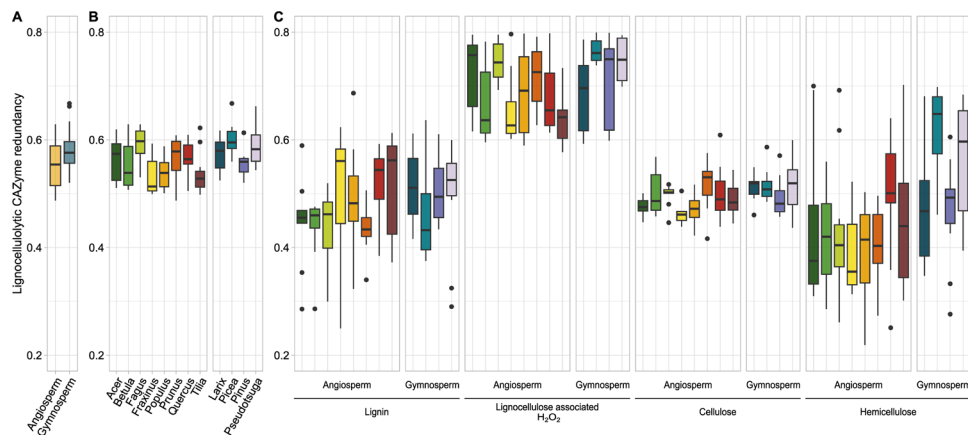


Figure 4. The functional redundancy of lignocellulolytic CAZymes was assessed across tree clades (A), tree species (B), and separately by substrate-specific enzyme classes (C). The data were processed according to Ricotta and Pavoine [55], and the community-level functional redundancy was calculated. For detailed statistical analysis, see [Supplementary Table S9](#).

redox potentials than peroxidases (<0.82 V vs. 0.9–1.5 V), were highly abundant in almost all the wood samples in our study and originated from a wide variety of Basidiomycota, but also from many Ascomycota (primarily Xylariales but also Helotiales and Sordariales). Reportedly, laccases contribute to the detoxification of phenolic compounds present in wood or released during lignin decay, which may explain their widespread occurrence and use by both Ascomycota and Basidiomycota [13, 74]. Two other ligninolytic class-II PODs (AA2) of Basidiomycota, namely, LiP and VP, were also present in all the logs; however, they were found in much lower abundances than MnP and originated exclusively from a few basidiomycetous genera (e.g. LiP: *Trametes*, *Phanerochaete*, *Schizophora*; VP: *Bjerkandera*, *Fomes*, *Ischnoderma*), which has already been indicated in several genomic studies [15, 17]. Other ligninolytic enzymes, such as generic peroxidase, DyP, and UPO, were infrequently detected and seemed to play only minor roles.

The most important enzymes for cellulose degradation were endoglucanases and CBHs (GH5_5, GH6, and GH7), LPMOs (mainly from AA9), CDH (AA3), and β -glucosidase (GH3 and GH5_22), which are secreted in large quantities, ultimately providing glucose that is metabolized by the Ascomycota and Basidiomycota fungal communities. Furthermore, hemicellulolytic enzymes such as xylanase (GH10, GH11), β -xylosidase (GH3), mannanase (GH5_7), xyloglucanase (GH74), and esterases were present (CE1, CE16), with GH3 and CE16 being the most predominant enzymes from Ascomycota and Basidiomycota, eventually delivering other monosaccharides (xylose, mannose) derived from the backbone of diverse hemicellulose constituents. The importance of these detected cellulolytic and hemicellulolytic enzymes is well known from larger genome-sequencing projects and multiple laboratory studies of Ascomycota and Basidiomycota, and these enzymes were also found in deadwood field experiments [6, 11, 17]. Peroxide-producing AA3 oxidoreductases such as AOs and basidiomycetous AAO were the most abundant enzyme groups in this study and were present in almost all the logs. Along with other enzyme types, these enzymes were strongly positively correlated with ligninolytic peroxidases (for which

they provide the necessary peroxide as a cosubstrate) as well as with ascomycetous and basidiomycetous LPMOs. LPMOs are copper-containing biocatalysts that can act as monooxygenases and peroxigenases [75, 76]. These enzymes are thought to play a crucial role in the initial attack of crystalline cellulose by oxidatively cleaving glycosidic bonds to form amorphous moieties, allowing hydrolytic cellulases to break down biomass more efficiently [76]. LPMOs were shown to interact with CDH, a flavin and heme-containing enzyme that oxidizes sugars (e.g. cellobiose) to the corresponding lactones (thereby removing excess cellobiose and avoiding negative feedback loops) [77] while donating the abstracted electrons directly to partner enzymes (e.g. LPMOs whose active site copper is reduced; $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$) or generating H_2O_2 by reducing dioxygen (O_2) [78–80]. Thus, CDH and AA3-type oxidases (AOs, pyranose oxidase) may fuel LPMOs with H_2O_2 and thus force the peroxigenase mode [81]. LPMOs were found along with CDH in all decomposing log species, and in addition to Basidiomycota, they particularly originated from the xylariaceous Ascomycota. In addition, CDH was postulated to be involved in complex redox cycling and Fenton chemistry, during which hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$) are formed; these radicals are the most potent oxidants in biological systems, and they are also active during lignocellulolysis.

Taken together, the results of this metaproteomic approach highlight wood-rot Basidiomycota as the main driver of wood decay, although Ascomycota, especially Xylariales, may also play a relevant role, except in substantial lignin decomposition. It is known from the literature that lignin is less mineralized during the rotting process by *Xylaria* (<10% degradation to CO_2 , compared with up to 75% lignin mineralization by basidiomycetous WRF) [71] and rather released in the form of large water-soluble lignin-polysaccharide fragments [22]. This study revealed the strong simultaneity of the different substrate-acting enzyme types and, further, the strong interrelatedness of the enzymes when peroxide-producing and peroxide-using enzymes were considered. However, it is essential to exercise caution and bear in mind that this approach used ~5 g of wood collected across the entire log diameter. Therefore, enzymes may be present at

different spots and scales and originate from different fungal organisms in decomposing wood.

Role of mass loss and species richness

The estimated mass loss after $\sim 8 \frac{1}{2}$ years is primarily tree species dependent, as shown in several previous studies [10, 35, 82]. However, across the 12 tree species, we did not observe a significant relationship between mass loss and the metaproteome for the CAZymes or the substrate-specific enzyme subgroups. We could only observe a trend toward increased CAZyme abundance with increasing mass loss by analyzing all samples independent of the tree species. However, our sampling approach prevents larger generalization and needs to be further tested with replicated measurements over time of the same decomposing logs and in a wider geographical setting. Nevertheless, the ubiquitous presence of diverse CAZymes already indicates substantial functional redundancy across a wide range of mass losses as a proxy for different decay stages. This was supported by the observed high enzymatic activities during several decay stages in three different tree species in another study [6].

In this study, species richness was not correlated with mass loss, but strong correlations with CAZymes or substrate-specific subgroups were observed. The OTU-based species richness was negatively related to the metaproteome, indicating increasing CAZyme abundance with decreasing fungal species. Similar negative correlations were observed for ligninolytic [83] and (hemi)cellulolytic enzymes (both indicative of microbial activity) as well as for fungal biomass [11]. Furthermore, negative correlations between richness and mass loss were ascertained in laboratory experiments, indicating greater competition when multiple species are involved in the decay process [84]. However, positive correlations have also been observed under near-natural conditions [85] and are known for other ecosystem processes [86]. In this study, a comparable positive correlation was observed between the metaproteomic-calculated active fungal species richness and the abundance of CAZymes or substrate-related subgroups. In deadwood, a similar positive relationship was revealed for fungal fruiting body richness indicating active species and microbial respiration [87]. Although our findings may include autocorrelated behavior because of the use of a selected database for deadwood-degrading fungi, the results should be compared with other approaches covering the active fungal community, such as transcriptomic methods. Nevertheless, our study suggested that a higher richness of active fungal species corresponds to greater amounts of CAZymes and consequently a higher microbial activity. The contrasting results between our two approaches, amplicon sequencing and metaproteomics, are certainly related to the fact that DNA-based techniques capture inactive or dead species and consider a broader range of species than metaproteomics because of current data limitations. DNA-based techniques might also be biased when transcriptional activity is considered. Future improvements to genomic and proteomic databases and larger sample sizes will improve our knowledge.

Functional redundancy

Microbial functional redundancy is a widely recognized mechanism for understanding ecosystem processes but always depends on the considered functions [31, 88]. During deadwood decomposition, WRF and BRF, and to some extent SRF, are considered the main drivers, and it seems that replacing, changing, or manipulating this community has little effect on this process (e.g.

[89], general concepts in Reference [31]). Often, the entire potential metabolic functions based on metagenomes or functional assignments of OTUs via databases serve as a basis for revealing functional redundancy [90]. In our study, we focused on the truly active fraction by analyzing the present lignocellulolytic enzymes and their fungal origin. Across different decomposing logs, we found rather high functional redundancy for lignocellulose degradation, which was certainly driven by key enzymes such as MnP, AOs, and several GHs. Considering the strong tree species effect and resulting specialization of the fungal community, the core community likely contains similar redundant enzymes. There are still several limitations: (i) different enzymes of the same CAZY family or with identical EC numbers nevertheless have different physicochemical and kinetic properties (e.g. in terms of substrate affinity, reaction rate, and catalytic efficiency), (ii) the detected enzymes could be readily inactivated, and (iii) polysaccharide hydrolases often show side activities toward other substrates or whose actual activity is not yet known. However, the key enzymes of this study have well-documented activities and have been characterized in laboratory studies [23]. The highest redundancy was observed for peroxide-producing (AA2) enzymes, but since they supply peroxidases and LPMOs with their cosubstrate (H_2O_2) and the latter is involved in the formation of reactive oxygen species (radicals), these findings have a plausible background. Other enzymes, which may be more context specific and used only occasionally, exhibit activities that are highly spatially variable in field studies [91].

From a conceptual point of view, the question arises whether lignocellulolysis in deadwood is a narrow or a broad functional process [31]. Given the large number of microbes (filamentous fungi, yeasts, protists, bacteria, and archaea) that benefit from wood decomposition and the fact that substantial lignocellulolysis is mainly carried out by only a few specialized fungi, this process is rather narrow. However, this statement is debatable because lignocellulolysis still involves hundreds of adapted fungal taxa from different fungal groups with considerable niche widths and competitive capabilities [92] and also relies on other taxonomic groups involved in deadwood fragmentation (e.g. arthropods) or nutrient acquisition (e.g. nitrogen-fixing bacteria), which broadens this process and likely makes it more resilient to potential disturbance. This *in situ* study elucidated the molecular processes related to fungi during wood decomposition, enabling us to address future questions about changing environmental factors and the resulting relevance and resilience of ecosystem functions, such as lignocellulolysis, to sustain the health and stability of ecosystems in the face of ongoing anthropogenic changes [93].

Acknowledgements

We thank Nicholas Holzschek, Beatrix Schnabel, Melanie Günther, and Claudia Seilwinder for help in the field and the laboratory. We thank the managers of the Hainich Exploratory, Sonja Gockel, Kerstin Wiesner, Katrin Lorenzen, Juliane Vogt, and all former managers for their work in maintaining the plot and project infrastructure; Simone Pfeiffer, Maren Gleisberg, Christiane Fischer, and Jule Mangels for providing support through the central office; Jens Nieschulze, Michael Owonibi, and Andreas Ostrowski for managing the central database; and Markus Fischer, Eduard Linsenmair, Dominik Hessenmöller, Daniel Prati, Ingo Schöning, François Buscot, Ernst-Detlef Schulze, Wolfgang W. Weisser, and the late Elisabeth Kalko for their role in setting up the Biodiversity Exploratories project. We thank the administration of Hainich National Park and all the landowners for their excellent

collaboration. Field work permits were issued by the responsible state environmental offices of Baden-Württemberg, Thüringen, and Brandenburg.

Author contributions

Lydia Kipping (conducted laboratory experiments, data and statistical analysis, wrote manuscript), Harald Kellner (designed and sampled field experiment, data analysis and interpretation, wrote manuscript), Nico Jehmlich (designed and sampled field experiment, performed laboratory experiments, data analysis), Julia Moll (performed amplicon sequencing study), Martin M. Gossner (statistical support), Tim Van Den Bossche (proteomics analysis support), Matthias Noll (analysis support), Martin Hofrichter (biochemical and stylistic support), Pascal Edelmann (provided mass loss data), Werner Borken (provided mass loss data), all authors (commented and reviewed the manuscript).

Supplementary material

Supplementary material is available at *The ISME Journal* online.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work was funded by the DFG Priority Program 1374 "Biodiversity- Exploratories" (HO 1961/6-3, KE 1742/2-3, NO 834/5-4, JE 724/7-4, BU 941/26-3). The amplicon sequencing results were computed in part at the High-Performance Computing (HPC) Cluster EVE, a joint effort of both the Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) (<http://www.ufz.de/>) and the German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv) Halle-Jena-Leipzig (<http://www.idiv-biodiversity.de/>).

Data availability

Mass spectrometry-based metaproteomic data are available at PRoteomics IDentifications (PRIDE) under accession number PXD041962 (<https://www.ebi.ac.uk/pride/>). The experimental metadata (DOI: 10.1038/s41467-021-26111-3) were generated using lesSDRF (DOI: 10.1038/s41467-023-42543-5) and are also available on PRIDE. Annotated metaproteomic data and amplicon OTU tables are available at BExIS under accession numbers 31417 for metaproteomic and 31456 for amplicon sequencing (<https://www.bexis.uni-jena.de/>). The mass loss data are available under accession number 27126 in BExIS. Raw amplicon sequencing data were submitted in the Short Read Archive (NCBI SRA) under BioProject number PRJNA756463 (SAMN20956281–SAMN20956430).

