

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	2
2	Was ist Mykorrhiza?	3
2.1	Definition und allgemeine Informationen.....	3
2.1.1	Arbuskuläre Mykorrhiza	4
2.1.2	Ektomykorrhiza	5
2.1.3	Ericoide Mykorrhiza.....	6
2.2	Stoffaustausch bei der Mykorrhiza.....	6
3	Untersuchung des Stoffaustausches	7
3.1	Allgemeine Informationen und Fragestellung	7
3.2	Züchtung und Vorbereitung der Mykorrhiza.....	8
3.3	Bestimmung des Kolonisationsgrades.....	9
3.3.1	Allgemeines	9
3.3.2	Material und Methoden	9
3.3.3	Ergebnis	11
3.4	Quantitative Stoffanalyse der Mykorrhiza.....	12
3.4.1	Allgemeines	12
3.4.2	Material und Methoden	12
3.4.3	Ergebnis	12
3.5	Diskussion	13
3.5.1	Zusammenfassung/Summary	13
3.5.2	Ergebnisanalyse	13
3.5.3	Methodenreflektion	14
3.5.4	Fazit	15
4	Anhang	15
4.1	Abkürzungen und Fachwörter	20
4.2	Literaturverzeichnis	20
4.2.1	Fachliteratur	20
4.2.2	Zeitungs- und Zeitschriftenartikel	21
4.2.3	Internetseiten	22
4.3	Erklärung zur selbständigen Erarbeitung	22

1 Einleitung

Es ist schon lange kein Geheimnis mehr, dass das Düngen von Agrarflächen enorme ökologische Risiken mit sich bringen kann, wenn es übertrieben wird. Hinzu kommt auch, dass die globalen Mineraldüngervorräte nur noch maximal 50-100 Jahre reichen werden, sodass es höchste Zeit ist, sich mit sinnvollen Alternativen zu beschäftigen. Eine solche Alternative könnte zum Beispiel die Mykorrhiza darstellen, da sie Pflanzen ermöglicht, leichter an Nährstoffe zu gelangen. Aber das ist nur einer von vielen Gründen, warum man sich mit der Mykorrhiza beschäftigen sollte, denn auch der Tropische Regenwald und die heimischen Wälder sind fast komplett¹ mykorrhiziert. Aufgrund dieser enormen Bedeutung, die die Mykorrhiza für Pflanzen und Pilze hat, habe ich mich dazu entschlossen den Lesern meiner Facharbeit die Funktion dieser besonderen Symbiose näher zu bringen, bzw. vorhandenes Wissen durch neueste Forschungsergebnisse und Experimente zu erweitern.

Im Wesentlichen ist meine Arbeit in zwei Teilbereiche unterteilt. Der erste Teil beschäftigt sich mit allgemeinen Informationen und wissenschaftlichen Erkenntnissen und basiert unter anderem auf meinen Reisen zur Universität Hannover und Hohenheim, sowie aus weiterer internationaler Fachliteratur, die mir von den Universitäten bereit gestellt wurde. In diesem Teil werden sowohl wissenschaftliche Grundlagen, als auch noch nicht publiziertes Fachwissen vermittelt, was auch die Basis für das im zweiten Teil folgende Experiment bildet.

Im zweiten Teil finden Sie dann meine Forschungen zum Stoffaustausch der Mykorrhiza, die ich zum Teil zu Hause im „Mini-Labor“ und am Institut für Pflanzenschutz durchgeführt habe. Im Detail handelt es sich hierbei um eine Quantifizierung, die dann als Grundlage für die Mengenbestimmung der durch die Pflanzen bei der Symbiose an den Pilz abgegebenen Assimilate dient.

¹ Genauer Wert aus Smith SE, Read DJ (1997): Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed. Academic Press, beträgt 95%

2 Was ist eigentlich eine Mykorrhiza?

2.1 Definition und allgemeine Informationen

Innerhalb eines Ökosystems ist es häufig notwendig, dass einzelne Lebewesen sich gegenseitig unterstützen, um ihre Überlebenschancen zu erhöhen. Mykorrhizapilze, zum Beispiel, unterscheiden sich unter anderem dadurch von anderen Bodenpilzen, dass ihnen bestimmte Enzyme fehlen, die sie bräuchten, um komplexe Saccharide abzubauen. Im Gegensatz zur Pflanze haben Mykorrhizapilze aber zum Beispiel die Eigenschaft, Mineralstoffe, wie Stickstoff und Phosphat leichter aus dem Boden lösen zu können. Ein Zusammenschluss beider Lebewesen (allgemein: Symbiose²) würde ihre ökologische Potenz³ erhöhen. Man bezeichnet diesen Zusammenschluss zwischen Pilz und Pflanze als Mykorrhiza, er ist wie folgt definiert:

Mykorrhiza („Pilzwurzel“) bezeichnet eine Form der Symbiose zwischen Pilzen und den Wurzeln höherer Pflanzen.⁴

Bei den Mykorrhizen handelt es sich überwiegend um mutualistische Symbiosen, das heißt, dass beide Symbionten in irgendeiner Form von ihrem Zusammenschluss profitieren. Eine Ausnahme bilden hierbei die chlorophyllosen Schmarotzerpflanzen, die von der Ausbeutung des Pilzes profitieren, ohne jegliche Gegenleistung zu erbringen. Grundsätzlich sind Art und Nutzen einer Mykorrhiza aber abhängig von den Lebenspartnern, sodass ganz unterschiedliche Symbiosen eingegangen werden können.

Forscher haben herausgefunden, dass einige Pflanzen sich im Laufe der Evolution komplett von der Mykorrhiza abhängig gemacht haben, so schreibt der englische Pathologe William Stephan, dass viele höhere Pflanzen statt ihren eigenen Wurzeln lediglich Mykorrhizen ausbilden.⁵ Obwohl Symbiosen wie die Mykorrhiza meistens ein erhöhtes Ausbeutungsrisiko mit sich bringen, wird vermutet, dass ca. 82%⁶ aller höheren Pflanzenarten mykorrhiziert sind. Das könnte gerade in schwermetallbelasteten Regionen die Ursache haben, dass die Pflanzen auf die filternde Funktion⁷ der Pilze gegenüber Schwermetallen angewiesen sind.

