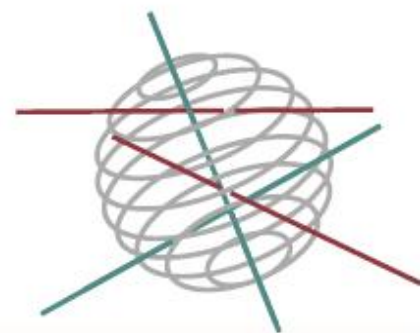


SSD

SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT



**IMPACT VAN MYCORRHIZAE OP DE BIODIVERSITEIT EN DE
KOOLOSTOFBALANS VAN GRASLANDECOSYSTEMEN ONDER
GEWIJZIGDE KLIMAATSCONDITIES**

“MYCARBIO”

S. DECLERCK, R. CEULEMANS, I. NIJS, L. VOETS, H. DUPRE DE BOULOIS,
I. ENRIQUE DE LA PROVIDENCIA, C. ZAVALLONI, M. BÜSCHER



ENERGY 

TRANSPORT AND MOBILITY 

AGRO-FOOD 

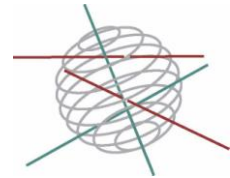
HEALTH AND ENVIRONMENT 

CLIMATE 

BIODIVERSITY   

ATMOSPHERE AND TERRESTRIAL AND MARINE ECOSYSTEMS   

TRANSVERSAL ACTIONS 



Biodiversiteit



EINDVERSLAG
SAMENVATTING

IMPACT VAN MYCORRHIZAE OP DE BIODIVERSITEIT EN DE
Koolstofbalans van graslandecosystemen onder
GEWIJZIGDE KLIMAATSCONDITIONS
"MYCARBIO"

SD/BD/05

Promotoren

Stéphane Declerck

Université catholique de Louvain (UCL)

Unité de Microbiologie

Croix du Sud 3, bt 6

1348 Louvain-la-neuve

Reinhart Ceulemans & Ivan Nijs

Universiteit Antwerpen (UA)

Auteurs

Stéphane Declerck, Liesbeth Voets, Ivan Enrique de la Providencia

Hervé Dupré de Boulois

(UCL)

Reinhart Ceulemans, Ivan Nijs, Costanza Zavalloni, Manu Büscher

(UA)

Januari 2009



UCL
Université
catholique de
Louvain

 Universiteit
Antwerpen



Louizalaan 231
B-1050 Brussel
Belgium
Tel: +32 (0)2 238 34 11 – Fax: +32 (0)2 230 59 12
<http://www.belspo.be>

Contact person: Aline Van Der Werf
+32 (0)2 238 36 71

Project website : <http://emma.agro.ucl.ac.be/cesamm/projects/web/home.php?fichier=home.php>

Neither the Belgian Science Policy nor any person acting on behalf of the Belgian Science Policy is responsible for the use which might be made of the following information. The authors are responsible for the content.

No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without indicating the reference :

Stéphane Declerck, Reinhart Ceulemans, Ivan Nijs, Liesbet Voets, Hervé Dupré de Boulois, Ivan Enrique de la Providencia, Costanza Zavalloni, Manu Büscher. ***Impact van mycorrhizae op de biodiversiteit en de koolstofbalans van graslandecosystemen onder gewijzigde klimaatscondities “MYCARBIO”*** Eindverslag Samenvatting. Brussel : Belgian Science Policy 2009 (Research Programme Science for a Sustainable Development)

De huidige klimaatverandering heeft ernstige effecten op de structuur en functie van terrestrische ecosystemen. Kennis omtrent de complexe reactie van ecosystemen op klimaatverandering is belangrijk daar zij de wetenschappelijke basis kan versterken, nodig voor het nationaal en internationaal beleid i.v.m. de regulering van koolstof-(C)sekwestratie en broeikasgasemissies. Een verbeterd beheer van graslanden kan een potentiële remedie zijn om klimaatverandering tegen te gaan door C-sekwestratie in bodems en vegetatie te verhogen en tegelijk biodiversiteit te bewaren. Verschillende recente studies hebben de fundamentele rol van zowel boven- als ondergrondse gemeenschappen in de controle van ecosysteemprocessen en -eigenschappen aangetoond. Het begrijpen van het verband tussen deze twee gemeenschappen onder een gewijzigd klimaat (inclusief verhoogde CO₂-concentraties) zal nieuwe inzichten brengen omtrent hoe gemeenschappen en biologische processen zullen ontwikkelen onder klimaatveranderingen.