References

- Hettich RL, Sharma R, Chourey K et al. Microbial metaproteomics: identifying the repertoire of proteins that microorganisms use to compete and cooperate in complex environmental communities. *Curr Opin Microbiol* 2012;**15**:373–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.04.008>
- Bastida F, Jehmlich N, Starke R et al. Structure and function of bacterial metaproteomes across biomes. *Soil Biol Biochem* 2021;**160**:108331. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108331>
- Starke R, Morais D, Větrovský T et al. Feeding on fungi: genomic and proteomic analysis of the enzymatic machinery of bacteria decomposing fungal biomass. *Environ Microbiol* 2020;**22**:4604–19. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15183>
- Fernandes MLP, Bastida F, Jehmlich N et al. Functional soil mycobiome across ecosystems. *J Proteome* 2022;**252**:104428. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2021.104428>
- Pan Y, Birdsey RA, Fang J et al. A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science* 2011;**333**:988–93. <https://doi.org/10.1126/science.1201609>
- Baldrian P, Zrůstová P, Tláškal V et al. Fungi associated with decomposing deadwood in a natural beech-dominated forest. *Fungal Ecol* 2016;**23**:109–22. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.07.001>
- Moll J, Roy F, Bässler C et al. First evidence that nematode communities in deadwood are related to tree species identity and to co-occurring fungi and prokaryotes. *Microorganisms* 2021;**9**:1454. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071454>
- Moll J, Kellner H, Leonhardt S et al. Bacteria inhabiting deadwood of 13 tree species are heterogeneously distributed between sapwood and heartwood. *Environ Microbiol* 2018;**20**:3744–56. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14376>
- Seibold S, Müller J, Baldrian P et al. Fungi associated with beetles dispersing from dead wood – Let's take the beetle bus! *Fungal Ecol* 2019;**39**:100–8. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.11.016>
- Kahl T, Arnstadt T, Baber K et al. Wood decay rates of 13 temperate tree species in relation to wood properties, enzyme activities and organismic diversities. *For Ecol Manag* 2017;**391**: 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.012>
- Leonhardt S, Hoppe B, Stengel E et al. Molecular fungal community and its decomposition activity in sapwood and heartwood of 13 temperate European tree species. *PLoS One* 2019;**14**:e0212120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212120>
- Yang S, Poorter L, Kuramae EE et al. Stem traits, compartments and tree species affect fungal communities on decaying wood. *Environ Microbiol* 2022;**24**:3625–39. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15953>
- Lundell TK, Mäkelä MR, de Vries RP et al. Chapter eleven - genomics, lifestyles and future prospects of wood-decay and litter-decomposing basidiomycota. In: Martin FM (eds). *Advances in Botanical Research*, Vol. 70, Academic Press, London, 2014, 329–70.
- Stokland JN, Siitonen J, Jonsson BG. *Biodiversity in Dead Wood*. Cambridge University Press, Cambridge, 2012.
- Floudas D, Binder M, Riley R et al. The paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science* 2012;**336**:1715–9. <https://doi.org/10.1126/science.1221748>
- Riley R, Salamov AA, Brown DW et al. Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proc Natl Acad Sci* 2014;**111**:9923–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400592111>
- Ruiz-Dueñas FJ, Barrasa JM, Sánchez-García M et al. Genomic analysis enlightens agaricales lifestyle evolution and increasing peroxidase diversity. *Mol Biol Evol* 2021;**38**:1428–46. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa301>
- Couturier M, Ladevèze S, Sulzenbacher G et al. Lytic xylan oxidases from wood-decay fungi unlock biomass degradation. *Nat Chem Biol* 2018;**14**:306–10. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2558>
- Martínez AT, Camarero S, Ruiz-Dueñas FJ et al. Biological lignin degradation. In: Beckham GT (eds). *Lignin Valorization: Emerging*

- Approaches, Vol. 19, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2018, 199.
20. Arantes V, Jellison J, Goodell B. Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012;**94**:323–38. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3954-y>
 21. Valášková V, Baldrian P. Degradation of cellulose and hemicelluloses by the brown rot fungus *Piptoporus betulinus* – production of extracellular enzymes and characterization of the major cellulases. *Microbiology* 2006;**152**:3613–22. <https://doi.org/10.1099/mic.0.29149-0>
 22. Liers C, Ullrich R, Steffen KT et al. Mineralization of ¹⁴C-labelled synthetic lignin and extracellular enzyme activities of the wood-colonizing ascomycetes *Xylaria hypoxylon* and *Xylaria polymorpha*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006;**69**:573–9. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0010-1>
 23. Drula E, Garron M-L, Dogan S et al. The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. *Nucleic Acids Res* 2022;**50**:D571–7. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1045>
 24. Marinovic M, Di Falco M, Aguilar Pontes MV et al. Comparative analysis of enzyme production patterns of lignocellulose degradation of two white rot fungi: *Obba rivulosa* and *Gelatoporia subvermispora*. *Biomol Ther* 2022;**12**:1017. <https://doi.org/10.3390/biom12081017>
 25. Boddy L. Fungal community ecology and wood decomposition processes in angiosperms: from standing tree to complete decay of coarse woody debris. *Ecol Bull* 2001;**49**:43–56.
 26. Boddy L, Hiscox J. Fungal ecology: principles and mechanisms of colonization and competition by saprotrophic fungi. *Microbiol Spectr* 2016;**4**:4–6. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0019-2016>
 27. Fukasawa Y, Osono T, Takeda H. Dynamics of physicochemical properties and occurrence of fungal fruit bodies during decomposition of coarse woody debris of *Fagus crenata*. *J For Res* 2009;**14**:20–9. <https://doi.org/10.1007/s10310-008-0098-0>
 28. Purahong W, Wubet T, Krüger D et al. Molecular evidence strongly supports deadwood-inhabiting fungi exhibiting unexpected tree species preferences in temperate forests. *ISME J* 2018;**12**:289–95. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.177>
 29. Purahong W, Wubet T, Lentendu G et al. Determinants of deadwood-inhabiting fungal communities in temperate forests: molecular evidence from a large scale deadwood decomposition experiment. *Front Microbiol* 2018;**9**:2120. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02120>
 30. Allison SD, Martiny JBH. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proc Natl Acad Sci* 2008;**105**:11512–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
 31. Louca S, Polz MF, Mazel F et al. Function and functional redundancy in microbial systems. *Nat Ecol Evol* 2018;**2**:936–43. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
 32. Glassman SI, Weihe C, Li J et al. Decomposition responses to climate depend on microbial community composition. *Proc Natl Acad Sci* 2018;**115**:11994–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811269115>
 33. Wohl DL, Arora S, Gladstone JR. Functional redundancy supports biodiversity and ecosystem function in a closed and constant environment. *Ecology* 2004;**85**:1534–40. <https://doi.org/10.1890/03-3050>
 34. Fischer M, Bossdorf O, Gockel S et al. Implementing large-scale and long-term functional biodiversity research: the Biodiversity Exploratories. *Basic Appl Ecol* 2010;**11**:473–85. <https://doi.org/10.1016/j.baee.2010.07.009>
 35. Edelmann P, Weisser WW, Ambarlı D et al. Regional variation in deadwood decay of 13 tree species: effects of climate, soil and forest structure. *For Ecol Manag* 2023;**541**:121094. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121094>
 36. Moll J, Heintz-Buschart A, Bässler C et al. Amplicon sequencing-based bipartite network analysis confirms a high degree of specialization and modularity for fungi and prokaryotes in deadwood. *mSphere* 2021;**6**:e00856–20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00856-20>
 37. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 2016;**13**:581–3. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
 38. Weißbecker C, Schnabel B, Heintz-Buschart A. Dadasnake, a Snakemake implementation of DADA2 to process amplicon sequencing data for microbial ecology. *GigaScience* 2020;**9**:giaa135. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa135>
 39. Rieker D, Krah F-S, Gossner MM et al. Disentangling the importance of space and host tree for the beta-diversity of beetles, fungi, and bacteria: lessons from a large dead-wood experiment. *Biol Conserv* 2022;**268**:109521. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109521>
 40. Rognes T, Flouri T, Nichols B et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 2016;**4**:e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
 41. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 2009;**75**:7537–41. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
 42. UNITE C. UNITE General FASTA Release for Fungi. Version 18.11.2018. UNITE Community, 2019. <https://doi.org/10.1515/BIO/786343>
 43. Pölme S, Abarenkov K, Henrik Nilsson R et al. FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Divers* 2020;**105**:1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>
 44. Kipping L, Holzschek N, Maurer F et al. Microbial metaproteome data from decayed beech dead wood. *Data Brief* 2020;**29**:105285. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105285>
 45. Petruschke H, Schori C, Canzler S et al. Discovery of novel community-relevant small proteins in a simplified human intestinal microbiome. *Microbiome* 2021;**9**:55. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00981-z>
 46. Käll L, Canterbury JD, Weston J et al. Semi-supervised learning for peptide identification from shotgun proteomics datasets. *Nat Methods* 2007;**4**:923–5. <https://doi.org/10.1038/nmeth1113>
 47. Schallert K, Verschaffelt P, Mesuere B et al. Pout2Prot: an efficient tool to create protein (sub)groups from percolator output files. *J Proteome Res* 2022;**21**:1175–80. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00685>
 48. Schiebenhoefer H, Schallert K, Renard BY et al. A complete and flexible workflow for metaproteomics data analysis based on MetaProteomeAnalyzer and ProPhane. *Nat Protoc* 2020;**15**:3212–39. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0368-7>
 49. Zheng J, Ge Q, Yan Y et al. dbCAN3: automated carbohydrate-active enzyme and substrate annotation. *Nucleic Acids Res* 2023;**51**:W115–21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad328>
 50. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2022.
 51. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, 2nd edn. Springer, Cham, 2016.

52. Oksanen J, Simpson G, Blanchet F et al. *Vegan: Community Ecology Package*, R Package Version 2.6-4, 2022. <https://github.com/vegandevs/vegan>
53. Bates D, Mächler M, Bolker B et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Search PubMed* 2015;**67**:48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
54. Pavoiné S. adiv: An R package to analyse biodiversity in ecology. *Methods Ecol Evol* 2020;**11**:1106–12. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13430>
55. Ricotta C, de Bello F, Moretti M et al. Measuring the functional redundancy of biological communities: a quantitative guide. *Methods Ecol Evol* 2016;**7**:1386–95. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12604>
56. Grigoriev IV, Nikitin R, Haridas S et al. MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic Acids Res* 2014;**42**:D699–704. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>
57. Büttner E, Liers C, Hofrichter M et al. Draft genome sequence of *Xylaria hypoxylon* DSM 108379, a ubiquitous fungus on hardwood. *Microbiol Resour Announc* 2019;**8**:e00845–19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00845-19>
58. Büttner E, Gebauer AM, Hofrichter M et al. Draft genome sequence of the wood-degrading ascomycete *Kretzschmaria deusta* DSM 104547. *Genome Announc* 2017;**5**:e01076–17. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01076-17>
59. Reina R, Kellner H, Hess J et al. Genome and secretome of *Chondrostereum purpureum* correspond to saprotrophic and phytopathogenic life styles. *PLoS One* 2019;**14**:e0212769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212769>
60. Sahu N, Indic B, Wong-Bajracharya J et al. Vertical and horizontal gene transfer shaped plant colonization and biomass degradation in the fungal genus *Armillaria*. *Nat Microbiol* 2023;**8**:1668–81. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01448-1>
61. Coetzee MPA, Wingfield BD, Wingfield MJ. *Armillaria* root-rot pathogens: species boundaries and global distribution. *Pathogens* 2018;**7**:83. <https://doi.org/10.3390/pathogens7040083>
62. Sipos G, Prasanna AN, Walter MC et al. Genome expansion and lineage-specific genetic innovations in the forest pathogenic fungi *Armillaria*. *Nat Ecol Evol* 2017;**1**:1931–41. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0347-8>
63. Smith ML, Bruhn JN, Anderson JB. The fungus *Armillaria bulbosa* is among the largest and oldest living organisms. *Nature* 1992;**356**:428–31. <https://doi.org/10.1038/356428a0>
64. Lumbsch HT, Buchanan PK, May TW et al. Phylogeography and biogeography of fungi. *Mycol Res* 2008;**112**:423–4. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.02.002>
65. Wu Q, Mueller GM. Biogeographic relationships between the macrofungi of temperate eastern Asia and eastern North America. *Can J Bot* 1997;**75**:2108–16. <https://doi.org/10.1139/b97-922>
66. Hofrichter M. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzym Microb Technol* 2002;**30**:454–66. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00528-2](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00528-2)
67. Arnstadt T, Hoppe B, Kahl T et al. Patterns of laccase and peroxidases in coarse woody debris of *Fagus sylvatica*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris* and their relation to different wood parameters. *Eur J For Res* 2016;**135**:109–24. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0920-0>
68. Noll L, Leonhardt S, Arnstadt T et al. Fungal biomass and extracellular enzyme activities in coarse woody debris of 13 tree species in the early phase of decomposition. *For Ecol Manag* 2016;**378**:181–92. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.07.035>
69. Hofrichter M, Ullrich R, Pecyna MJ et al. New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010;**87**:871–97. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2633-0>
70. Hofrichter M, Lundell T, Hatakka A. Conversion of milled pine wood by manganese peroxidase from *Phlebia radiata*. *Appl Environ Microbiol* 2001;**67**:4588–93. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4588-4593.2001>
71. Hofrichter M, Vares T, Kalsi M et al. Production of manganese peroxidase and organic acids and mineralization of 14C-labelled lignin (14C-DHP) during solid-state fermentation of wheat straw with the white rot fungus *Nematoloma frowardii*. *Appl Environ Microbiol* 1999;**65**:1864–70. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.5.1864-1870.1999>
72. Baldrian P. Fungal laccases – occurrence and properties. *FEMS Microbiol Rev* 2006;**30**:215–42. <https://doi.org/10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x>
73. Leonowicz A, Cho N, Luterek J et al. Fungal laccase: properties and activity on lignin. *J Basic Microbiol* 2001;**41**:185–227. [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200107\)41:3/4<185::AID-JOB-M185>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200107)41:3/4<185::AID-JOB-M185>3.0.CO;2-T)
74. Kellner H, Luis P, Pecyna MJ et al. Widespread occurrence of expressed fungal secretory peroxidases in forest soils. *PLoS One* 2014;**9**:e95557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095557>
75. Dimarogona M, Topakas E, Christakopoulos P. Cellulose degradation by oxidative enzymes. *Comput Struct Biotechnol J* 2012;**2**:e201209015. <https://doi.org/10.5936/csbj.201209015>
76. Tandrup T, Frandsen KEH, Johansen KS et al. Recent insights into lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs). *Biochem Soc Trans* 2018;**46**:1431–47. <https://doi.org/10.1042/BST20170549>
77. Kracher D, Ludwig R. Cellobiose dehydrogenase: an essential enzyme for lignocellulose degradation in nature – a review/ Cellobiosedehydrogenase: Ein essentielles Enzym für den Lignozelluloseabbau in der Natur – Eine Übersicht. *Bodenkult J Land Manag Food Environ* 2016;**67**:145–63. <https://doi.org/10.1515/boku-2016-0013>
78. Courtade G, Wimmer R, Röhr AK et al. Interactions of a fungal lytic polysaccharide monooxygenase with β -glucan substrates and cellobiose dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci* 2016;**113**:5922–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1602566113>
79. Csarman F, Wohlschlager L, Ludwig R. Chapter fifteen - cellobiose dehydrogenase. In: Chaiyen P, Tamanoi F (eds). *The Enzymes*. Vol. 47 Academic Press, Cambridge, 2020, 457–89.
80. Wang Z, Feng S, Rovira C et al. How oxygen binding enhances long-range electron transfer: lessons from reduction of lytic polysaccharide monooxygenases by cellobiose dehydrogenase. *Angew Chem Int Ed* 2021;**60**:2385–92. <https://doi.org/10.1002/anie.202011408>
81. Kont R, Bissaro B, Eijssink VGH et al. Kinetic insights into the peroxigenase activity of cellulose-active lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs). *Nat Commun* 2020;**11**:5786. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19561-8>
82. Kipping L, Maurer F, Gossner MM et al. Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats. *Front For Glob Change* 2022;**5**:1020737. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.1020737>
83. Hoppe B, Purahong W, Wubet T et al. Linking molecular deadwood-inhabiting fungal diversity and community dynamics to ecosystem functions and processes in central European forests. *Fungal Divers* 2016;**77**:367–79. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0341-x>
84. Fukasawa Y, Matsukura K. Decay stages of wood and associated fungal communities characterise diversity-decomposition relationships. *Sci Rep* 2021;**11**:8972. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88580-2>
85. Rajala T, Peltoniemi M, Pennanen T et al. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying

- Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiol Ecol* 2012;**81**:494–505. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01376.x>
86. Wagg C, Schlaeppi K, Banerjee S et al. Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning. *Nat Commun* 2019;**10**:4841. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12798-y>
87. Kahl T, Baber K, Otto P et al. Drivers of CO₂ emission rates from dead wood logs of 13 tree species in the initial decomposition phase. *Forests* 2015;**6**:2484–504. <https://doi.org/10.3390/f6072484>
88. Mascarenhas R, Ruziska FM, Moreira EF et al. Integrating computational methods to investigate the macroecology of microbiomes. *Front Genet* 2020;**10**:1344. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01344>
89. Purahong W, Wubet T, Kahl T et al. Increasing N deposition impacts neither diversity nor functions of deadwood-inhabiting fungal communities, but adaptation and functional redundancy ensure ecosystem function. *Environ Microbiol* 2018;**20**:1693–710. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14081>
90. Louca S, Parfrey LW, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science* 2016;**353**:1272–7. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>
91. Arnstadt T, Hoppe B, Kahl T et al. Dynamics of fungal community composition, decomposition and resulting deadwood properties in logs of *Fagus sylvatica*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *For Ecol Manag* 2016;**382**:129–42. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.10.004>
92. Maynard DS, Bradford MA, Covey KR et al. Consistent trade-offs in fungal trait expression across broad spatial scales. *Nat Microbiol* 2019;**4**:846–53. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0361-5>
93. Biggs CR, Yeager LA, Bolser DG et al. Does functional redundancy affect ecological stability and resilience? A review and meta-analysis. *Ecosphere* 2020;**11**:e03184. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3184>
94. Hage H, Rosso M-N. Evolution of fungal carbohydrate-active enzyme portfolios and adaptation to plant cell-wall polymers. *J Fungi* 2021;**7**:185. <https://doi.org/10.3390/jof7030185>

1 **Supplementary information**

2 **Enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi that degrade temperate tree species**

3 Authors: Lydia Kipping^{1,2}, Nico Jehmlich¹, Julia Moll³, Matthias Noll^{2,4}, Martin M. Gossner^{5,6}, Tim Van Den
4 Bossche^{7,8}, Pascal Edelmann⁹, Werner Borken⁴, Martin Hofrichter¹⁰, Harald Kellner^{10*}

5

6 ¹Helmholtz-Centre for Environmental Research - UFZ GmbH, Department of Toxicology, Leipzig, Germany

7 ²Institute for Bioanalysis, University of Applied Sciences Coburg, Coburg, Germany

8 ³Helmholtz Centre for Environmental Research—UFZ GmbH, Department of Soil Ecology, Halle, Germany

9 ⁴Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), University of Bayreuth, Bayreuth,
10 German

11 ⁵Forest Entomology, Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland

12 ⁶Department of Environmental Systems Science, Institute of Terrestrial Ecosystems, ETH Zürich, Zürich,
13 Switzerland

14 ⁷VIB - UGent Center for Medical Biotechnology, VIB, Ghent, Belgium

15 ⁸Department of Biomolecular Medicine, Faculty of Medicine and Health Sciences, Ghent University,
16 Ghent, Belgium

17 ⁹Department of Ecology and Ecosystem Management, Center of School of Life and Food Sciences
18 Weihenstephan, TU München, Freising, Germany

19 ¹⁰Department of Bio- and Environmental Sciences, International Institute Zittau, TU Dresden, Zittau,
20 Germany

21

22 *** Correspondence: Harald Kellner, E-Mail: harald.kellner@tu-dresden.de**

23 **Supplements:**

- 24 - Supplementary methods
- 25 - 9 Supplementary tables
- 26 - 13 Supplementary figures

27

28 **1. Supplementary methods**

29 **Protein extraction and sample preparation for mass spectrometric analysis**

30 The collected wood chips were handled according to a previously described procedure [44]. Initially, the
31 wood chips were roughly sliced with a blade and then homogenized to a fine powder with an analytical
32 mill (IKA A11 basic, IKA grinder) using liquid nitrogen. 5 g of wood powder were transferred into 50 mL
33 tubes for cell lysis with 20 mL sodium dodecyl sulfate (SDS) buffer (5% (w/v) SDS, 20 mM DTT, 100 mM
34 Tris). After rotation overnight, three thaw-freeze cycles and ultrasonication (UP50H, Hielscher, Teltow,
35 Germany) were applied. Next, the supernatant was collected for protein extraction, and 5 mL phenolic
36 extraction buffer was added. The mixture was shaken for 30 minutes at room temperature, and the
37 phases were separated by centrifugation ($7,200 \times g$, 10 min, 4°C). After transferring the phenolic phase
38 into a new 50 mL tube, the extraction procedure was repeated, and the resulting phenolic phases
39 pooled in one tube. Extracted proteins were precipitated overnight at -20°C in precipitation solution (4-
40 fold of 100 mM ammonium acetate in methanol) and harvested by centrifugation ($7,200 \times g$, 10 min,
41 4°C). The remaining protein pellets were washed three times with 1 mL precipitation solution and finally
42 once with 1 mL ice-cold acetone. Then, the dried pellets were dissolved in SDS sample buffer (2% w/v
43 SDS, 2 mM β -mercaptoethanol, 4% v/v glycerol, 40 mM Tris-HCl pH 6.8, 0.01% (w/v) bromophenol
44 blue), heated to 90°C for 4 min and separated by SDS polyacrylamide gel electrophoresis. The protein
45 bands were cut from the gel, destained, dehydrated, and proteolytically cleaved with trypsin (Promega)
46 at 37°C overnight. The digested peptides were extracted and desalted using ZipTip- μC18 tips (Merck
47 Millipore, Darmstadt, Germany).

48 **Mass spectrometric measurement**

49 Peptide lysates were resuspended in 0.1% formic acid prior to injection into nanoHPLC (UltiMate 3000
50 RSLCnano, Dionex, Thermo Fisher Scientific). First, 5 μL lysate was trapped in a C18 reverse-phase

trapping column (C18 PepMap100, 300 $\mu\text{m} \times 5 \text{ mm}$, particle size 3 μm , Thermo Fischer Scientific) for 5 min at 4% mobile phase B (80% acetonitrile in nanopure water with 0.08% formic acid) and 96% mobile phase A (nanopure water with 0.1% formic acid). Then, the peptides were separated by a C18 reverse-phase analytical column (Acclaim PepMap[®] 100, 75 $\mu\text{m} \times 25 \text{ cm}$, particle size 3 μm , nanoViper, Thermo Fischer Scientific) with a two-step gradient (90 min, 4% solvent B to 30% B, followed by 30 min from 30% B to 55% B; solvent A: 0.1% formic acid; solvent B: 80% acetonitrile, 0.1% formic acid) at 300 nL/min flow rate and a column temperature of 35°C [45]. Subsequent mass spectrometric analysis of the eluted peptides was performed on a Q Exactive HF mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) coupled with a TriVersa NanoMate source (Advion, Ltd., Harlow, UK) in LC chip coupling mode. The ionization and mass spectrometric settings are previously described (see Supplementary section [45]).

Metaproteomic data analysis

The acquired MS/MS spectra were searched against the constructed fungal database using Sequest HT (Proteome Discoverer, v2.5; Thermo Scientific). To investigate wood-inhabiting and associated fungi, the constructed database included data from 90 fungal genomes (merged amino acid fasta file), differentiated into 84 fungal taxa representing 50 fungal genera (**Supplementary File 1**, “*Fasta-fungi_information.xlsx*”). The selection was based on the most abundant species identified from the tailored amplicon sequencing study, their presence in a previous study conducted in the same geographical region [11], and our knowledge of common wood-associated fruiting bodies in these temperate forests [39]. To improve annotation accuracy, our database incorporates protein data from contaminants, tree species (UniProt release August 2021), and the most abundant bacteria (UniProt release January 2021) (**Supplementary File 2**, “*Fasta_TaxonID_bacteria_tree-species.csv*”).

Search settings were as follows: enzyme specificity set for trypsin (Full) or Asp-N (Full) with up to two missed cleavages, a precursor mass tolerance of 10 ppm, and a fragment mass tolerance of 0.02 Da

75 MS/MS. Carbamidomethylation of cysteines was specified as a fixed modification. False discovery rates
76 (FDR) were determined using *Percolator* [46]. The proteins were filtered according to high confidence
77 <0.01 FDR and further processed using *Pout2Prot* [47]. Therefore, we removed proteins from the list of
78 identified proteins assigned to tree species and common laboratory contaminants such as keratins or
79 trypsin. Only proteins assigned to fungi and prokaryotes were further processed in this study using
80 *Pout2Prot* [47] to perform protein grouping. The output list was imported into the open-source software
81 *Prophane* [48] for taxonomic and functional assignment of the protein groups. The protein groups (PG)
82 were searched against the NCBI database for taxonomic annotation and the EggNOG (v5.0) and
83 CAZy/dbCAN database for functional annotation. Annotations were based on the lowest common
84 ancestor approach (setting 0.6) per protein group. The protein group abundance quantification was
85 done by the normalized spectral abundance factor (NSAF) calculated from peptide spectral matches
86 (PSMs).

87 In the study, 109,305 protein groups were annotated, 97,490 of which were assigned to fungi and
88 11,476 to prokaryotes (**Supplementary Table S3**). Since further analysis focused on deadwood-
89 inhabiting and associated fungi, the dataset was separated and only used for fungi (97,490 protein
90 groups) in all following analyses. The Prophane-based NCBI annotations were additionally checked
91 against JGI (<https://genome.jgi.doe.gov>), and the taxonomy was manually edited if necessary.
92 Functional annotation focused on putative main extracellular enzymes involved in lignocellulolysis (i.e.,
93 direct or indirect participation in the degradation and/or chemical modification of lignin, cellulose,
94 hemicelluloses (mainly xylan, glucomannan)), which were categorized according to the CAZy database
95 and the substrates they act on [23]. These included enzymes that act on “lignin and related/derived
96 aromatics” (laccase AA1 and several class-II peroxidases PODs/AA2, unspecific peroxygenase UPO, dye-
97 decolorizing peroxidase DyP), enzymes that are “lignocellulose associated” (i.e., H₂O₂-producing
98 oxidoreductases, mostly oxidases of the CAZyme class AA3: (aryl) alcohol oxidase, pyranose 2-oxidase)

99 as well as enzymes attacking “cellulose” (cellobiose dehydrogenase CDH, β -glucosidase GH3 and
 100 GH5_22, cellobiohydrolase GH6, GH7, endoglucanase GH5_5, and GH45, LPMO AAs 9, 10 and 15) and
 101 “hemicelluloses”, e.g. xylan/glucomannan (β -xylosidase GH3, mannanase GH5_7, xylanase GH10, GH11,
 102 xyloglucanase GH74, acetyl xylan/feruloyl esterase CE1, and acetylesterase CE16) (**Supplementary Table**
 103 **S2**). These enzymes, which were assigned to a protein group based on the *Prophane* search, were cross-
 104 validated for their functional characteristics based on inspection of their amino acid sequence and a NJ-
 105 phylogenetic analysis using Clustal Omega 1.2.2 [95] for alignment (**Supplementary File 2**, “CAZymes.
 106 *fasta*”). In addition, the GH3 and GH5 enzymes were also annotated and separated into subclasses using
 107 dbCAN3 [49] with default settings (dbCAN HMMdb v12, E-Value < 1e-15, coverage > 0.35).

108

109 **2. Supplementary tables**

110 *Supplement Table S1. Number of samples of 12 temperate tree species available in the field and number of final samples for*
 111 *subsequent analysis by metaproteomics and amplicon sequencing. Due to losses in laboratory handling and subsequent*
 112 *processing, a total of 127 wood samples were used for the analyses. Due to scarcity, Prunus included only eight replicates, whereas*
 113 *all other 11 tree species included 10 to 12 replicates each.*

Tree species	Logs available in the field	Samples with metaproteome result
Angiosperm:		
<i>Acer</i> spp., maple	11	10
<i>Betula pendula</i> Roth, birch	12	11
<i>Fagus sylvatica</i> L., European beech	12	10
<i>Fraxinus excelsior</i> L., European ash	11	11
<i>Populus</i> spp., aspen	12	12
<i>Prunus avium</i> L., wild cherry	8	8
<i>Quercus</i> spp., oak	12	11
<i>Tilia</i> spp., lime tree	12	11
Gymnosperm:		
<i>Larix decidua</i> Mill., European larch	11	10
<i>Picea abies</i> L., H. Karst., Norway spruce	12	10
<i>Pinus sylvestris</i> L., Scots pine	12	12
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.), Franco, Douglas fir	12	11
Sum	137	127

114

115 *Supplement Table S2. Classification and function of the analyzed lignocellulolytic CAZymes of deadwood-colonizing fungi (wood-*
 116 *rot and wood-associated fungi). *DyP and UPO have not yet been classified in the CAZy system, but were included because of their*
 117 *ability to cleave lignin model dimers and to oxidize other recalcitrant aromatics. Ligninolytic peroxidases, specifically MnP, LiP,*
 118 *and VP, occur exclusively in Basidiomycota, as do certain types of AAO. GH45 is only found in Ascomycota, while all other enzymes*
 119 *occur in Basidiomycota and Ascomycota. The GH3 family was phylogenetically and dbCAN3-based divided into β -1,4-glucosidase*
 120 *and β -1,4-xylosidase. The CAZy family GH5 was also separated into subfamilies using dbCAN3. CDH is not able to attack cellulose*
 121 *on its own but only in combination with LPMOs, which is why it is referred to as a CDH/LPMO system [77].*

Enzyme names (action on / activity towards)	EC numbers	CAZy families	Enzyme functions
Lignin and aromatics			
Laccase (p-diphenol oxidase)	1.10.3.2	AA1	Oxidation of phenolic substrates with redox potentials $E^0 < 0.8$ V (incl. phenolic lignin subunits) using O_2 as electron-accepting co-substrate, coupling of lignin fragments
Manganese peroxidase (MnP)	1.11.1.13	AA2	Oxidation of Mn^{2+} into Mn^{3+} that is chelated by dicarboxylic acids and serves as lignin-oxidizing redox mediator (E^0 0.9-1.2 V); use of H_2O_2 as electron-accepting co-substrate; lignin breakdown (depolymerization and mineralization)

6

Lignin peroxidase (LiP)	1.11.1.14	AA2	Oxidation of nonphenolic substrates (β -O-4 lignin subunits; E^0 up to 1,5 V) using H_2O_2 as electron-accepting co-substrate; lignin breakdown (depolymerization)
Versatile peroxidase (VP)	1.11.1.16	AA2	Functional hybrid of MnP, LiP, and GP; direct and indirect oxidation of phenolic and nonphenolic substrates (incl. lignin subunits) as well as of Mn^{2+} using H_2O_2 as electron-accepting co-substrate; lignin breakdown (depolymerization)
Generic peroxidase (GP)	1.11.1.7	AA2	Oxidation of phenolic substrates ($E^0 < 0.9$ V) using H_2O_2 as electron-accepting co-substrate, coupling of lignin fragments
Dye-decolorizing peroxidase	1.11.1.19	DyP*	Oxidation of phenolic and nonphenolic substrates (incl. lignin dimers, E^0 up to 1,4 V) and recalcitrant anthraquinone compounds (dyes) using H_2O_2 as co-substrate
Unspecific peroxygenase	1.11.2.1	UPO*	Oxidation and/or oxygenation of aromatic and aliphatic substrates (incl. lignin dimers, E^0 up to 1,5 V), using H_2O_2 as co-substrate (electron acceptor and oxygen source), O-demethylation
Support of lignocellulose degradation (H_2O_2 production)			
Pyranose 2-oxidase	1.1.3.10	AA3	Oxidation of pyranoses (e.g., D-glucose, D-Xylose) into corresponding sugar lactones (e.g., gluconolactone) and reduction of O_2 to H_2O_2
Aryl alcohol oxidase (AAO)	1.1.3.7	AA3	Oxidation of aryl alcohols (e.g., benzyl alcohol, veratryl alcohol) into corresponding aromatic aldehydes and reduction of O_2 to H_2O_2
Alcohol oxidase (AO)	1.1.3.13	AA3	Oxidation of primary alcohols (e.g., ethanol) into corresponding aliphatic aldehydes and reduction of O_2 to H_2O_2
Cellulose			
Cellobiose dehydrogenase (acceptor; CDH)	1.1.99.18	AA3	Oxidation of cellobiose (or other sugars) into cellobionolactone (or other sugar lactones) and reduction of O_2 (acceptor) to H_2O_2 or transfer of the electrons to other acceptors such as quinones, oxidized metal ions (e.g., Fe^{3+}) or the active site of partner enzymes (e.g., Cu^{2+} in LPMOs – then referred as CDH/LPMO system [77])
Lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs)	1.14.99.54, 1.14.99.56	AA9, 10, 15	Oxidative cleavage of cellulose chains to fragments with either C1-lactone or C4-ketoaldose moieties at the reducing and non-