² Der Begriff Symbiose wird in der heutigen Zeit meist nur noch als Synonym für die „mutualistische Symbiose verwendet

³ Weitere Vorteile aus S. Lohse, D. Strack, T. Fester: Molekulare Grundlagen der Mykorrhiza Symbiosen, Wittenberg, 2002: Steigerung der physiologischen Potenz wegen stärkerer Stressresistenz

⁴ Ausformuliert aus: Der Brockhaus in drei Bänden. Dritte Auflage. Leipzig: F.A. Brockhaus, 2004

⁵ Im Original lautet dieses Zitat: „[...] in agricultural field conditions, plants do not, strictly speaking, have roots, they have mycorrhizas.“; Quelle: siehe Literaturverzeichnis

⁶ Derartige Werte variieren von 75% bis 92%, wobei 82% der Durchschnitt der meisten Angaben ist

⁷ Die filternde Wirkung basiert auf der Eigenschaft von Mykorrhizapilzen, Schwermetalle in sich aufzunehmen

Die Entstehung der ersten Mykorrhizaformen wird auf ca. 800 Millionen Jahre geschätzt, wobei vermutet wird, dass sie auch für die Eroberung des Festlandes durch die Pflanzen (vor ca. 500 Millionen Jahren) von entscheidender Bedeutung waren. Die eigentliche Entdeckung der Mykorrhiza erfolgte aber erst in den 1890er Jahren durch die Forscher Franz Kamiński (1881) und Albert Bernhard Frank (1885).

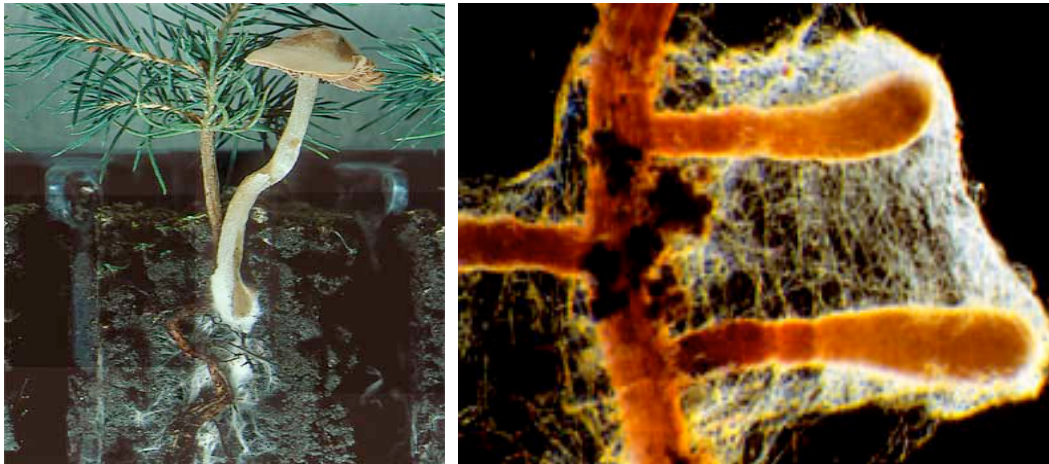


Abb. 1: Bild einer Mykorrhiza mit Fruchtkörper⁸

Abb. 2: Mikroskopisches Bild einer Kontaktstelle von Pilz und Wurzel⁹

Für weitere Informationen ist es notwendig, zwischen drei Arten von Mykorrhizen zu differenzieren, da diese sehr unterschiedliche Eigenschaften¹⁰ haben:

2.1.1 Arbuskuläre Mykorrhiza

Die Arbuskuläre Mykorrhiza (kurz „AM“) ist die älteste Form aller Mykorrhizen. Sie unterscheidet sich hauptsächlich dadurch von anderen Mykorrhizapilzen, dass sie tief in die Zellen der Wurzel eindringt und dort so genannte Arbuskeln¹¹ bildet, die ein bäumchenartiges Geflecht darstellen und den Nährstofftransport erleichtern. Die Pilze bei der Arbuskulären Mykorrhiza gehören zur Gruppe der Glomeromycota¹² und gehen Symbiosen mit nahezu allen Nackt- und Bedecktsamern, Moosen und Farnpflanzen ein. Man findet diese Form der Mykorrhiza

⁸Quelle: Institut für Pflanzenkunde : Internet:
<http://www.vapko.ch/de/questions/images/mykorrhiza01.jpg>; 02/2010 (Zugriff: 02.02.2010)

⁹Quelle: Waldwissen.net Internet: www.waldwissen.net (Zugriff: 05.02.2010)

¹⁰ Die Übersicht der Hauptunterschiede finden sich in Abbildung 13 und 14 (Anlage)

¹¹ Laserbild einer Arbuskel: siehe Abbildung 3

¹² Bis vor kurzem sind Forscher davon ausgegangen, dass es sich bei den arbuskulären Pilzen um Jochpilze handelt

vorwiegend in wärmeren Regionen, auf Wiesen, in Steppen und in den Tropen. Eingesetzt wird sie überwiegend zum Pflanzenschutz, zur Rekultivierung und als Wachstumsbeschleuniger.

2.1.2 Ektomykorrhiza

Die Ektomykorrhiza ist eine weitere Mykorrhizaform, die vor allem in der gemäßigten und borealen Zone vorkommt. Sie unterscheidet sich unter anderem dadurch von der Arbuskulären Mykorrhiza, dass der Pilz bei ihr nicht in die einzelnen Zellen der Wurzeln eindringt, sondern zwischen diesen, in den so genannten Apoplasten (Hartigches Netz¹³), bzw. auf der Wurzeloberfläche verbleibt und auf diese Weise den Nährstofftransport durchführt. Die Pilze der Ektomykorrhiza gehören zur Gruppe der Ascomyceten oder Basidiomyceten und gehen vor allem Symbiosen mit Bäumen ein. Ektomykorrhiza findet man vorwiegend in den Wäldern der gemäßigten Zone, denn sie haben sich optimal an ihre Aufgabe als Destruent im Waldboden angepasst. Genutzt wird diese Mykorrhizaform meistens zum Pflanzenschutz und als Anbaupflanze für ihren essbaren Fruchtkörper.¹⁴