Het voorgestelde project had als doel de impact van arbusculaire mycorrhizale fungi (AMF) op de biodiversiteit en de C-cyclus in Belgische graslanden te onderzoeken. Om dit te bereiken werden vijf specifieke taken omschreven:

- (1) evaluatie van AMF-biodiversiteit in geselecteerde Belgische graslanden,
- (2) bepaling van de rol van AMF in zaailingvestiging, structuur, diversiteit en productiviteit van graslanden en hun terugkoppelingen naar AMF,
- (3) het onderzoeken van de impact van verhoogd atmosferisch CO₂, temperatuur en waterbeschikbaarheid op boven- en ondergrondse biodiversiteit, AMF-plant verbanden en C-cyclus,
- (4) evaluatie van het ecologische belang van AMF-plant interacties op boven- en ondergrondse biodiversiteit en koolstofbalans,
- (5) modeleren van de diverse processen van de koolstofbalans in graslandecosystemen.

TAAK 1. Evaluatie van AMF biodiversiteit in geselecteerde Belgische graslanden

Volgend op de identificatie van representatieve Belgische graslanden werd er een "beoordeling van de AMF-biodiversiteit" uitgevoerd op bodems afkomstig van vijf verschillende sites in Vlaanderen en Wallonië. Analyses toonden de aanwezigheid aan van AMF-sporen in ieder bodemstaal van de verschillende sites. Twintig tot vijftig sporen werden gevonden per 100 g aan de lucht gedroogde bodem. Morfologische observaties toonden de aanwezigheid van verschillende AMF-taxa op elke site. 'Trap cultures' van de bodems werden gevestigd op *Allium porrum* L. (prei) en onderhouden in groeikassen om AMF-materiaal (bv. sporen en intraradicale schimmelstructuren) te produceren. Sporen van hetzelfde morfotype werden vervolgens geïsoleerd en opnieuw gevestigd op prei 'trap-planten' om monospecifieke soorten te produceren. Deze werden gebruikt voor soortidentificatie en de instandhouding van het germoplasma. Aan de hand van morfologische karakteristieken van de sporen werden AMF tot op geslachtsniveau geïdentificeerd. De verzamelde stammen behoorden allemaal tot de families der *Glomeraceae* en *Diversisporaceae*.

Verdere taxonomische en fylogenetische analyses worden uitgevoerd op de AMF na het tijds kader van het project. Hierbij wordt gebruik gemaakt van morfologische en moleculaire methodes. Uiteindelijk worden de *in vitro* culturen op lange termijn behouden. Deze culturen worden bewaard in de Glomeromycota IN virto Collection (GYNCO).

TAAK 2. De rol van AMF in zaailingvestiging, structuur, diversiteit en productiviteit van plantengemeenschappen in graslanden en hun feedbacks op AMF

AMF kunnen verschillende planten met elkaar verbinden via een gemeenschappelijk mycorrhizaal netwerk (common mycorrhizal network, CMN). Dit netwerk bevordert transport van bodemnutriënten (bv. fosfor) en koolstof, afkomstig van planten, binnen het netwerk en mogelijk ook tussen planten. Zaailingen blijken zich gemakkelijker te vestigen in de aanwezigheid van een bestaand mycorrhizaal netwerk. Dit is waarschijnlijk te wijten aan een snelle en directe toegang tot een grote voorraad bodemnutriënten via het mycorrhizale netwerk of zelfs direct van andere planten. Bovendien kunnen zaailingen koolstof ontvangen van gevestigde planten via het CMN omdat dit netwerk reeds in contact staat met de omringende vegetatie. Dit kan betekenen dat de koolstofkost van de zaailing ten gunste

van het mycorrhizale netwerk sterk verminderd wordt of zelfs onbestaande is, hetgeen zaailingvestiging bevordert. Een andere hypothese is dat koolstof binnen een plantengemeenschap kan circuleren tussen planten door een CMN afhankelijk van source/sink relaties.

De overdracht van koolstof door een CMN van een *Medicago truncatula* Gaertn. donorplant naar een ontvangende plant werd bestudeerd onder sterk gecontroleerde *in vitro* omstandigheden. Twee scenario's werden verondersteld:

- (1) de ontvangende plant groeide onder verminderde lichtcondities,
- (2) de ontvangende plant was een zaailing.

Na het merken van de donorplant met $^{13}\text{CO}_2$ werd ^{13}C teruggevonden in de wortels en de bovengrondse delen van de donorplant, het extraradicale mycelium en de wortels van de ontvangende plant. Vetzuuranalyse van de wortels van de ontvangende plant toonde een ^{13}C verrijking aan in de AMF-specifieke lipiden, terwijl er geen significante ^{13}C verrijking werd gevonden in de plant-specifieke lipiden.