			reducing ends, respectively; use of O ₂ (monooxygenase mode, under delivering of electrons, e.g., from CDH) or H ₂ O ₂ (electron acceptor & oxygen source; peroxygenase mode)
β-1,4-glucosidase, bi/multifunctional glycosidases	3.2.1.21, 3.2.1.x	GH3 subtypes e1, e16, e32, e51, e116, e147, e180, e223	Release of D-glucose units by hydrolysis of terminal β-1-4 glycosidic bonds from the non-reducing ends of cellulose chains (exocellulase activity), as well as fission of cellobiose
β-1,4-endoglucanase	3.2.1.4	GH5_5, GH5_22	Hydrolytic cleavage of β-1-4 glycosidic bonds within cellulose chains in amorphous regions (endocellulase), beside CMCase activity GH5_22 also includes β-xylosidase activity [94-96]
cellobiohydrolase (non-reducing end) (CBH), also β-1,4-endoglucanase	3.2.1.91, 3.2.1.4	GH6	Cleavage/release of cellobiose units from the non-reducing ends of cellulose chains (exocellulase); hydrolytic cleavage of β-1-4 glycosidic bonds within cellulose chains in amorphous regions (endocellulase)
Cellobiohydrolase (reducing end; CBH)	3.2.1.176	GH7	Hydrolytic cleavage/release of cellobiose units from the reducing ends of cellulose chains (exocellulase)
β-1,4-endoglucanase	3.2.1.4	GH45	Hydrolytic cleavage of β-1-4 glycosidic bonds within cellulose chains in amorphous regions (endocellulase)
Hemicelluloses (xylan, glucomannan)			
β-1,4-xylosidase	3.2.1.37	GH3 subtypes e0, e21, e73, e88	Release of D-xylose units by hydrolysis of terminal β-1-4 glycosidic bonds from the non-reducing ends of the xylan backbone and xylo-oligosaccharides (exoxylanase)
β-1,4-mannan-cleaving enzymes	3.2.1.78, 3.2.1.25	GH5_7	Hydrolytic degradation or modification of β-mannan-containing polysaccharides (β-mannosidase and endomannosidase activities)
β-1,4-endoxylanase	3.2.1.8	GH10 GH11	Hydrolytic cleavage of β-1-4 glycosidic bonds within the xylan backbone under formation of xylo-oligosaccharide fragments (endoxylanase)

Xyloglucanase (xyloglucan-specific endo- β -1,4-glucanase)	3.2.1.151	GH74	Endohydrolysis of xyloglucans under formation of xyloglucan fragments (xylogluco-oligosaccharides)
Acetyl xylan esterase; feruloyl esterase	3.1.1.72 3.1.1.73	CE1	Hydrolytic deacytation of xylans and xylo-oligosaccharides (release of acetic acid); hydrolytic cleavage and release of ferulic acid from the end of hemicellulose branches that form linkages to lignin
Acylesterase	3.1.1.6	CE16	Unspecific hydrolysis of acetyl esters (release of acetic acid)

122

123

124 *Supplement Table S3. Overview of metaproteomics and amplicon sequencing analyses performed on 127 deadwood samples from*
 125 *12 tree species in Hainich National Park and the surrounding Dün region. Includes the number of peptides and protein groups*
 126 *identified in the metaproteomics analysis for both fungi and prokaryotes. The number of operational taxonomic units (OTUs) of*
 127 *the corresponding amplicon sequencing analyses from the same samples is also listed.*

Metaproteomics	Fungi	Bacteria	Sum
Peptides	179,813	42,567	223,030
Protein groups	97,490	11,476	109,305
Amplicon sequencing	Fungi	-	-
OTUs	1,184	-	-

128

129 *Supplement Table S4. Manteltest for the comparison of amplicon sequencing and metaproteomics data matrices (abundance)*
 130 *based on fungal genera. Only fungal genera identified using both methods were used for Spearman correlation. For an overview,*
 131 *see Supplement Fig. S2.*

	Mantel statistic		Upper quantiles of permutation			
	Statistic r	Significance	90%	95%	97.5%	99%
Per Samples	0.039	0.164	0.052	0.067	0.078	0.095
Per Tree Species	0.565	4×10 ⁻⁴	0.223	0.292	0.343	0.396

132

133 *Supplement Table S5. PERMANOVA to analyze the impact of tree species, tree clade (angio- vs. gymnosperms), and forest stand*
 134 *(i.e., plot) on the fungal community composition. 127 deadwood samples from 12 tree species of the Hainich National Park and*
 135 *surrounding Dün region (12 plots) were tested by a three-way permutational multivariate analysis of variance (three-way*
 136 *PERMANOVA) based on Bray–Curtis distance for both methods. Amplicon sequencing based on the OTU abundance matrix and*
 137 *metaproteome on the fungal species abundance matrix.*

	Degrees of freedom	Sum of square	R ²	F value	p value	
Matrix: Samples * Fungi on OTU level						
Tree Species	11	14.443	0.255	3.584	0.001	***
Tree Clade	1	2.844	0.050	6.616	0.001	***
Plot ID	11	5.063	0.089	1.027	0.332	
Matrix: Samples * Lignocellulolytic fungal species (Proteome)						
Tree Species	11	4.608	0.289	4.251	0.001	***
Tree Clade	1	1.267	0.079	10.791	0.001	***
Plot ID	11	1.907	0.12	1.421	0.016	*
Matrix: Samples * Lignocellulolytic substrate-specific enzymes (Proteome)						
Tree Species	11	1.400	0.326	5.053	0.001	***
Tree Clade	1	0.353	0.082	11.203	0.001	***
Plot ID	11	0.211	0.049	0.54	0.98	

10

Supplement Table S6. Analysis of estimated mass loss for each sample based on a previously published method [35] as part of the BElongDead Experiment. To test the correlation between the estimated mass loss and tree species, tree clade (angio- vs. gymnosperms), forest stand (i.e. plot) or CAZymes (NSAF) and substrate-specific subgroups, an ANOVA based on linear model or linear mixed-effect model (tree species as random factor) was performed for the metaproteomics analysis of 127 deadwood samples from 12 tree species of the Hainich National Park and surrounding Dün region (12 plot).

	Degrees of freedom	Sum of square	Mean of square	F value	p value	
lm(Massloss ~ Tree Species, data)	11	1.367	0.123	22.97	2.2x10 ⁻¹⁶	***
lm(Massloss ~ Tree Clade, data)	1	0.463	0.463	37.79	9.9x10 ⁻⁹	***
lm(Massloss ~ Plot_ID, data)	11	0.083	0.008	0.454	0.927	
lm(Massloss ~ Sum CAZymes (NSAF), data)	1	0.124	0.124	8.246	0.00481	**
	Sum of square	Mean of Square	Numerator degrees of freedom	Denominator degrees of freedom	F value	p value
lmer(Massloss ~ Sum CAZymes (NSAF) + (1 Tree Species), data)	0.004	0.004	1	120.0	0.748	0.3888
lmer(Massloss ~ Lignin (NSAF) + (1 Tree Species), data)	6.92x10 ⁻⁷	6.92x10 ⁻⁷	1	117.0	0.0004	0.991
lmer(Massloss ~ Lignocellulose (NSAF) + (1 Tree Species), data)	0.0032	0.0032	1	118.0	0.6000	0.4401
lmer(Massloss ~ Cellulose (NSAF) + (1 Tree Species), data)	0.0028	0.0028	1	121.0	0.5110	0.4761
lmer(Massloss ~ Hemicellulose (NSAF) + (1 Tree Species), data)	0.0087	0.0087	1	117.3	1.6203	0.2056

143

Supplement Table S7. Correlation between species richness and tree species, tree clade (angio- vs. gymnosperms), forest stand (i.e., plot). ANOVA based on a linear model for the observed species richness based on OTUs of amplicon sequencing or fungal species of metaproteomics of 127 deadwood samples from the 12 tree species of the Hainich National Park and surrounding Dün region (12 plot). Prior to ANOVA, the species richness of the metaproteomics was transformed to correct its left-skewed distribution.

	Degrees of freedom	Sum of square	Mean of square	F value	p value	
Amplicon sequencing						
lm(Species Richness ~ Tree Species, data)	11	10412	946.6	4.194	3.3x10 ⁻⁵	***
lm(Species Richness ~ Tree Clade, data)	1	4027	4027	15.55	0.0001	***
lm(Species Richness ~ Plot ID, data)	11	5167	469.8	1.729	0.0756	
Metaproteome						
lm(Species Richness ~ Tree Species, data)	11	3.588	0.326	2.702	0.004	**
lm(Species Richness ~ Tree Clade, data)	1	0.039	0.039	0.281	0.597	
lm(Species Richness ~ Plot ID, data)	11	1.626	0.147	1.071	0.391	

11

149 Supplement Table S8. Effect of fungal amplicon sequencing- and metaproteomics-based species richness on the CAZymes (NSAF)
 150 and substrate-specific subgroups divided into lignin and/or other aromatics, cellulose, and hemicelluloses, or exhibit supportive
 151 activities related to lignocellulose modification and degradation (lignocellulose-associated, H₂O₂-forming). Species richness was
 152 calculated for amplicon sequencing per OTUs and metaproteomics per fungal species. Results are based on a linear mixed-effect
 153 model with tree species as a random factor and the corresponding ANOVA of 127 deadwood samples from 12 tree species of the
 154 Hainich National Park and surrounding Dün region (12 plots).

	Sum of square	Numerator degrees of freedom	Denominator degrees of freedom	F value	p value	Estimates
Sum CAZymes: Imer(species richness ~ Sum CAZymes + (1 Tree Species), data)						
Species Richness (OTU)	89193	1	125.26	3.59	0.060	-
Species Richness (Proteome)	512284	1	121.33	24.39	2.54x10 ⁻⁶	+
Lignin: Imer(species richness ~ Lignin + (1 Tree Species), data)						
Species Richness (OTU)	15301	1	125.38	5.33	0.023	-
Species Richness (Proteome)	13637	1	124.74	4.77	0.031	+
Lignocellulose: Imer(species richness ~ Lignocellulose + (1 Tree Species), data)						
Species Richness (OTU)	1209	1	125.86	0.43	0.513	-
Species Richness (Proteome)	143250	1	122.14	90.66	2.2x10 ⁻¹⁶	+
Cellulose: Imer(species richness ~ Cellulose + (1 Tree Species), data)						
Species Richness (OTU)	10410	1	123.68	1.20	0.275	-
Species Richness (Proteome)	32221	1	120.53	3.81	0.053	+
Hemicellulose: Imer(species richness ~ Hemicellulose + (1 Tree Species), data)						
Species Richness (OTU)	2345	1	124.13	4.78	0.031	-
Species Richness (Proteome)	1444	1	125.44	2.93	0.090	+

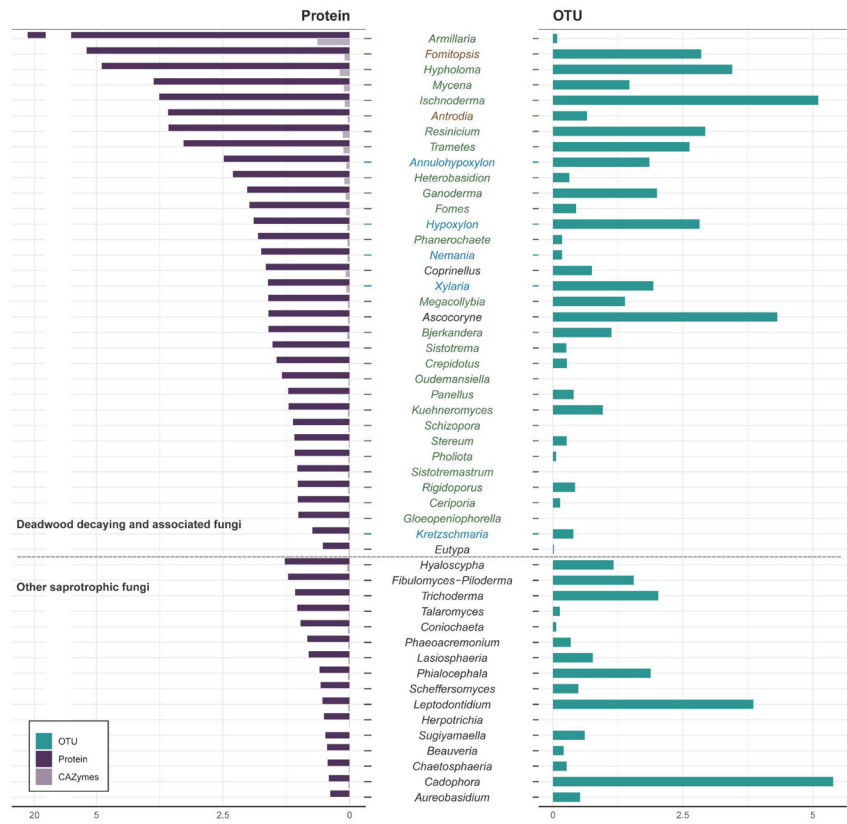
155

156

Supplement Table S9. ANOVA is based on a linear model to test the effect of tree clade and tree species on community-level functional redundancy, according to Ricotta and Pavoine [55]. Functional redundancy was calculated for all CAZymes (NSAF) as well as separately for the substrate-specific subgroups, i.e., lignin and/or other aromatics, cellulose, and hemicelluloses, or supporting activities related to lignocellulose modification and degradation (lignocellulose-associated, H₂O₂-forming).