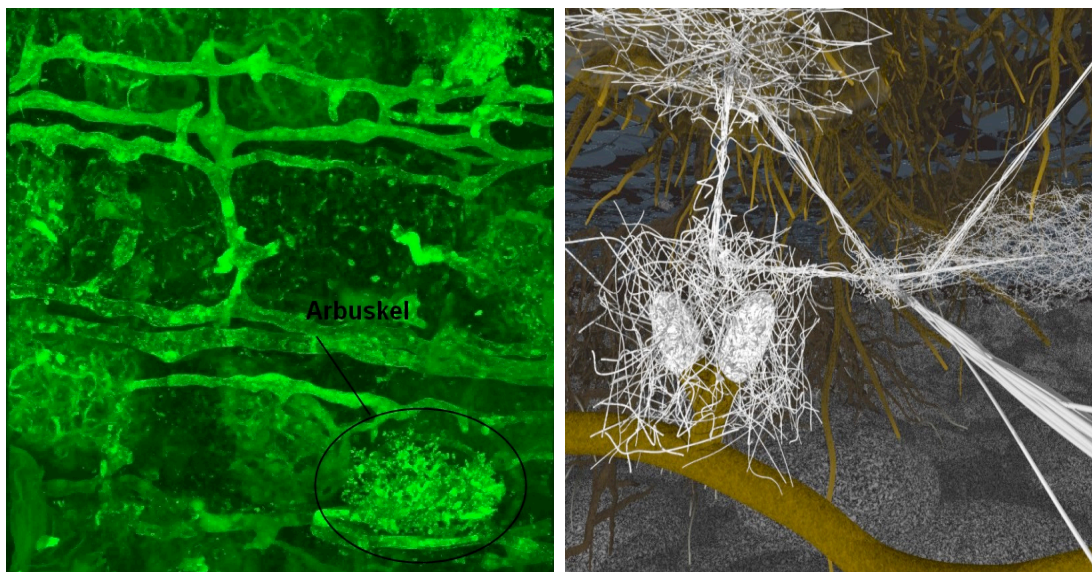


Abb. 3: Lasermikroskopisches Bild einer Arbuskulären Mykorrhiza¹⁵

Abb. 4: Schematische Darstellung des Verbindungsapparats bei der Ektomycorrhiza¹⁶

¹³ Siehe hierzu Abbildung 4

¹⁴ Aufgrund der zunehmenden Schwermetallbelastung sind diese Pilze für den Konsum immer weniger gefragt

¹⁵ Quelle: Marcel Geers, 2010; am Institut für Pflanzenkrankheiten in Hannover

¹⁶ Quelle: Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung

2.1.3 Ericoide Mykorrhiza

Die dritte Form der Mykorrhiza ist die Ericoide Mykorrhiza. Bei dieser Form erfolgt die Verbindung zwischen Pilz und Pflanze sowohl durch hineinwachsen in die Zellen, als auch durch Ummanteln der Wurzeln. Die Pilze bei der Ericoiden Mykorrhiza sind entweder Ascomyceten oder Basidiomyceten und gehen lediglich Verbindungen mit der Unterordnung „Ericales“ der Bedecktsamer ein. Ericoide Mykorrhizapilze sind optimal an die Lebensräume ihrer Wirtspflanzen adaptiert, die aber sehr unterschiedlich sein können. Die Ericoide Mykorrhiza kann auch besonders schwer zugängliche Mineralien für die Pflanze erschließen, und wird deshalb vorwiegend zur Unterstützung von Pflanzen in extremen Gebieten verwendet.

2.2 Stoffaustausch bei der Mykorrhiza

Im zentralen Mittelpunkt der Symbiose steht der Stoffaustausch zwischen den Symbionten. Innerhalb der Pflanze erfolgt dieser über das sehr leistungsfähige Xylem bzw. Phloem. Der Pilz hingegen verwendet für den Transport von Mineralien, Wasser und Kohlenhydraten, ein weniger leistungsfähiges System. Stoffe werden innerhalb von Pilzfäden, den so genannten Hyphen¹⁷, transportiert, was mit Hilfe des durch sie fließenden Cytosols erfolgt. Die Verbindung von Pilz und Pflanze bei der Mykorrhiza erfolgt ebenfalls durch diese Hyphen, statt durch die viel leistungsfähigeren Kapillarsysteme der Pflanzen. Für die Beobachtungen ist ebenfalls wichtig, dass es bei dem Wachstum der Hyphen für gewöhnlich zur Bildung von Netzwerken aus mehreren Hyphen kommt. Diese so genannten Mycelien können eine Fläche von über 100 m² erreichen und dienen dazu Nährstoffe in sämtliche Richtungen zu transportieren. Nachdem die Hyphen dann mit den Wurzeln des Symbiosepartners unmittelbar in Kontakt stehen, kommt es zur Verbindung zwischen Wurzeln und Hyphen, deren Art von der jeweiligen Mykorrhiza abhängt.¹⁸

Die eigentlichen molekularen Mechanismen des Stofftransportes sind aber sehr unterschiedlich und können, z. B. bei der arbuskulären Mykorrhiza extrem kompliziert sein. Sie beruhen oft auf der Aktivität von energieabhängigen Carrierproteinen in den Plasmamembranen der Symbionten.

¹⁷ Siehe hierzu Abbildung 5,6 und 18-21 (Anhang)

¹⁸ Siehe hierzu (2.) bzw. Abbildung 13 (Anhang)

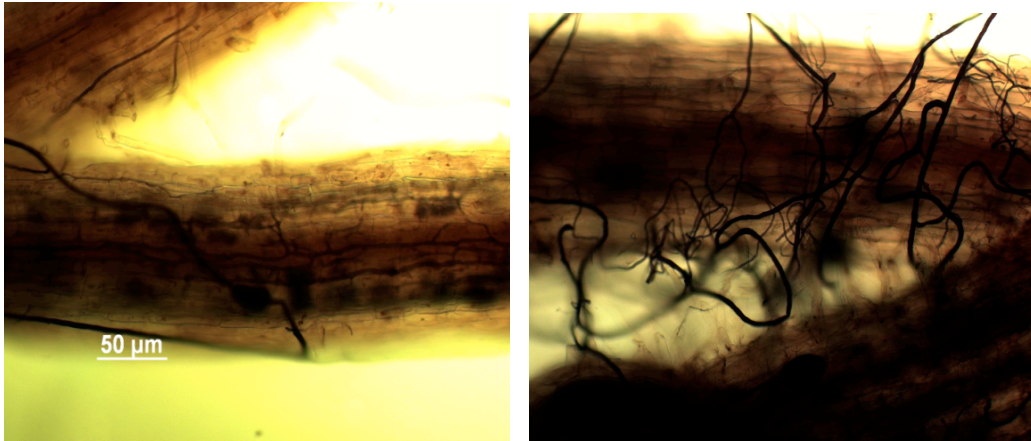


Abb. 5: Mikroskopisches Bild von Hyphen innerhalb von Wurzelzellen¹⁹

Abb. 6: Mikroskopisches Bild von Mycelien einer arbuskulären Mykorrhiza in Wurzelzellen²⁰