We stelden vast dat:

- (1) koolstof kan worden doorgegeven van een donorplant naar een ontvangende plant via een CMN, maar dat deze binnen de intraradicale structuren van de wortels van de ontvangende plant blijft en de plantenweefsels van de ontvangende plant niet bereikt;
- (2) het CMN de zaailingvestiging niet bevordert d.m.v. een koolstoftransfer;

TAAK 3. Impact van verhoogd CO_2 , temperatuur en waterbeschikbaarheid op boven- en ondergrondse biodiversiteit, AMF-plant associaties en C-cyclus.

Vanwege hun sleutelpositie binnen het raakvlak tussen bodem en wortels is het belangrijk om AMF in rekening te brengen bij onderzoek naar de impact van klimaatverandering op plantengemeenschappen. Klimaatveranderingen die de plant beïnvloeden hebben immers eveneens een effect op de plant-AMF interacties. Veranderingen van temperatuur en neerslag kunnen een direct effect hebben op zowel de AMF als hun gastheerplanten. Verhoogd CO_2 kan daarentegen een direct effect hebben op de koolstoffixatie van planten en indirect op AMF door een wijziging van de ondergrondse C-allocatie. Gezien het aandeel van AMF in de C-sekwestratie in de bodem is het essentieel hun rol in de C-cyclus onder veranderend klimaat te verklaren.

Twee microcosmosexperimenten, uitgevoerd in *in vitro* omstandigheden, werden ontworpen om het effect van verhoogd CO_2 en verhoogde temperatuur te onderzoeken op:

- (1) groei van AMF,
- (2) N en P transport in AMF.

In vitro culturen werden ofwel onder omgevings- ($22/18^\circ\text{C}$ dag/nacht en 380 ± 15 ppm CO_2) of verhoogde CO_2 - ($e\text{CO}_2 - 600 \pm 15$ ppm CO_2) -en temperatuursomstandigheden ($e^\circ\text{T} -$ omgeving + 3°C) geplaatst met dezelfde fotoperiode 16/8h en relatieve vochtigheid van 70%. Wortel- en scheutlengte, bladaantal, vers- en drooggewicht van de scheut en de wortel, sporenaantal, extraradicale hyfen en intraradicale wortelkolonisatie werden gemeten.

De opvolging van de wortelkolonisatie van *M. truncatula* Gaertn. plantjes op korte termijn (16 dagen) en de opvolging van sporenproductie en extraradicaal mycelium van *M. truncatula* Gaertn. plantjes, gegroeid in een myceliumnetwerk op lange termijn (8 weken) werden bestudeerd. De kortetermijnstudie toonde een significante groei van de planten, zoals aangetoond door alle gemeten parameters met uitzondering van de scheutlengte. Er werden geen verschillen waargenomen tussen planten blootgesteld aan ofwel omgevings- ofwel $e\text{CO}_2$ en $e^\circ\text{T}$ omstandigheden. De langetermijnstudie van sporenproductie en de ontwikkeling van extraradicaal mycelium toonde geen duidelijke verschillen tussen de twee omgevingscondities voor enige parameter, behalve voor de extraradicale

hyfenlengte. Deze was hoger tijdens de tweede week, en van week 6 tot 8 onder eCO₂ en e°T condities.

Deze resultaten geven een indicatie dat eCO₂ en e°T een invloed kunnen hebben op:

- (1) bodemexploratie en foeragering door AMF,

Het feit dat de sporenproductie niet werd beïnvloed door eCO₂ en e°T maar dat de hyfenlengte toenam, toont aan dat de capaciteit van AMF om nieuwe omgevingen te ontdekken en te benutten, en nieuwe planten te koloniseren hoger kan zijn door:

- (1) grotere verspreiding van sporen,
- (2) grotere kans op het koloniseren van de omringende planten.

Drie mesocosmosstudies werden uitgevoerd.

Studie 1 onderzocht:

- (1) hoe klimaatverandering en aanwezigheid van AMF de CO₂ fluxen, boven- en ondergrondse biomassa van graslandgemeenschappen en, stikstof (N) en fosfor (P) in de bladeren beïnvloedt,
- (2) of interactie-effecten van klimaatfactoren en de aanwezigheid van AMF een betekenisvolle rol spelen in CO₂-fluxen, biomassa en bladnutriënten in het AMF-plant systeem.

Studie 2 werd uitgevoerd op een bodem afkomstig van een Belgisch grassland met zijn natuurlijke rijkdom aan AMF. Het hoofddoel van dit onderzoek was om het effect van klimaatverandering op de wortelkolonisatie van AMF, de CO₂ fluxen, biomassa en bovengrondse N en P relaties van een graslandgemeenschap te onderzoeken op een Belgische graslandbodem.

Studie 3 bepaalde de invloed van een AMF gemeenschap op C en N verdeling, productiviteit en gemeenschapsstructuur van graslandecosystemen, zowel onder het huidige klimaat als onder een toekomstig klimaatscenario.