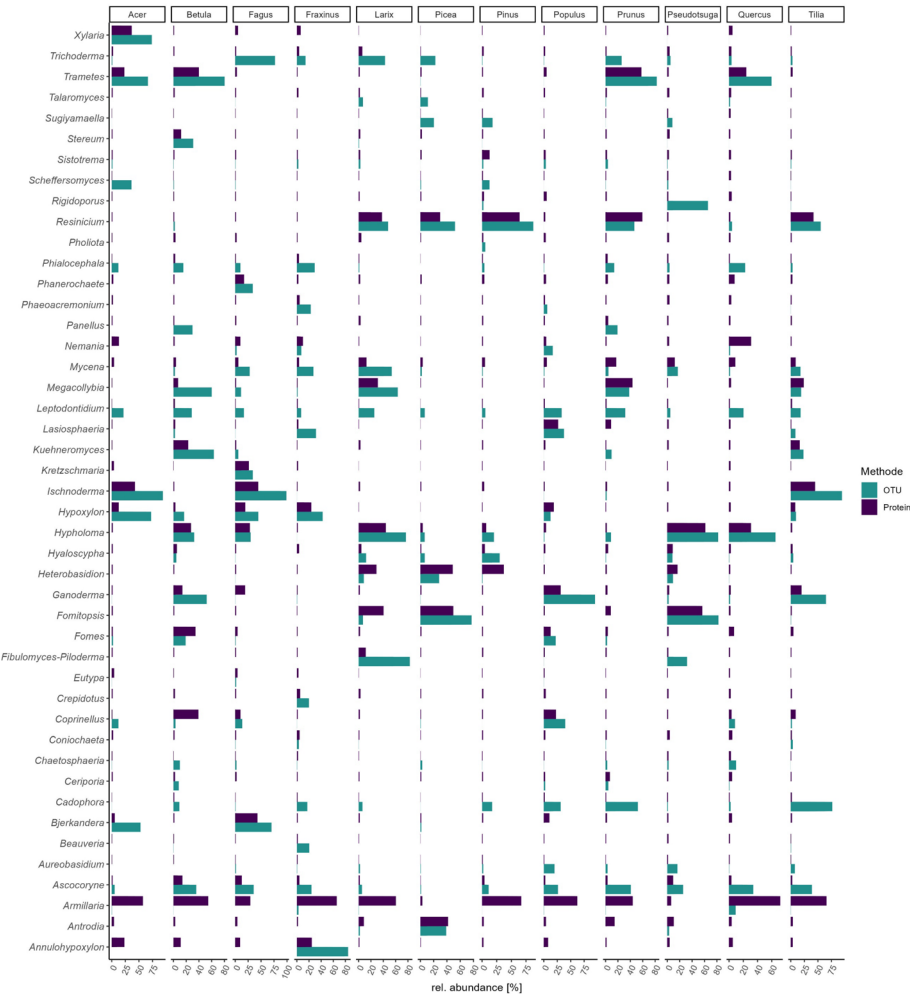
	Degrees of freedom	Sum of square	Mean of square	F value	p value	
Sum CAZyme						
lm(Functional Redundancy ~ Tree Clade, data)						
	1	0.016	0.016	10.86	0.0013	**
lm(Functional Redundancy ~ Tree Species, data)						
	11	0.058	0.005	4.37	1.8x10 ⁻⁵	***
Significant/marginal significant Coefficients						
<i>Fraxinus</i>					0.0369	*
<i>Picea</i>					0.0175	*
<i>Fagus</i>					0.0638	.
<i>Pseudotsuga</i>					0.0971	.
<i>Tilia</i>					0.0829	.
	Sum of square	Numerator degrees of freedom	Denominator degrees of freedom	F value	p value	
Lignin						
lm(Functional Redundancy ~ Tree Clade, data)						
	1	0.024	0.024	2.662	0.105	
lm(Functional Redundancy ~ Tree Species, data)						
	11	0.157	0.014	1.657	0.0927	
Lignocellulose						
lm(Functional Redundancy ~ Tree Clade, data)						
	1	0.05	0.05	9.477	0.0026	**
lm(Functional Redundancy ~ Tree Species, data)						
	11	0.2	0.018	4.024	5.6x10 ⁻⁵	***
Cellulose						
lm(Functional Redundancy ~ Tree Clade, data)						
	1	0.012	0.012	8.98	0.0033	**
lm(Functional Redundancy ~ Tree Species, data)						
	11	0.041	0.004	3.131	0.0010	***
Hemicellulose						
lm(Functional Redundancy ~ Tree Clade, data)						
	1	0.324	0.324	20.76	1.2x10 ⁻⁵	***
lm(Functional Redundancy ~ Tree Species, data)						
	11	0.499	0.0453	2.93	0.0019	**

162 3. Supplementary figures



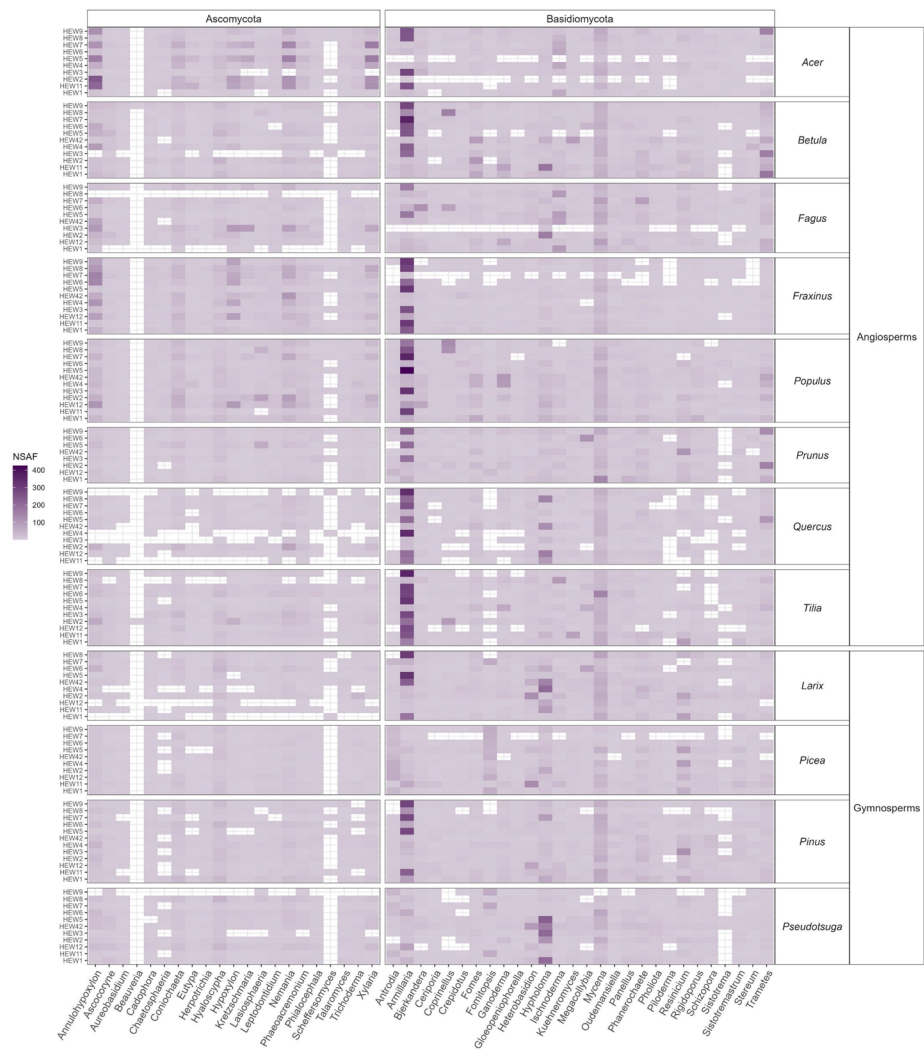
163

164 Supplement Figure S1. Comparison of 50 fungal genera based on their relative abundances in OTUs (Operational Taxonomic Units)
165 determined by amplicon sequencing (green bars) and their corresponding relative protein abundances in metaproteomics (light
166 purple bars). In addition, the relative abundances of fungi producing lignocellulolytic CAZymes are shown in light purple. White-
167 rot fungi (WRF) are shown in green, brown-rot fungi (BRF) in brown, soft-rot fungi (SRF) in blue, and other saprotrophic fungal
168 genera in black.



Supplement Figure S2. Comparison of relative abundance of selected fungal genera unique between the amplicon sequencing and metaproteomics approach. The mean relative abundance of OTU (operational taxonomic unit) or NSAF (normalized spectral abundance factor) is shown per deadwood tree species.

173

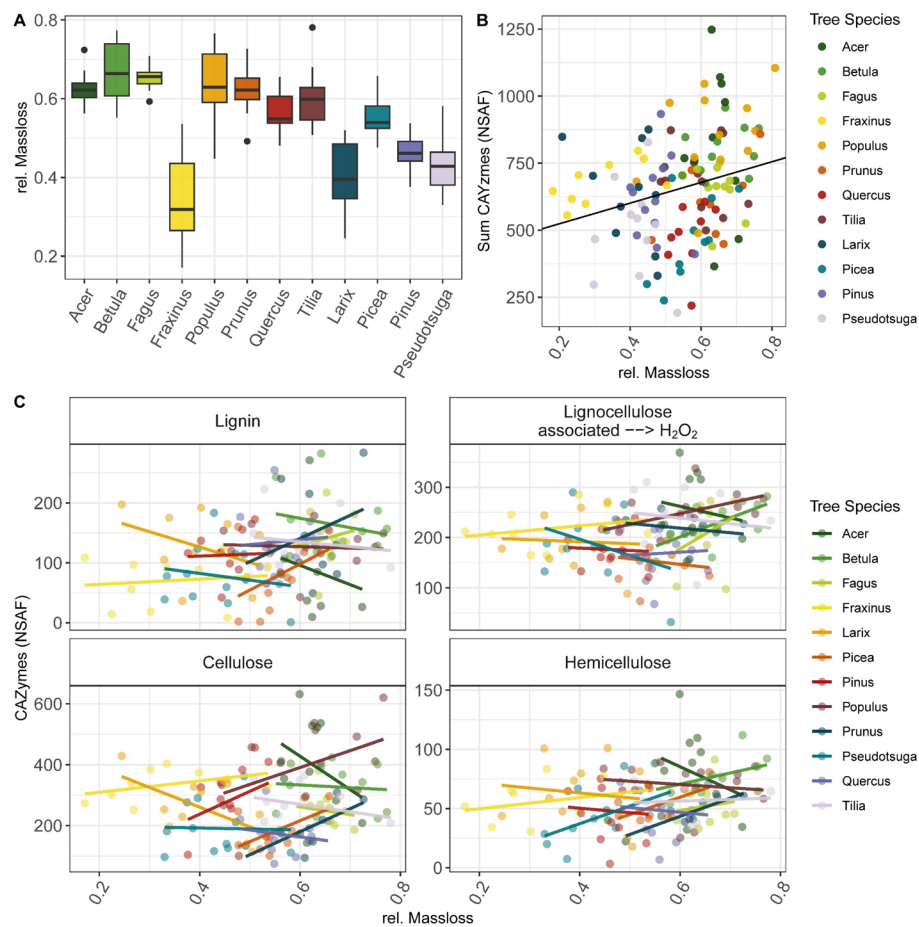


174
175
176
177
Supplement Figure S3. Heatmap showing the normalized spectral abundance factor (NSAF) of fungal genera producing lignocellulolytic CAZymes. The data include 127 deadwood samples taken from 12 tree species and 12 different plots in Hainich National Park and the surrounding D n exploratory.

178



Supplement Figure S4. Heatmap showing the normalized spectral abundance factor (NSAF) of selected fungal CAZymes that act on lignin and/or other aromatics, cellulose, and hemicelluloses, or exhibit supportive activities related to lignocellulose modification and degradation (lignocellulose-associated, H₂O₂-forming), calculated for the analyzed 127 samples in the Hainich National Park and surrounding Dün exploratory.



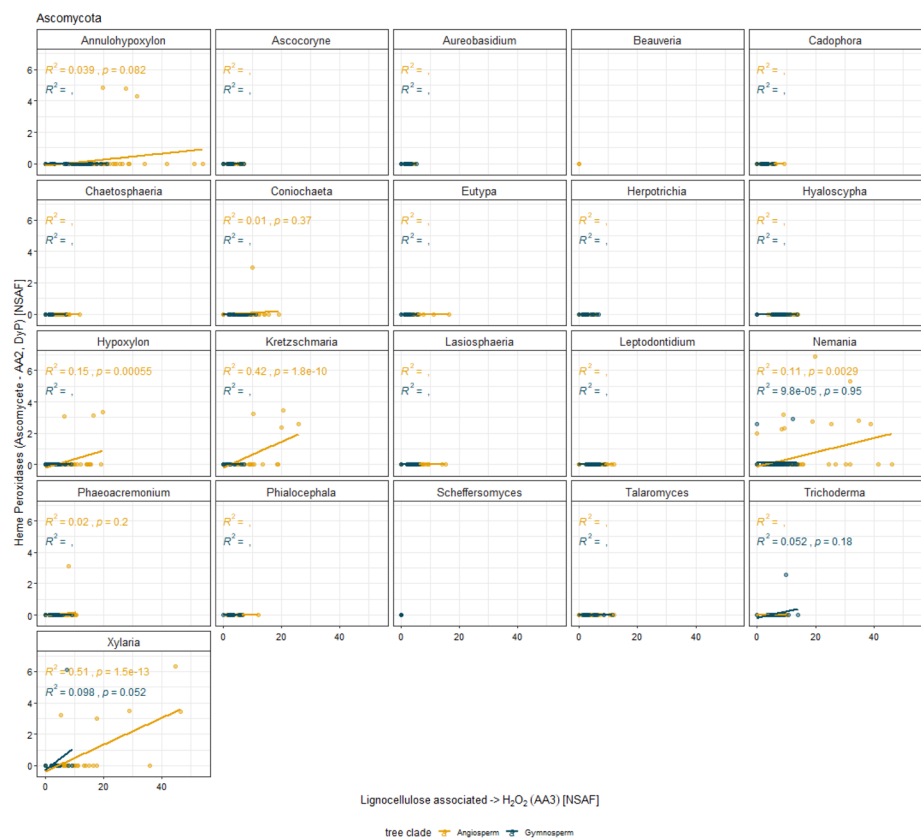
184

185 Supplement Figure S5. Analysis of estimated mass loss for each sample based on a previously published method [35] as part of
186 the BELongDead Experiment. Boxplots show the relative mass loss per tree species (A). Relationship between relative mass loss
187 and CAZymes (B) or for substrate-specific subgroups, including lignin and/or other aromatics, cellulose and hemicelluloses, or
188 exhibit supportive activities related to lignocellulose modification and degradation (lignocellulose-associated, H₂O₂-forming) were
189 performed over samples (C), separated by color for the tree species. Regression line (B) represents the slope of a linear model that
190 shows a significant interaction ($p = 0.0048$) between mass loss and CAZymes, independent of tree species. Relationship of mass
191 loss and separate per substrate-specific enzyme class (C) shows regression lines per tree species. An associated linear mixed-effect
192 model with random factor tree species does not reveal significant interaction. For details of statistical analysis, see **Supplement**
193 **Tab. S6.**



194

195 Supplement Figure S6. Correlations of lignin-related activity (peroxide-producing enzymes vs. peroxidases) of basidiomycetous
196 genera. The data points represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per
197 sample, separated by fungal genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm
198 logs (blue).

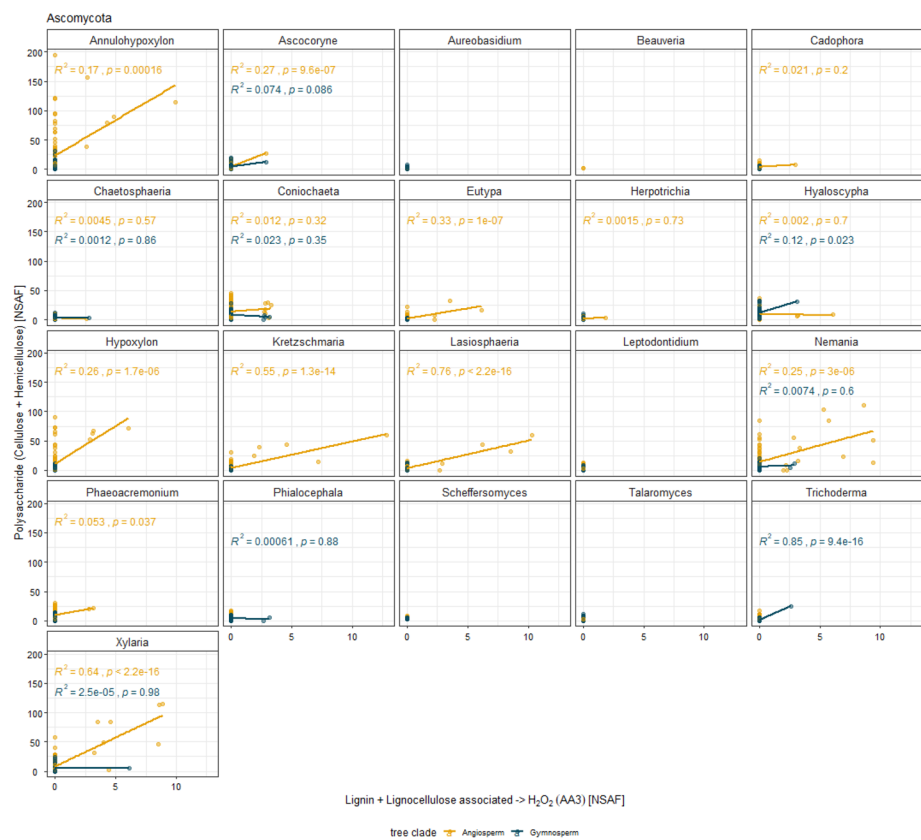


199

200 Supplement Figure S7. Correlations of lignin-related activity (peroxide-producing enzymes vs. peroxidases) of ascomycetous
201 genera. The data points represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per
202 sample, separated by fungal genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm
203 logs (blue).