3 Untersuchung des Stoffaustausches

3.1 Allgemeine Informationen und Fragestellung

Die wichtigste Frage bei der Arbeit mit Symbiosen ist immer die Frage nach der Effektivität. Um die Effektivität einer Mykorrhiza bewerten zu können, war es zunächst notwendig, eine Mykorrhiza zu züchten, die den Anforderungen des Experimentes entspricht. In einem zweiten Schritt musste ich dann feststellen, wie stark die für den Versuch gezüchtete Pflanze mykorrhiziert ist, um bewerten zu können, ob sie sich für einen Versuch eignet. Aus diesem Grund war es notwendig zunächst eine so genannte „Quantifizierung“ durchzuführen, bevor die Wirtspflanze dann mit einer markierten, anorganischen Substanz begast werden konnte, um herauszufinden, welcher Anteil des aufgenommenen Stoffes sich in den Hyphen des Pilzes wiederfinden lässt. Als Ergebnis dieser Untersuchung erwartete ich daher die Bilanz über die Menge, der bei einer Symbiose weitergegebenen Stoffe, die für die Effektivität der Symbiose repräsentativ ist.

¹⁹ Quelle: Marcel Geers, 2010

²⁰ Quelle: Marcel Geers, 2010

3.2 Züchtung und Vorbereitung der Mykorrhiza

Die Durchführung eines Experiments zum Stoffaustausch der Mykorrhiza, erfordert immer eine keimfrei angezogene Wirtspflanze und den Mykorrhizapilz in axenischer Kultur. In der freien Natur, wie zum Beispiel im Wald, ist ein solcher Zustand aber nicht zu erreichen, sodass es notwendig war, eine sterile Mykorrhiza zu züchten. Die Züchtung erfolgte innerhalb eines luftdichten, zuvor keimfrei gemachten Glasbehälters²¹ mit den Maßen $30 \times 20 \times 20$, dessen Inhalt aus ebenfalls keimfreiem, feuchtem Mutterboden (2,5L) bestand. Bei dem gepflanzten Gewächsen handelte es sich um keimfreie, vier Wochen alte Rhododendronpflanze, die mir vom „Plantologischen Institut“ zur Verfügung gestellt wurden. Die Saat²² des Mykorrhizapilzes erfolgte mit Hilfe eines sterilen Wachstumsmittels. Aufgrund des späteren Experiments habe ich den oberirdischen und den unterirdischen Teil mit Hilfe einer Plexiglas-Scheibe und Silikon luftdicht voneinander getrennt. Eine solche Trennung war notwendig, weil bei der späteren Begasung lediglich die Pflanze und nicht der Pilz begast werden sollte. Die Temperatur betrug während der Züchtung nahezu konstant 25 °C und die Luftfeuchtigkeit variierte zwischen 20-50 %. Nach etwa drei Wochen waren die drei gezüchteten Mykorrhizen für ein Experiment ausreichend entwickelt, sodass ich mit dem ersten Schritt des Experiments beginnen konnte.



Abb. 7: Fotoaufnahme einer der drei gezüchteten Mykorrhizen²³

Abb. 8: Saatgut für den Mykorrhizapilz²⁴

²¹ Siehe Abbildung 7

²² Bild der Samen: siehe Abbildung 8

²³ Quelle: Marcel Geers, 2010

²⁴ Quelle: Marcel Geers, 2010

3.3 Bestimmung des Kolonisationsgrades

3.3.1 Allgemeines

Die Bestimmung des Kolonisationsgrades, auch „Quantifizierung“ genannt, bildet die Grundlage fast aller Untersuchungen mit Mykorrhizen. Das liegt daran, dass im Vorfeld klar sein muss, ob, und wenn ja, wie stark die Pflanze mykorrhiziert ist, um spätere Versuchsergebnisse sinnvoll einzuordnen und deuten zu können. Man kann eine Quantifizierung auf sehr unterschiedliche Art und Weise durchführen, wobei ich mich für die bewährte „Tinten-Essig-Variante“ entschieden habe, die auf der Färbung²⁵ infizierter Zellen beruht.

3.3.2 Material und Methoden

Bevor ich mit der Untersuchung beginnen konnte, war es zunächst notwendig eine Probe der Mykorrhiza zu entnehmen. Da es für die Entnahme von Mykorrhizen keine genormten Vorschriften gibt, verwendete ich die Methode von Tews und Koske (1986): Zunächst habe ich bestimmt, welche der drei gezüchteten Pflanzen sich im Entwicklungsstadium des Schossens befindet, da aus der Literatur bekannt ist, dass Pflanzen, in diesem Stadium, die optimalen Bedingungen für eine Symbiose aufweisen (George) (1999). Nachdem sich lediglich eine Mykorrhiza als geeignet²⁶ erwiesen hat, konnte ich damit beginnen, an fünf zufällig gewählten Orten, Proben zu nehmen. Die Entnahme der fünf Wurzel-Proben erfolgte mit Hilfe eines Hohlbohrers, der zuvor keimfrei gemacht wurde (Länge 25,0 cm; Innendurchmesser 3,0 cm). Die Proben wurden in einer Tiefe von 5-15 cm genommen, und in Plastikbeuteln, nicht-temperiert und feucht transportiert. Nach der Entnahme wurden dann Boden und Wurzelfraktion mit Hilfe eines Wurzelwaschgeräts der Firma Gillison²⁷ voneinander getrennt.