Voor deze studies werd telkens een aantal groeikassen blootgesteld aan omgevingstemperatuur (T_{air}) en 380 ppm CO₂ (Amb), terwijl andere groeikassen continu 3°C boven de omgevingstemperatuur werden verwarmd en blootgesteld aan een CO₂ concentratie van 610 ppm (toekomstig klimaat, $T+CO_2$). Plantengemeenschappen werden samengesteld uit zes overblijvende soorten. Ze werden geselecteerd op basis van hun samen voorkomen in Belgische graslanden en vertegenwoordigden drie functionele groepen: twee grassen (*Poa pratensis* L., *Lolium perenne* L.), twee stikstoffixerders (*Medicago lupulina* L., *Lotus corniculatus* L.) en twee niet-stikstoffixeerders (*Rumex acetosa* L., *Plantago lanceolata* L.).

Voor **studie 1** werd de bodem gepasteuriseerd in twee cycli van 8 uren op 90°C en plantengemeenschappen werden geplant in (i) gepasteuriseerde (niet mycorrhizale, *NM*) of (ii) gepasteuriseerde en vervolgens met AMF geïnoculeerde (*AMF*) bodem. Iedere geïnoculeerde gemeenschap kreeg 100 g inoculum toegediend dat twee AMF taxa bevatte: *Gigaspora margarita* en *Glomus intraradices*.

Voor **studie 2** werden de plantengemeenschappen gevestigd in containers met onbehandelde bodem afkomstig van het grasland.

In **studie 3** werd opnieuw gepasteuriseerde, of gepasteuriseerde en vervolgens geïnoculeerde bodem gebruikt. De AMF taxa die het inoculum bevatte waren *Glomus intraradices* en *Glomus fasciculatum*. Op drie verschillende tijdstippen tijdens het groeiseizoen werden de ecosystemen gemerkt met ¹³C en ¹⁵N. Op die manier werd meer gedetailleerde informatie omtrent de C- en N-verdeling in AMF en in de verschillende compartimenten van de plant bekomen.

Conclusies voor studie 1:

- (1) CO₂-fluxen van jonge graslanden werden niet significant beïnvloed door AMF in de twee veronderstelde klimaatscenario's hoewel wortelkolonisatie hoger was onder verhoogde temperatuur en CO₂ concentraties;
- (2) onder het toekomstige klimaatscenario was de bruto primaire productiviteit (GPP) lichtjes hoger. Verhoogde wortelbiomassa werd enkel in afwezigheid van AMF vastgesteld. Dit suggereert verschillende strategieën voor ondergrondse C-verdeling in aanwezigheid van AMF;
- (3) op lange termijn kan mogelijke allocatie van C naar de AMF pool in plaats van naar de wortelbiomassa, geobserveerd in deze studie, ondergrondse processen zoals respiratie en dus CO₂ fluxen van graslandgemeenschappen beïnvloeden.

Conclusies voor studie 2:

- (1) nieuw gevestigde graslanden kunnen profiteren van het toekomstige klimaatscenario wat hun totale groei betreft,
- (2) koolstof werd hoofdzakelijk gealloceerd naar de bovengrondse plantendelen terwijl wortelbiomassa en AMF niet toenamen onder het toekomstige klimaatscenario. Samen met de verhoogde bodemrespiratie (R_{soil}) in $T+CO_2$ in vergelijking met Amb , wijst dit op een negatief effect op de C-sekwestratie in de bodem.

Conclusies voor studie 3:

De resultaten van deze studie worden momenteel verwerkt. Enkel de bovengrondse biomassa werd reeds geanalyseerd.

- (1) bovengrondse biomassa ondervond een positieve invloed van het toekomstige klimaatscenario,
- (2) mycorrhizae hadden op het einde van het groeiseizoen een positieve invloed op de biomassa onder beide temperatuurscenario's.

Verdere conclusies zullen buiten het tijds kader van het project geformuleerd kunnen worden.

TAAK 4. Evaluatie van het ecologische belang van AMF-plant interacties op boven- en ondergrondse biodiversiteit en C-balans.

Deze taak was gepland tijdens de tweede (niet-gehonoreerde) fase van het project.

TAAK 5. Modeleren van de processen die de C-balans in graslandecosystemen beschrijven

Het ANAFORE model (ANALYSIS of FOREst Ecosystems) werd aangepast om simulaties uit te voeren voor graslandecosystemen en zo de impact van klimaat en AMF op de C-cyclus te evalueren. ANAFORE bevat de effecten van aanvullende factoren die groei beïnvloeden zoals verhoogd atmosferisch CO₂, bemesting, droogte, ozon en temperatuurextremen. De data die verzameld werden in 2007 en 2008 worden in het model geïncorporeerd in 2009.