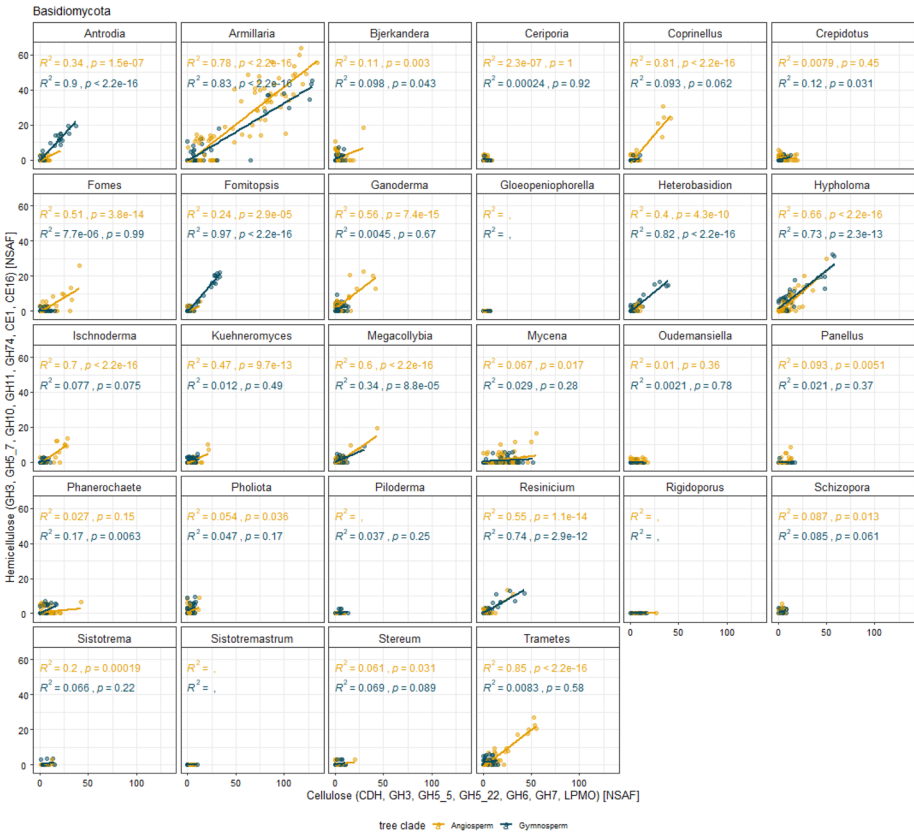


204
205 Supplement Figure S8. Correlations of enzymes modifying lignin and polysaccharides (cellulose, hemicelluloses) of
206 basidiomycetous genera. The data points represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different
207 enzymes per sample, separated by fungal genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and
208 gymnosperm logs (blue).



209

210 Supplement Figure S9. Correlations of enzymes modifying lignin and polysaccharides (cellulose, hemicelluloses) of ascomycetous
211 genera. The data points represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per
212 sample, separated by fungal genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm
213 logs (blue).

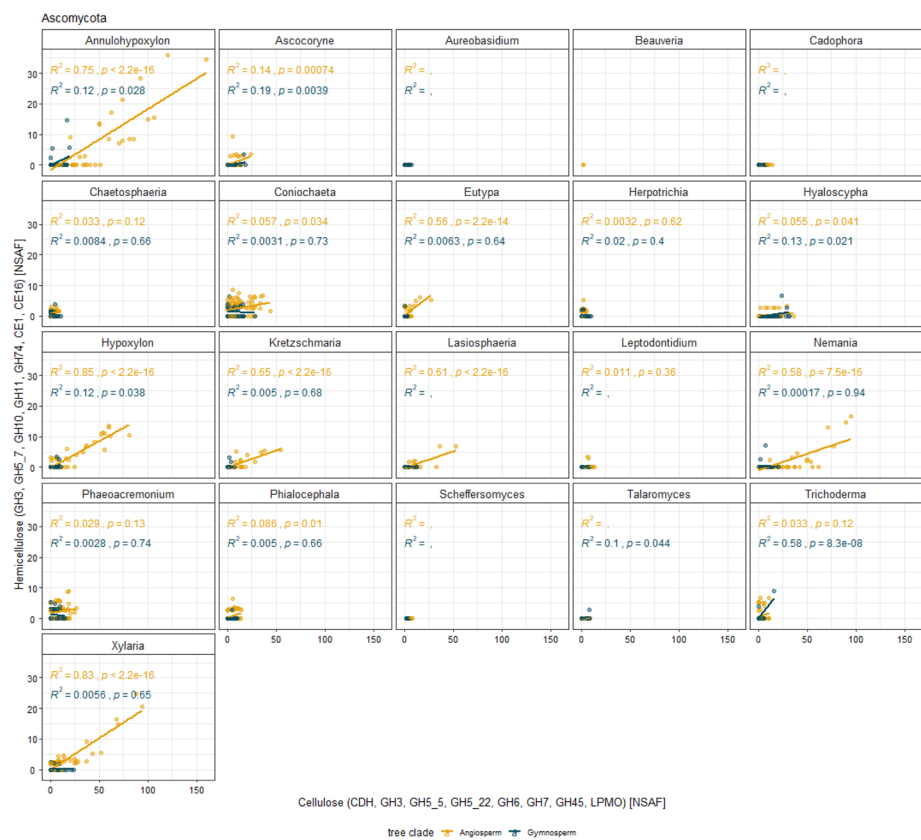


214

215 Supplement Figure S10. Correlations of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes of basidiomycetous genera. The data points

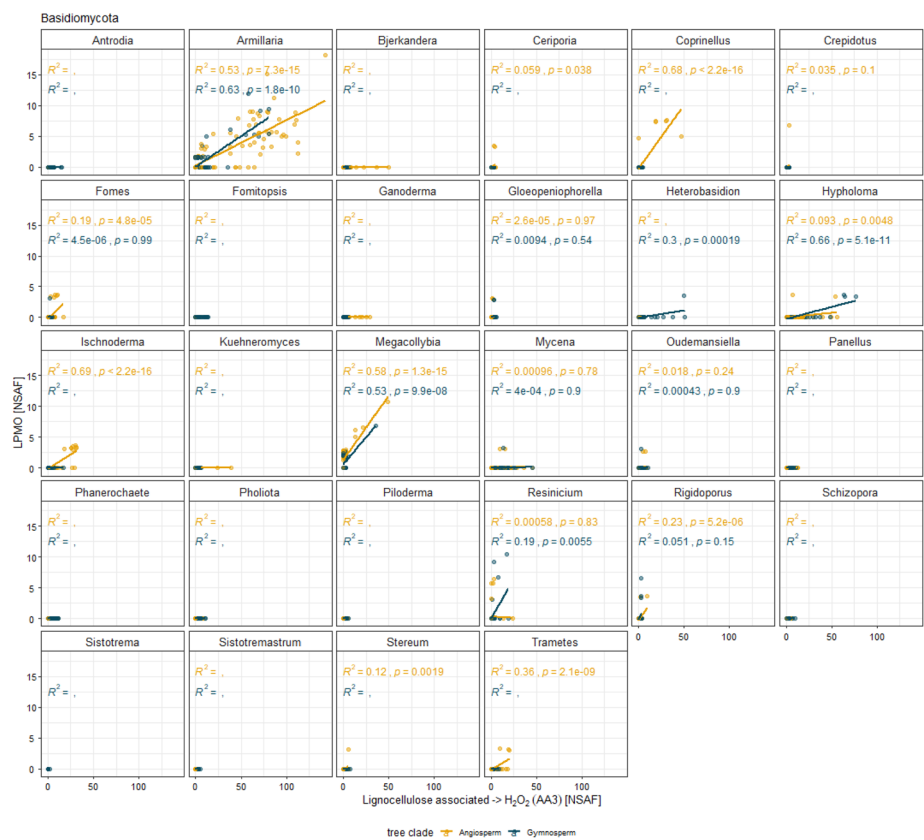
216 represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per sample, separated by fungal

217 genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm logs (blue).



218

219 Supplement Figure S11. Correlations of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes of ascomycetous genera. The data points
220 represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per sample, separated by fungal
221 genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm logs (blue).



222

223 Supplement Figure S12. Correlations of peroxide-producing (AA3) enzymes and LPMOs of basidiomycetous genera. The data points

224 represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per sample, separated by fungal

225 genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm logs (blue).



226

227 Supplement Figure S13. Correlations of peroxide-producing (AA3) enzymes and LPMOs of ascomycetous genera. The data points
228 represent the cumulative normalized spectral abundance factor (NSAF) of the different enzymes per sample, separated by fungal
229 genus and colored within the plots according to occurrence in angiosperm (yellow) and gymnosperm logs (blue).

230

231 **Supplementary references**

232 95. Sievers F, Higgins DG. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein
233 sequences. *Protein Sci.* 2018; 27:135–145.

234 96. Aspeborg H, Coutinho PM, Wang Y, Brumer H, Henrissat B. Evolution, substrate specificity and
235 subfamily classification of glycoside hydrolase family 5 (GH5). *BMC Evol Biol.* 2012; 12:186.

5.5 Auflistung aller Publikationen

Zeitschriftenartikel (Peer-Reviewed) zugehörige zur Dissertation:

- 2022 **Lydia Kipping**, Florian Maurer, Martin M. Gossner, Sarah Muszynski, Tiemo Kahl, Harald Kellner, Wolfgang W. Weisser, Nico Jehmlich, Matthias Noll (2022). *Drivers of deadwood decay of 13 temperate tree species are similar between forest and grassland habitats*. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5. Jg., S. 1020737
<https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.1020737>
- 2022 **Lydia Kipping**, Martin M. Gossner, Matthias Koschorreck, Sarah Muszynski, Florian Maurer, Wolfgang W. Weisser, Nico Jehmlich, Matthias Noll (2022). *Emission of CO₂ and CH₄ from 13 deadwood tree species is linked to tree species identity and management intensity in forest and grassland habitats*. *Global Biogeochemical Cycles*, 36. Jg., Nr. 5, S. e2021GB007143
<https://doi.org/10.1029/2021GB007143>
- 2024 **Lydia Kipping**, Nico Jehmlich, Julia Moll, Matthias Noll, Martin M Gossner, Tim Van Den Bossche, Pascal Edelmann, Werner Borken, Martin Hofrichter, Harald Kellner (2024). *Enzymatic machinery of wood-inhabiting fungi that degrade temperate tree species*. *The ISME Journal*, 18(1), wræ050.
<https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae050>

Die folgenden Zeitschriftenartikel sind nicht Bestandteil dieser Arbeit:

- 2020 **Lydia Kipping**, Nicholas Holzscheck, Florian Maurer, Sarah Muszynski, Matthias Noll, Nico Jehmlich. (2020). *Microbial metaproteome data from decayed beech dead wood*. *Data in brief*, 29, 105285
<https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105285>
- 2022 Anna-Lena Hoeger, Nico Jehmlich, **Lydia Kipping**, Carola Griehl, Matthias Noll (2022). *Associated bacterial microbiome responds opportunistic once algal host *Scenedesmus vacuolatus* is attacked by endoparasite *Amoebophilidium protococcarum**. *Scientific Reports*, 12, 13187
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-17114-1>

6 Anhang

6.1 Enzymverzeichnis

CAZyme Familie	EC numbers	Enzymbezeichnung	Enzymfunktionen
<i>Lignin und Aromaten</i>			
AA1	1.10.3.2	Laccase (<i>p</i> -diphenol Oxidase)	Oxidation von phenolischen Substraten mit Redoxpotentialen $E_0 < 0,8$ V (einschließlich phenolischer Lignin-Untereinheiten) unter Verwendung von O_2 als Elektronenakzeptor.
AA2 - MnP	1.11.1.13	Manganperoxidase	Abbau von Lignin durch Depolymerisation und Mineralisierung. Oxidation von Mn^{2+} zu Mn^{3+} , was als ligninoxidierender Redox-Mediator fungiert.
AA2 - LiP	1.11.1.14	Ligninperoxidase	Abbau von Lignin durch Depolymerisation. Oxidation von nicht-phenolischen Substraten (β -O-4 Lignin-Untereinheiten) unter Verwendung von H_2O_2 als Elektronenakzeptor.
AA2 - VP	1.11.1.16	Versatile Peroxidase	Abbau von Lignin durch Depolymerisation. Direkte und indirekte Oxidation von phenolischen und nicht-phenolischen Substraten.
AA2 - GP	1.11.1.7	generische Peroxidase	Oxidation von phenolischen Substraten ($E_0 < 0,9$ V) unter Verwendung von H_2O_2 als Elektronenakzeptor.
DyP	1.11.1.19	„Dye-decolorizing“ Peroxidase	Oxidation von phenolischen und nicht-phenolischen Substraten (einschließlich Lignin-Dimeren, E_0 bis zu 1,4 V) sowie schwer abbaubaren Farbstoffen unter Verwendung von H_2O_2 als Co-Substrat.
UPO	1.11.2.1	unspezifische Peroxidase	Oxidation und/oder Oxygenierung von aromatischen und aliphatischen Substraten (einschließlich Lignin-Dimeren, E_0 bis zu 1,5 V).
<i>Unterstützung des Lignocelluloseabbaus (H_2O_2-Produktion)</i>			