Die Proben wurden während der Untersuchungen in 50 % (w/w) Alkohol gelagert, um die Wurzeln vor Außeneinwirkung zu schützen (Meyer) (1999).

Nach diesen Arbeitsschritten konnte ich dann mit der Untersuchung der Wurzelstücke beginnen. Nachdem sie zunächst mit einer Rasierklinge zerschnitten²⁸

²⁵ Das genaue Farbmittel findet sich in Abbildung 15

²⁶ Die Bewertung erfolgte nach ihrer optischen Beschaffenheit

²⁷ Funktionsaufbau: siehe Abbildung 15 (Anhang)

²⁸ Die Wurzelfraktionen wurden jeweils halbiert

wurden, wählte ich sämtliche²⁹ Stücke mit einer Breite von 20 µm aus, da dies Voraussetzung für einen international vergleichbaren Wert ist (Meyer) (1998). Die übriggebliebenen sieben Wurzelstücke wurden dann in einem ersten Schritt mikroskopisch untersucht, um eventuelle Anomalien und Beschädigungen an der Rhizosphäre auszuschließen, die das Messergebnis verfälschen könnten. Im zweiten Schritt habe ich die zu untersuchenden Wurzeln dann mit einer 10% Kalilauge (kurz: KOH) gebleicht und eine Farblösung angereichert (Vierheilig et al.) (1998). Die Farblösung enthielt keine toxischen Substanzen und bestand aus 5% Essig, und Tinte der Firma Pelikan. Nach der Herstellung habe ich die Farblösung dann in eine Petrischale gefüllt und die zuvor genommenen Proben der Wurzelfraktion hinzugegeben. Die Wurzelstücke lagerten dann 14 Stunden bei 10°C in der Farblösung. Nach Ablauf der Einwirkzeit erfolgte dann die Auswertung nach internationalem Standard, mit der so genannten „Magnified Intersection Method“³⁰ (McGonigle) (1990). Dazu habe ich mit dem Computer, bei einem Maßstab von 1cm = 20 µm, ein Gitternetz mit der Kästchengröße 1 cm² über das Zellengeflecht gelegt, die Anzahl der Schnittpunkte mit den infizierten Zellen bestimmt und diese mit der Gesamtanzahl der Zellen in Relation gesetzt. Daraus ergab sich dann der international genormte Index „Mykorrhizabesiedlungsgrad“ (kurz MBG). Dieser beschreibt den Anteil der mit (hier: arbuskulärer) Mykorrhiza infizierten Zellen an der Gesamtoberfläche in Prozent.

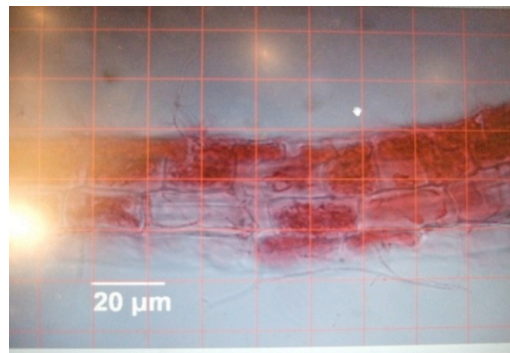


Abb. 9: Wurzelstücke während der Färbung³¹;

Abb. 10: Foto der Auswertung mittels Gitternetz am Computer³²

²⁹ Von den zehn Stücken waren sieben für eine Untersuchung geeignet

³⁰ Zur näheren Darstellung siehe Abbildung 27 (Anhang)

³¹ Weitere Bilder: siehe Abbildung 16, 20 und 21 (Anhang); Quelle: Marcel Geers 2010

³² Weitere Bilder zur Auswertung: siehe Abbildung 18 und 19 (Anhang); Quelle: Marcel Geers 2010

3.3.3 Ergebnis

Nach der Durchführung der Untersuchung für alle 7 Proben ergaben sich folgende Ergebnisse:

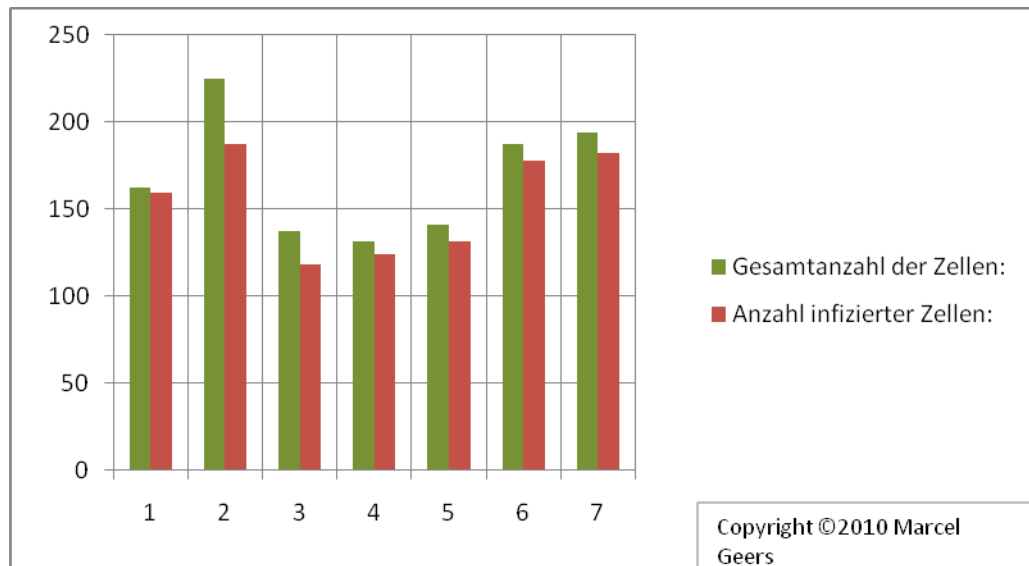


Abb. 11: Gesamtanzahl der Zellen im Vergleich zur Anzahl infizierter Zellen, jeweils für alle 7 Proben

Nachdem ich die Gesamtanzahl mit der Anzahl der infizierten Zellen in Relation gesetzt habe, ergab sich folgende Grafik:

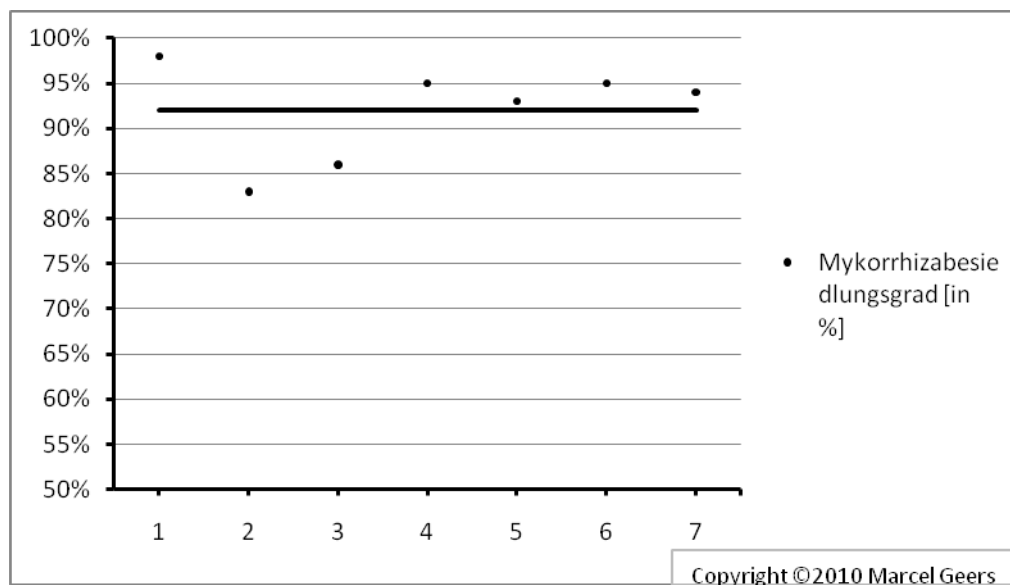


Abb. 12: Mykorrhizabesiedlungsgrad der jeweiligen Probe im Vergleich zum Mittelwert aller Proben

Der Mykorrhizabesiedlungsgrad für die untersuchte Pflanze betrug ca. 92%.

3.4 Quantitative Stoffanalyse der Mykorrhiza

3.4.1 Allgemeines

Nach der zuvor durchgeführten Quantifizierung konnte ich dann mit dem eigentlichen Experiment beginnen. Um herauszufinden, welcher Anteil, der von der Pflanze aufgenommenen Assimilate bei der Mykorrhiza an den Pilz weitergegeben wird, musste ich mich zunächst für eine Substanz entscheiden, die ich dann stellvertretend für alle anderen Assimilate markiert habe. Da allgemein bekannt ist, dass Pflanzen große Teile an Kohlenstoff in Form von Kohlenstoffdioxid aufnehmen und sich die „Tracer-Methode“ mit Kohlenstoff schon in mehreren biologischen Experimenten bewährt hat (Keppler und Lange) (1994), habe ich mich für diese Methode entschieden.

3.4.2 Material und Methoden

Bei der Begasung wurde dann der Glaskasten mit der ausgewählten Mykorrhiza in ein „TyphoonTrio“ Autoradiographiegerät der Firma GE- Healthcare gestellt und oben geöffnet. Nachdem die Pflanze dann etwa 15 min begast wurde, musste ich sie sieben Tage lang unter Luftverschluss einlagern lassen, um sicherzustellen, dass sämtliches CO₂ bei der Fotosynthese umgesetzt wurde. Nach Ablauf dieser Woche habe ich die Mykorrhiza zunächst optisch überprüft. Nachdem ich keine sichtlichen Veränderungen feststellen konnte, habe ich dann den unteren Teil des Glaskastens geöffnet und mit dem Szintillationsmessgerät die Bodenluft gemessen. Den Erwartungen gemäß befanden sich hier Kohlenstoffatome in Form von veratmeten Kohlenhydraten, die Trennung bei der Untersuchung erfolgte mit einem GazeNetz. Nach dem Experiment wurden sowohl die Pflanze, als auch der Pilz in einem Strahlenschutzbehälter entsorgt.³³

3.4.3 Ergebnis

Nach Eingabe des Ausgangswerts hat das Szintillationsmessgerät bei der Untersuchung der Pilzhyphen einen Wert von 24,8% angezeigt.

³³ Aufgrund der geringen Strahlung wäre auch eine herkömmliche Entsorgung möglich gewesen

3.5 Diskussion

3.5.1 Zusammenfassung/Summary

Anhand einer Begasung mit CO₂-Isotopen und einer zuvor durchgeführten Quantifizierung sollte gezeigt werden, welche Anzahl an Assimilaten bei der Mykorrhiza an den Pilz weitergegeben wird.

Die Quantifizierung der Pflanze hat gezeigt, dass von der Gesamtanzahl der Zellen insgesamt 92% mykorrhiziert waren.

Die dann im Nachhinein durchgeführte Begasung hat ergeben, dass die Pflanzen bei der Mykorrhiza ungefähr 25% ihrer Assimilate an den Pilz weitergeben.

Based on a gassing with CO₂ isotopes and a previously conducted quantifying should be shown which number assimilates, plants give to the funguses in a mycorrhiza. The quantification of the plant has shown that at least 92% of the whole cells were mycorrhizal.

Then the gassing of the plants has shown that they give approximately 25% of their assimilates to the funguses.

3.5.2 Ergebnisanalyse

Die bereits in 2.1 genannte These, dass bei der Mykorrhiza eine bestimmte Menge an Kohlenhydraten an den Pilz weitergegeben wird, hat sich also bestätigt. Bei dem genauen Wert von 25% ist allerdings zu bedenken, dass man durch den Versuch nur einen sehr geringen Teil der vielen verschiedenen Arten von Mykorrhizen untersuchen konnte. Hinzu kommt auch, dass die verwendete Arbuskuläre Mykorrhiza bei den klimatischen Bedingungen der borealen Zone aufgezogen wurde, was eine Generalisierbarkeit des Ergebnisses schwierig macht. Des Weiteren konnten angenommene Idealzustände (wie z.B. Keimfreiheit) nicht kontinuierlich überprüft werden, sodass es auch hier zu Ungenauigkeiten genommen sein kann. Weitere Abweichungen können aufgrund des Austretens von Gas, der Art und dem Entwicklungsstadium der Pflanze, der Beschaffenheit der verwendeten Erde und wegen der Kürze der Begasung entstanden sein. Unter diesen Annahmen bestätigt das Ergebnis aber dennoch, dass die Mykorrhiza eine enorme Bedeutung für beide Symbionten hat. Es erklärt ebenfalls, warum diese Form der Symbiose ein so großes Ausbeutungsrisiko mit sich bringt. Denn bei etwa einem Viertel aller Assimilate der Pflanze lohnt sich die Symbiose für jeden Symbiosepartner sehr, besonders wenn er keine Gegenleistung erbringen muss.