AA3_2	1.1.3.7	Arylalkohol-Oxidasen	Oxidation von Arylalkoholen (z. B. Benzylalkohol, Veratrylalkohol) zu den aromatischen Aldehyden und Reduktion von O_2 zu H_2O_2 .
AA3_3	1.1.3.13	Alkohol-Oxidase	Oxidation von primären Alkoholen (z. B. Ethanol) zu den entsprechenden aliphatischen Aldehyden und Reduktion von O_2 zu H_2O_2 .
AA3_4	1.1.3.10	Pyranose 2-Oxidase	Oxidation von Pyranosen (z. B. D-Glucose, D-Xylose) zu den entsprechenden Zuckerlactonen (z. B. Gluconolacton) und Reduktion von O_2 zu H_2O_2 .
Cellulose			
AA3_1	1.1.99.18	Cellobiose-Dehydrogenase (CDH)	Oxidation von Cellobiose (oder anderen Zuckern) zu Cellobionolacton (oder anderen Zuckerlactonen) und Reduktion von O_2 zu H_2O_2 oder Transfer der Elektronen an andere Akzeptoren wie Chinone, oxidierte Metallionen oder die aktive Stelle von Partnerenzymen.
LPMO - AA9, 10, 15	1.14.99.54, 1.14.99.56	lytischen Polysaccharid-Monooxygenasen	Oxidative Spaltung von Celluloseketten in Fragmente mit entweder C1-Lacton- oder C4-Ketoaldosestrukturen an den reduzierenden bzw. nicht-reduzierenden Enden Verwendung von O_2 im Monooxygenase-Modus oder H_2O_2 im Peroxygenase-Modus.
GH3 subtypes	3.2.1.21, 3.2.1.x	β -1,4-Glucosidase, bi/multifunktionale Glucosidasen	Freisetzung von D-Glucose-Einheiten durch Hydrolyse der terminalen β -1-4-glycosidischen Bindungen an den nichtreduzierenden Enden der Celluloseketten (Exocellulase-Aktivität) sowie Spaltung von Cellobiose.
GH5_5, GH5_22	3.2.1.4	β -1,4-Endoglucanase, β -1,4-Glucosidase	Hydrolytische Spaltung der β -1-4-glycosidischen Bindungen innerhalb der Celluloseketten in amorphen Regionen (Endocellulase).
GH6 - CBH	3.2.1.91, 3.2.1.4	Cellobiohydrolase (nicht-reduzierendes Ende)	Spaltung/Freisetzung von Cellobiose-Einheiten von den nichtreduzierenden Enden der Celluloseketten (Exocellulase). Hydrolytische Spaltung der β -1-4-glycosidischen Bindungen

			innerhalb der Celluloseketten in amorphen Regionen (Endocellulase).
GH7 - CBH	3.2.1.176	Cellobiohydrolase (reduzierendes Ende)	Hydrolytische Spaltung/Freisetzung von Cellobiose-Einheiten von den reduzierenden Enden der Celluloseketten (Exocellulase).
GH45	3.2.1.4	β -1,4-Endoglucanase	Hydrolytische Spaltung der β -1-4-glycosidischen Bindungen innerhalb der Celluloseketten in amorphen Regionen (Endocellulase).
Hemicellulosen (Xylan, Glucomannan)			
GH3 subtypes	3.2.1.37	β -1,4-Xylosidase	Freisetzung von D-Xylose-Einheiten durch Hydrolyse der terminalen β -1-4-glycosidischen Bindungen an den nichtreduzierenden Enden des Xylan-Rückgrats und der Xylo-Oligosaccharide (Exo-Xylanase).
GH5_7	3.2.1.78, 3.2.1.25	β -1,4-Mannosidase	Hydrolytischer Abbau oder Modifikation von β -Mannan-haltigen Polysacchariden (β -Mannosidase- und Endomannosidase-Aktivitäten).
GH10 GH11	3.2.1.8	β -1,4-Endoxylanase	Hydrolytische Spaltung der β -1-4-glycosidischen Bindungen innerhalb des Xylan-Rückgrats unter Bildung von Xylo-Oligosaccharid-Fragmenten (Endoxylanase).
GH74	3.2.1.151	Xyloglucanase (xyloglucan-spezifische Endo- β -1,4-Glucanase)	Endohydrolyse von Xyloglucanen unter Bildung von Xyloglucan-Fragmenten (Xylogluco-Oligosacchariden).
CE1	3.1.1.72 3.1.1.73	Acetyl-Xylan-Esterase; Feruloyl-Esterase	Hydrolytische Deacetylierung von Xylanen und Xylo-Oligosacchariden; hydrolytische Spaltung und Freisetzung von Ferulasäure von den Enden der Hemicellulose-Seitenketten.
CE16	3.1.1.6	Acetyl-Esterase	Unspezifische Hydrolyse von Acetylestern (Freisetzung von Essigsäure).

6.2 Tabellen

Tabelle A1. Ergebnisse des linearen gemischten Modells für den Masseverlust der Holzklötze. Das erste Modell untersucht, ob der Massenverlust (Modell 1; $n = 3669$) von den folgenden Variablen beeinflusst wird: Baumart, Region (Schorfheide-Chorin, Schwäbisch Alb, Hainich-Dün), Ökosystem (Grünland, Wald) und Managementintensität (LUI = Landnutzungsintensitätsindex oder ForMI = Waldbewirtschaftungsindex). Die ANOVA-Tabelle zeigt die p -Werte für F -Tests nach Streichung einzelner Terme (drop1-Funktion) und unter Verwendung der Satterthwaite-Methode für die Berechnung der Nenner-Freiheitsgrade. Der LUI- und ForMI-Index wurden zu diesem Zweck standardisiert. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

Variable	Quadrat-summe	Mittlere Quadrate	Freiheitsgrad Zähler	Freiheitsgrad Nenner	F-Wert	P-Wert	Signifikanz
Region	7,52	3,762	2	293,2	14,27	$1,22 \times 10^{-6}$	***
Baumart	1150,64	95,887	12	3318,5	363,67	$< 2,2 \times 10^{-16}$	***
Ökosystem	71,19	71,193	1	293,4	270,01	$< 2,2 \times 10^{-16}$	***
LUI / ForMI	0,52	0,518	1	295,2	1,97	0,1619	

Tabelle A2. Ergebnisse des linearen gemischten Modells zur Bedeutung von Baumartenmerkmalen, Umweltfaktoren und Managementintensität für den Massenverlust von Holzklötzen. Die Analyse wurde getrennt für die beiden Ökosysteme (150 Grünlandparzellen, 150 Waldparzellen) durchgeführt und umfasst Totholzklötze von 13 Baumarten ($n_{\text{Grünland}} = 1806$, $n_{\text{Wald}} = 1863$). Die Auswahl der Modellvariablen basierte auf einer Gewichtung mittels des Akaike-Informationskriteriums (AIC). Alle Variablen mit einem Wichtigkeitswert $> 0,75$ wurden in das Modell aufgenommen. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: . $\leq 0,1$; * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

Variable	Wald					
	Estimate/Schätzung	Standard-abweichung	Freiheits-grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
Region						
Schwäbische Alb	2,516	0,08	12,56	33,32	$1,23 \times 10^{-13}$	***
Hainich-Dün	-0,304	0,06	147,51	-5,11	$9,67 \times 10^{-7}$	***
Schorfheide-Chorin	-0,468	0,07	146,58	-6,36	$2,39 \times 10^{-9}$	***
Umweltfaktoren						
Relative Luftfeuchte	0,070	0,02	146,92	2,96	0,0035	**
Soil pH	-0,100	0,03	147,52	-3,30	0,0012	**
Holzeigenschaften						
Lignin	-0,350	0,07	5,99	-4,65	0,0035	**
Holzdichte	0,145	0,08	6,00	1,75	0,1304	
Kohlenstoff Gehalt	0,255	0,10	6,00	2,52	0,0456	*
Calcium Gehalt	0,177	0,09	6,00	2,00	0,0919	.
Phenol Gehalt	-0,277	0,07	6,00	-3,80	0,0090	**
Schwefel Gehalt	0,371	0,08	6,00	4,52	0,0040	**
Variablen	Grünland					
	Estimate/Schätzung	Standard-abweichung	Freiheits-grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
Region						
Schwäbische Alb	1,808	0,06	18,75	27,95	$9,63 \times 10^{-17}$	***
Hainich-Dün	-0,286	0,06	145,01	-4,99	$1,73 \times 10^{-6}$	***
Schorfheide	-0,058	0,06	141,44	-1,03	0,3060	
Umweltfaktoren						

Bodenfeuchtigkeit	0,139	0,02	140,08	5,83	$3,57 \times 10^{-8}$	***
Holzeigenschaften						
Lignin	-0,276	0,06	7,98	-4,518	0,0012	**
Kohlenstoff Gehalt	0,354	0,08	7,99	4,47	0,0021	**
Calcium Gehalt	0,355	0,07	7,99	5,14	0,0009	***
Schwefel Gehalt	0,498	0,06	7,98	7,91	$4,83 \times 10^{-5}$	***

Tabelle A3. Ergebnisse des linearen gemischten Modells für die Emissionsraten von Kohlendioxid (CO₂) und Methan (CH₄). Das Modell untersucht, ob die Kohlendioxid- (CO₂) und Methan- (CH₄) Emissionsrate (Modell 1; n = 793) von den folgenden Variablen beeinflusst wird: Baumart, Ökosystem (Grünland, Wald) und Managementintensität (LUI = Landnutzungsintensitätsindex oder ForMI = Waldbewirtschaftungsindex). Die ANOVA-Tabelle zeigt die p-Werte für F-Tests nach Streichung einzelner Terme (drop1-Funktion) und unter Verwendung der Satterthwaite-Methode für die Methode der Nenner-Freiheitsgrade. Der LUI- und ForMI-Index wurden zu diesem Zweck standardisiert. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: * ≤ 0,05; ** ≤ 0,01; *** ≤ 0,001.

CO₂-Emissionsraten							
Variable	Quadrat-summe	Mittlere Quadrate	Freiheitsgrad Zähler	Freiheitsgrad Nenner	F-Wert	P-Wert	Signifikanz
Ökosystem	3,825	3,825	1	65,9	12,81	0,0007	***
Baumart	76,028	6,336	12	693,9	21,22	$<2 \times 10^{-16}$	***
LUI / ForMI	2,594	2,594	1	64,6	8,69	0,0045	**
CH₄-Emissionsraten							
Variable	Quadrat-summe	Mittlere Quadrate	Freiheitsgrad Zähler	Freiheitsgrad Nenner	F-Wert	P-Wert	Signifikanz
Ökosystem	0,187	0,187	1	66,4	1,29	0,2599	
Baumart	85,713	7,143	12	689,1	49,44	$<2 \times 10^{-16}$	***
LUI / ForMI	0,024	0,024	1	65,2	0,16	0,6876	

Tabelle A4. Ergebnisse des linearen gemischten Modells zur Bedeutung von Baumartenmerkmalen, Umweltfaktoren und Managementintensität für die CO₂-Emissionsraten der Holzklötze. Die Analyse wurde getrennt für die beiden Ökosysteme (150 Grünlandparzellen, 150 Waldparzellen) durchgeführt und umfasst Totholzklötze von 13 Baumarten (nGrünland = 453, nWald = 340). Die Auswahl der Modellvariablen basierte auf einer Gewichtung mittels des Akaike-Informationskriteriums (AIC). Alle Variablen mit einem Wichtigkeitswert > 0,75 wurden in das Modell aufgenommen. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: . ≤ 0,1; * ≤ 0,05; ** ≤ 0,01; *** ≤ 0,001.

CO₂-Emissionsraten						
Variable	Wald					
	Estimate/Schätzung	Standard-abweichung	Freiheits-grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
(Intercept)	1,588	0,072	15,79	21,95	2,96E-13	***
Umweltfaktoren						
ForMI	-0,144	0,063	26,08	-2,27	0,0314	*
Relative Luftfeuchte	0,159	0,064	25,62	2,49	0,0195	*
Holzeigenschaften						
Lignin	-0,261	0,058	6,05	-4,53	0,0039	**
Organische Extraktstoffe	-0,237	0,100	6,09	-2,36	0,0554	.
Kohlenstoff Gehalt	0,553	0,117	6,03	4,74	0,0032	**

Stickstoff Gehalt	0,203	0,073	6,12	2,79	0,0308	*
Magnesium Gehalt	0,303	0,061	6,00	5,00	0,0024	**
Schwefel Gehalt	-0,269	0,072	6,09	-3,73	0,0095	**

Grünland						
Variable	Estimate/ Schätzung	Standard- abweichung	Freiheits- grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
(Intercept)	1,342	0,074	27,89	18,18	$5,34 \times 10^{-17}$	***
Umweltfaktoren						
Bodenfeuchte	0,269	0,055	36,67	4,89	$2,02 \times 10^{-5}$	***
Holzeigenschaften						
Holzdichte	-0,160	0,055	10,99	-2,92	0,0139	*

Tabelle A5. Ergebnisse des linearen gemischten Modells zur Bedeutung von Baumartenmerkmalen, Umweltfaktoren und Managementintensität für die CH₄-Emissionsraten der Holzklötze. Die Analyse wurde getrennt für die beiden Ökosysteme (150 Grünlandparzellen, 150 Waldparzellen) durchgeführt und umfasst Totholzklötze von 13 Baumarten (nGrünland = 453, nWald = 340). Die Auswahl der Modellvariablen basierte auf einer Gewichtung mittels des Akaike-Informationskriteriums (AIC). Alle Variablen mit einem Wichtigkeitswert > 0,75 wurden in das Modell aufgenommen. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: . ≤ 0,1; * ≤ 0,05; ** ≤ 0,01; *** ≤ 0,001.

CH ₄ -Emissionsraten						
Wald						
Variable	Estimate/ Schätzung	Standard- abweichung	Freiheits- grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
(Intercept)	1,972	0,080	18,45	24,62	$1,43 \times 10^{-15}$	***
Umweltfaktoren						
Boden pH	-0,091	0,051	24,55	-1,79	0,0856	
Lufttemperatur	-0,144	0,050	24,80	-2,87	0,0082	**
Totholzentnahme	-0,093	0,050	25,37	-1,86	0,0738	.
Holzeigenschaften						
Holzdichte	-0,211	0,077	9,96	-2,72	0,0217	*
Schwefel Gehalt	0,210	0,077	10,00	2,73	0,0211	*
Grünland						
Variable	Estimate/ Schätzung	Standard- abweichung	Freiheits- grade	T-Wert	P-Wert	Signifikanz
(Intercept)	1,872	0,090	13,25	20,71	$1,76 \times 10^{-11}$	***
Umweltfaktoren						
Beweidung	-0,126	0,045	34,10	-2,81	0,0081	**
Bodentemperatur	0,186	0,081	34,55	2,31	0,0273	*
Düngung	0,065	0,038	34,92	1,71	0,0964	.
Lufttemperatur	-0,150	0,075	33,98	-2,00	0,0538	.
Relative Luftfeuchte	0,082	0,038	35,15	2,16	0,0374	*
Holzeigenschaften						
Holzdichte	-0,259	0,097	10,01	-2,67	0,0235	*
Schwefel Gehalt	0,303	0,098	9,99	3,09	0,0115	*

Tabelle A6. Mantel-Test zum Vergleich der Metabarcoding (OTU Level) und Metaproteomik-Ergebnisse (Protein-Abundanz) basierend auf Pilzgattungen. Es wurden nur Pilzgattungen berücksichtigt, die mit beiden Methoden identifiziert wurden und eine Spearman-Korrelation durchgeführt.