Der berechnete Mykorrhizabesiedlungsgrad von 92%, ist vor dem Hintergrund zu bewerten, dass nie genau sichergestellt werden konnte, dass die Farblösung in al-

le infizierten Zellen eingedrungen ist. Desweiteren sollte man beachten, dass es sich bei einer Quantifizierung immer um Stichproben handelt, egal wie viele Stücke aus der Rhizosphäre entnommen werden. Man kann aus diesem Grund nie zu 100% sagen, wie stark die Mykorrhiza genau ausgeprägt ist. Aber auch hier gilt, dass dieses Problem bei allen möglichen Verfahren unumgänglich ist.

Grundsätzlich muss man aber sagen, dass der errechnete Wert nahezu genau dem Schätzwert von 90% entsprach. Hinzu kommt auch, dass diese Methode in der gleichen Form schon mehrere Male durchgeführt wurde, sodass davon auszugehen ist, dass man den Wert in seiner Genauigkeit annehmen kann.

3.5.3 Methodenreflektion

Die praktische Umsetzung einer axenischen Kultur innerhalb des verwendeten Glasgefäßes erwies sich als äußerst schwierig. Da die Entnahme von Proben immer erfordert, den Gasbehälter zu öffnen, war die Keimfreiheit schon nach der ersten Öffnung nicht mehr sichergestellt. Im Nachhinein hätte ich für die ideale Durchführung des Versuchs einen keimfreien Raum benötigt, der mit einer Personenschleuse ausgestattet ist. Des Weiteren erwies sich die Züchtung des Pilzes als ein unerwartetes Problem, denn das verwendete Saatgut für den Pilz war so aufgebaut, dass die Keimfreiheit nur in der äußeren Schicht gewährleistet werden konnte. Da das Saatgut aber ein größeres Volumen hatte, ist davon auszugehen, dass sich während des Experimentes noch Keime in dem Granulat befanden. Um dieses Problem zu vermeiden, wäre es notwendig gewesen, ein Stück eines bereits keimfreien Forschungspilzes als Saatgut zu verwenden. Hinzu kommt auch, dass die Erzeugung der Temperatur innerhalb des Glaskastens durchgängig durch künstliches Licht erfolgte. Dies könnte sich in so fern auf den Versuch ausgewirkt haben, als das sowohl Pilz als auch Pflanze ihre Wachstumseigenschaften bei natürlichem Licht ändern. Ein weiterer Kritikpunkt an der Züchtungsmethode ist, dass das zugegebene Wasser, was für das Wachstum der Pflanze und des Pilzes notwendig gewesen ist, nicht auf seine Keimfreiheit untersucht werden konnte. Das könnte sich ebenfalls destruktiv auf die axenische Kultur ausgewirkt haben.

Die später durchgeführte Art der Quantifizierung erwies sich als sehr sinnvoll. Obwohl es sich, wie in 3.5.2 angesprochen, bei einer Quantifizierung lediglich um die Entnahme von Stichproben handelt, ist das im Versuch verwendete Verfahren führend. Wenn ich ein solches Experiment oder lediglich eine Quantifizierung erneut durchführen wollte, dann würde ich immer wieder auf die hier verwendete Methode zurückgreifen.

Die Form der Begasung erwies sich insgesamt ebenfalls als sehr sinnvoll. Verbesserungsbedürftig war jedoch ihre Dauer, denn es wäre besser gewesen, die Pflanze über einen längeren Zeitraum zu begasen. Dies hätte nicht nur die Anzahl der aufgenommenen Isotope erhöht, sondern auch noch das Messergebnis präzisiert. Des Weiteren kann ich Fehler bei der Ausführung der Begasung nicht ausschließen, da diese aus Sicherheitsgründen (Radioaktivität etc.) nicht von mir persönlich durchgeführt worden ist.

3.5.4 Fazit

Mit der angewandten Methode und den benutzten Versuchsobjekten, konnte ich mit relativ hoher Genauigkeit einen Wert ermitteln, der unter den Versuchsbedingungen gilt. Für einen Wert, der sich aber auf sämtliche Mykorrhizaarten bezieht, wären allerdings weitere Experimente mit anderen Arten und anderen Bedingungen notwendig gewesen. Die Art des Experiments hat sich insgesamt aber als zielführend erwiesen.

4 Anhang

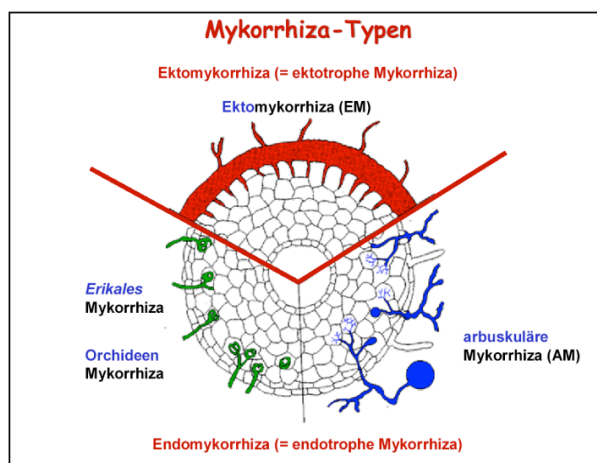


Abb. 13: Schema der Unterschiede der Mykorrhizaarten in Bezug auf die Verbindung mit der Wurzel; Quelle: Henning von Alten 2010, bearbeitet durch Marcel Geers 2010