	Mantel-Statistik		Obere Quantile der Permutation			
	Statistik r	Signifikanz	90 %	95 %	97,5 %	99 %
Per Probe	0,039	0,164	0,052	0,067	0,078	0,095
Per Baumart	0,565	4×10^{-4}	0,223	0,292	0,343	0,396

Tabelle A7. PERMANOVA zur Analyse des Einflusses von Baumarten, Baumrang (Angiospermen vs. Gymnospermen) und Waldstandort (d. h. Untersuchungsflächen) auf die Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft. 127 Totholzproben von 12 Baumarten aus dem Nationalpark Hainich und der umliegenden Dün-Region (12 Untersuchungsflächen) wurden mittels einer dreifaktoriellen permutativen multivariaten Varianzanalyse (dreifaktorielle PERMANOVA) auf Basis der Bray-Curtis-Distanzen analysiert. Dabei wurden zwei Methoden verwendet: Metabarcoding basierend auf der OTU-Abundanz und Metaproteomanalyse basierend auf der Abundanz der Proteine. Signifikanzniveaus sind wie folgt gekennzeichnet: * $\leq 0,05$; ** $\leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

	Freiheits- grade	Quadratsumme	R^2	F-Wert	P-Wert	Signifikanz
Metabarcoding: totholzbewohnende Pilz (OTU Level)						
Baumart	11	14,443	0,255	3,584	0,001	***
Baumrang	1	2,844	0,050	6,616	0,001	***
Untersuchungs- fläche	11	5,063	0,089	1,027	0,332	
Metaproteomik: Lignocellulolytisch aktive Pilze (NSAF)						
Baumart	11	4,608	0,289	4,251	0,001	***
Baumrang	1	1,267	0,079	10,791	0,001	***
Untersuchungs- fläche	11	1,907	0,12	1,421	0,016	*
Metaproteomik: Lignocellulolytische Enzyme (NSAF)						
Baumart	11	1,400	0,326	5,053	0,001	***
Baumrang	1	0,353	0,082	11,203	0,001	***
Untersuchungs- fläche	11	0,211	0,049	0,54	0,98	

6.3 Abbildungen

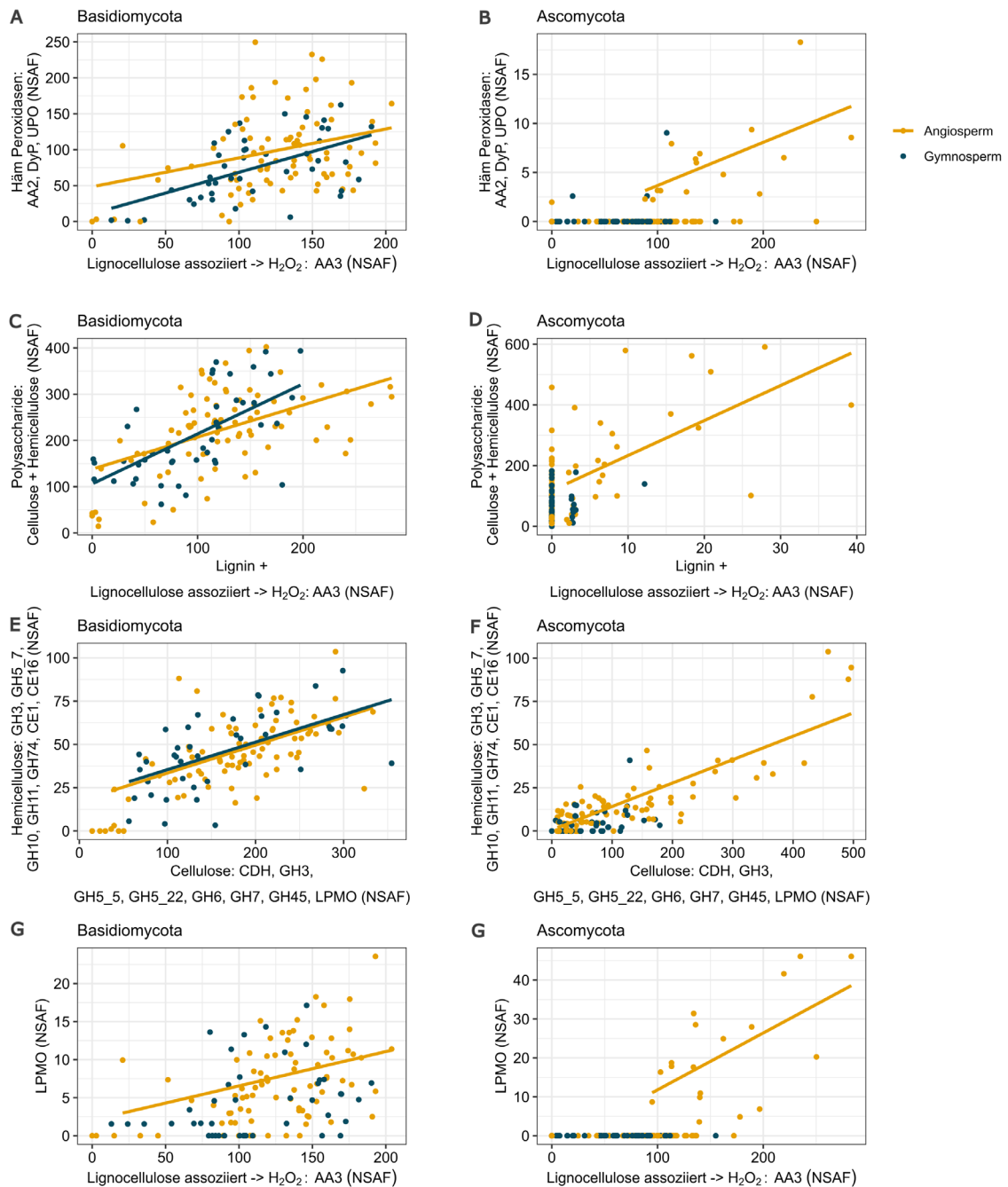


Abbildung A1. Korrelationen zwischen lignocellulolytischen Enzymklassen. Dargestellt sind die Abundanzen (z. B. ligninolytische Klasse-II-PODs/AA2 und andere Peroxidasen oder H₂O₂-erzeugende Oxidoreduktasen/AA3 oder Glycosidhydrolasen), d. h. Abundanzen entsprechend ihren Zielsubstraten. Die Datenpunkte stellen den kumulierten NSAF (normalized spectral abundance factor) der verschiedenen Enzyme bzw. Enzymklassen pro Probe dar, getrennt nach Pilzstämmen (Ascomycota, Basidiomycota) und eingefärbt in den Diagrammen entsprechend dem Vorkommen in Stämmen von Angiospermen (blau) und Gymnospermen (cyan).

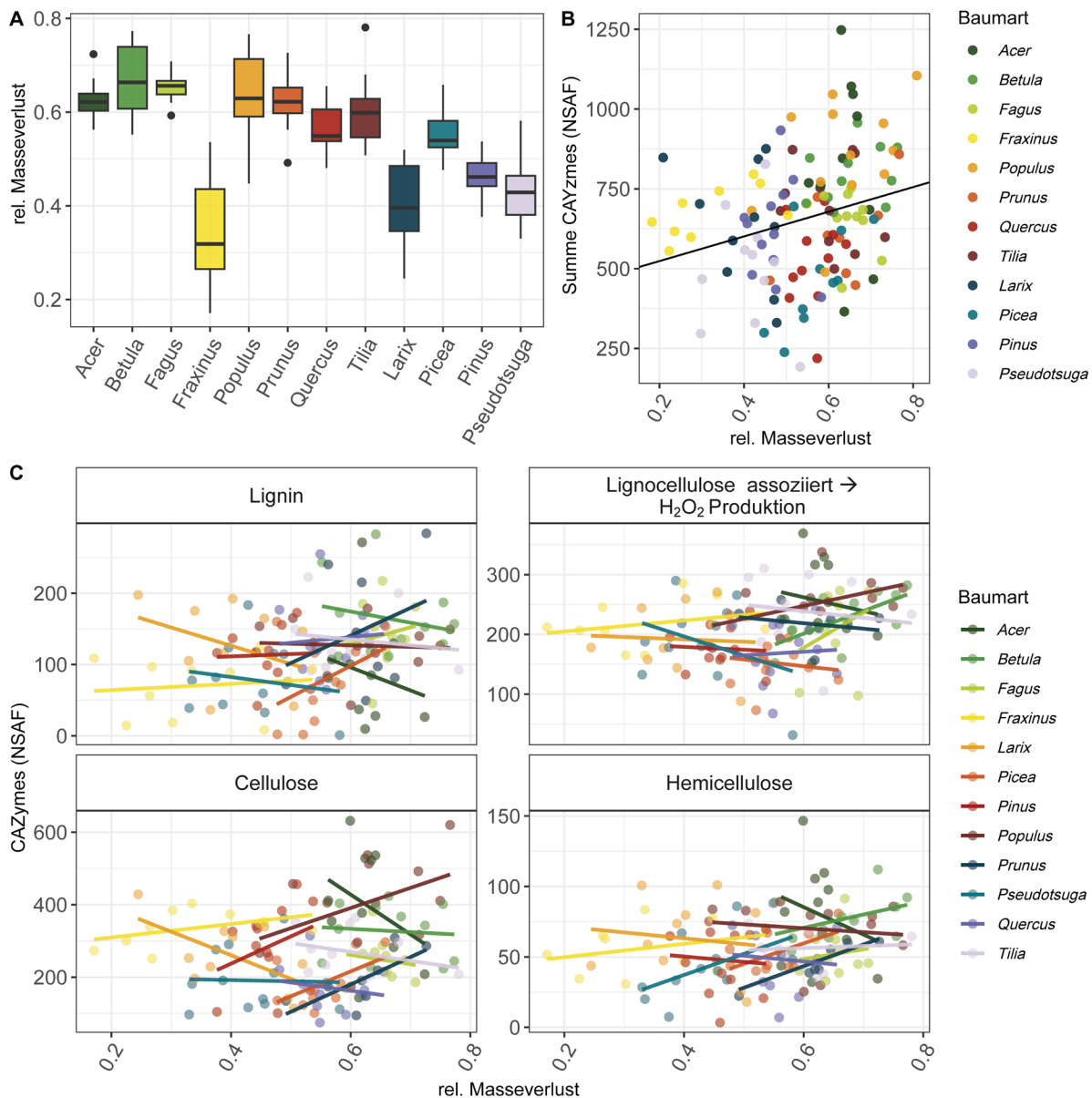


Abbildung A2. Analyse des geschätzten Massenverlustes für jede Probe. Der geschätzte Massenverlust basiert auf den Modellen der Zerfallsfunktionen von Edelman et al. [35]. Boxplots zeigen den relativen Massenverlust pro Baumart (A). Die Beziehung zwischen dem relativen Massenverlust und der Summe der CAZymes (B) oder lignocellulolytischen Enzymklassen (Lignin und/oder andere Aromastoffe, Cellulose und Hemicellulosen oder „unterstützende“ Aktivitäten im Zusammenhang mit der Lignocellulose-Modifikation und dem Lignocellulose-Abbau aufweisen) (C) ist für jede Probe getrennt nach Baumarten dargestellt. Die Regressionslinie (B) stellt die Steigung des linear gemischten Modells dar, das eine signifikante Interaktion ($p = 0,0048$) zwischen dem Massenverlust und den summierten CAZymen pro Probe zeigt, unabhängig von der Baumart. Die Beziehung zwischen Massenverlust und den einzelnen lignocellulolytischen Enzymklassen (C) ist durch die Regressionslinien für jede Baumart dargestellt. Die zugehörigen linear gemischten Modelle mit Zufallsfaktor Baumart zeigen keine signifikanten Interaktionen.

7 Danksagung

Die Anfertigung dieser Dissertation war eine anspruchsvolle, zugleich aber auch bereichernde Aufgabe, die ohne die Unterstützung zahlreicher Personen nicht möglich gewesen wäre. Ihnen allen möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Matthias Noll und Dr. Nico Jehmlich, die mit ihrer Expertise dieses Projekt konzipiert und geplant haben. Ihre fachliche Unterstützung sowie ihre motivierenden Worte waren für mich von unschätzbarem Wert. Prof. Dr. Matthias Noll danke ich insbesondere für sein Vertrauen in meine Fähigkeiten, diese Promotion erfolgreich abzuschließen, sowie für seine Geduld und seine wertvollen Anregungen – insbesondere während der Publikationsphase. Dr. Nico Jehmlich gab mir die Möglichkeit, die Projektbearbeitung und die Probenanalysen am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) in Leipzig durchzuführen. Ohne ihn wäre ich mit diesem Projekt nicht in Berührung gekommen. Seine Motivation für wissenschaftliches Arbeiten war letztlich der Anstoß für meine Dissertation. Darüber hinaus danke ich ihm herzlich für die Einführung in die Methodik der Metaproteomik und für seine kontinuierliche Unterstützung bei der Durchführung der Messungen.

Die erfolgreiche Umsetzung der drei Experimente war nur durch die engagierte Mitarbeit zahlreicher helfender Hände möglich. Mein großer Dank gilt den studentischen und wissenschaftlichen Hilfskräften, die mit ihrer tatkräftigen Unterstützung die Analyse der umfangreichen Probenanzahl erst ermöglicht haben. Besonders hervorheben möchte ich Sarah Muszynski und Florian Maurer, die mit unermüdlichem Einsatz die Feldarbeit und Probenvorbereitung für das Holzklötze-Experiment durchgeführt sowie die Masseverluste aller Proben bestimmt haben. Ihre Unterstützung war von unschätzbbarer Bedeutung, und ich bin ihnen dafür außerordentlich dankbar. Für die Unterstützung bei den Messungen am Gaschromatographen danke ich Dr. Matthias Koschorreck und Martin Wieprecht vom Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung in Magdeburg. Nicholas Holzschek und Dr. Harald Kellner standen mir tatkräftig bei der Probenahme für die Metaproteomanalysen zur Seite. Ein besonderer Dank gilt Christoph Rudisch, der als Praktikant mit großem Engagement zur Probenvorbereitung beigetragen hat. Darüber hinaus danke ich Kathleen Eismann für ihre Unterstützung im Labor, Hannes Petruschke für seine Hilfe am Massenspektrometer sowie Patrick Lohmann und Tim Van Dem Bossche für ihre Expertise und Unterstützung bei der metaproteomischen Datenauswertung.

Für die statistische Datenanalyse war Prof. Dr. Martin Gossner eine wertvolle Hilfe – durch ihn konnte ich viel über lineare gemischte Modelle lernen. Mein besonderer Dank gilt zudem Dr. Harald Kellner für seine Begleitung während der Datenanalyse und des Publikationsprozesses der Metaproteomdaten. Seine fachliche Beratung in mykologischen und enzymatischen Fragen, seine motivierenden Worte und seine kritische Reflexion haben maßgeblich zum Fortschritt meiner Arbeit beigetragen. Die detaillierte Auswertung des Metaproteoms wurde zudem durch das Metabarcoding von Julia Moll ermöglicht, wofür ich ihr herzlich danke.

Mein Dank gilt ebenso der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Förderung meiner Forschung im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms 1374 „Biodiversitäts-Exploratorien“ im Teilprojekt FunWood IV (NO 834/5-4 und JE 724/7-4) sowie BLD-FFD-HZG II (HO 1961/6-3, KE 1742/2-3, BU 941/26-3). Dem BELongDead-Team bin ich für die produktive und freundliche Zusammenarbeit im Projekt sowie für die wertvollen Diskussionen im Rahmen gemeinsamer Publikationen sehr dankbar, insbesondere Prof. Dr. Wolfgang W. Weisser, Prof. Dr. Martin Hofrichter, Prof. Dr. Claus Bässler, Dr. Timo Kahl, Prof. Dr. Werner Borken und Claudia Seilwinder. Ebenso danke

ich den Management-Teams der Biodiversitäts-Exploratorien für die Betreuung der Versuchsflächen und dem BEO-Organisationsbüro für die hervorragende Koordination der Arbeiten in den Exploratorien.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mich auf meinem Weg stets unterstützt, ermutigt und mir mit gemeinsamen Unternehmungen Freude und Abwechslung in den Promotionsalltag gebracht haben. Ihr Zuspruch, ihr Vertrauen und eure Geduld haben mich stets motiviert und mir geholfen, auch in herausfordernden Phasen meinen Weg konsequent weiterzugehen. Mein herzlicher Dank gilt insbesondere meinen Freunden, die meine Arbeit mit kritischem Blick gegengelesen und wertvolle Korrekturvorschläge eingebracht haben.

Ohne diese vielfältige Unterstützung wäre diese Dissertation in dieser Form nicht möglich gewesen. Mein aufrichtiger Dank gilt daher allen, die mich auf diesem Weg begleitet und gefördert haben.

8 (Eidesstattliche) Versicherungen und Erklärungen

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe (vgl. Art. 97 Abs. 1 Satz 8 BayHIG).

(§ 8 Satz 2 Nr. 3 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation nicht bereits zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht habe und dass ich nicht bereits diese oder eine gleichartige Doktorprüfung endgültig nicht bestanden habe.

(§ 8 Satz 2 Nr. 4 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich, dass ich Hilfe von gewerblichen Promotionsberatern bzw. –vermittlern oder ähnlichen Dienstleistern weder bisher in Anspruch genommen habe noch künftig in Anspruch nehmen werde.

(§ 8 Satz 2 Nr. 7 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass die elektronische Fassung der Dissertation unter Wahrung meiner Urheberrechte und des Datenschutzes einer gesonderten Überprüfung unterzogen werden kann.

(§ 8 Satz 2 Nr. 8 PromO Fakultät)

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, dass bei Verdacht wissenschaftlichen Fehlverhaltens Ermittlungen durch universitätsinterne Organe der wissenschaftlichen Selbstkontrolle stattfinden können.

.....
Ort, Datum, Unterschrift