Classes of Mycorrhizae

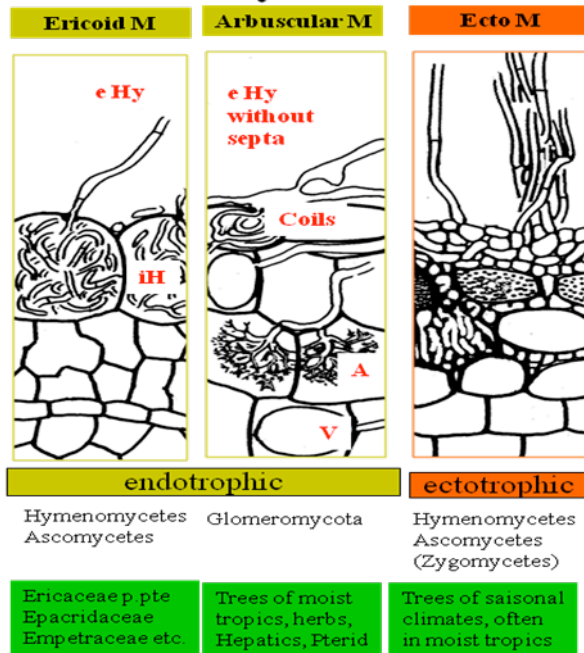


Abb. 14: Schema der Unterschiede der Mykorrhizaarten in Bezug auf die Verbindung und die Verbindungspartner; Quelle: Henning von Alten 2010, bearbeitet durch Marcel Geers 2010

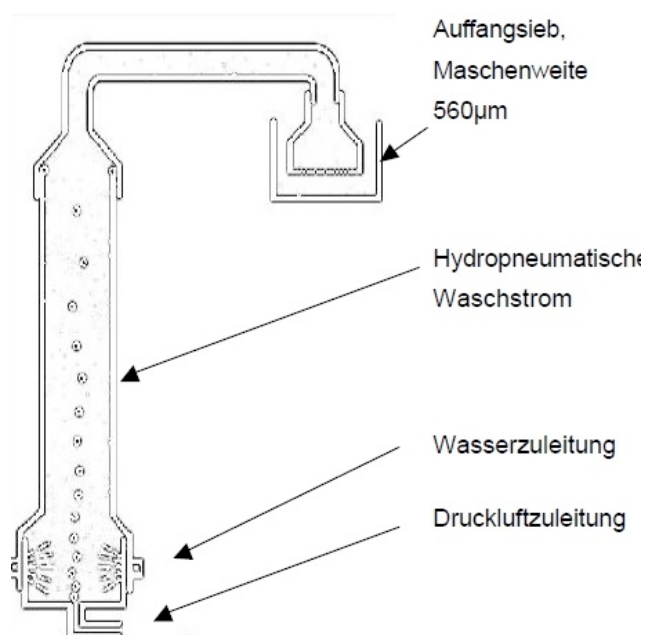


Abb. 15: Schematische Darstellung des Wurzelwaschgeräts der Firma Gillison (USA) ; Quelle: <http://homepage.boku.ac.at/mgollner/Dissertation.pdf>; 02/2010



Abb. 16: Fotografie der Farblösung aus Essig und Tinte; Quelle: Marcel Geers, 2010

Abb. 17: Fotografie der Wurzelstücke nach der Färbung; Quelle: Marcel Geers, 2010



Abb. 18: Foto des Versuchslaboratoriums; Quelle: Marcel Geers, 2010

Abb. 19: Foto des verwendeten des Mikroskops; Quelle: Marcel Geers, 2010

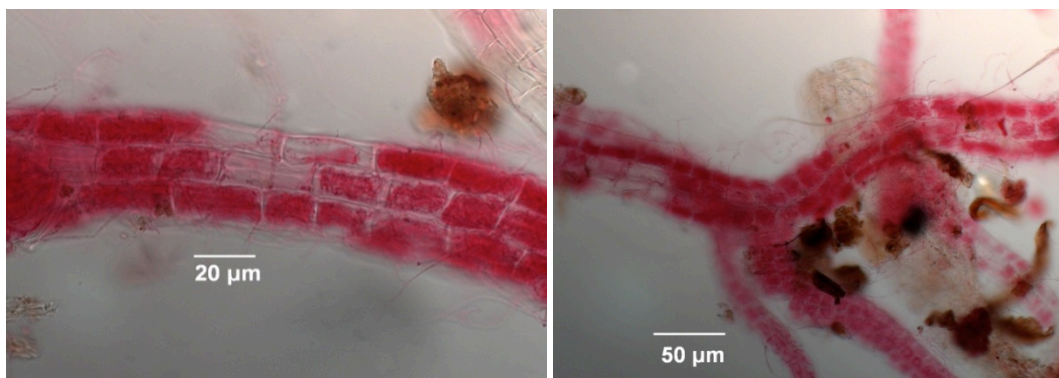


Abb. 20: Mikroskopisches Bild der gefärbten Hyphen; Marcel Geers, 2010

Abb. 21: Mikroskopisches Bild gefärbter Hyphen bei niedrigerer Vergrößerung

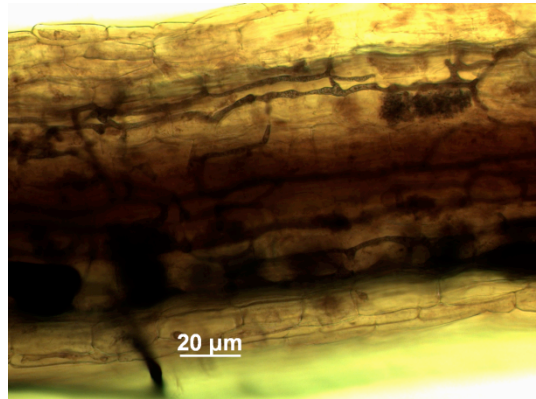


Abb. 22: Mikroskopisches Bild von Zellen mit Hyphen vor Färbung und ohne Farbfilter; Quelle Marcel Geers

Abb. 23: Mikroskopisches Bild von Zellen mit starker Infektion durch Mykorrhiza; Quelle : Marcel Geers 2010



Abb. 24: Lasermikroskop am Institut für Pflanzenschutz; Quelle: Marcel Geers, 2010; Autoradiographiegerät;

Abb. 25: Quelle: http://www.as-bcst.sinica.edu.tw/images/facilities/intro_4_1_20_ac.jpg 02/2010



Abb. 26: Pflanze nach der Begasung; Quelle: Marcel Geers 2010

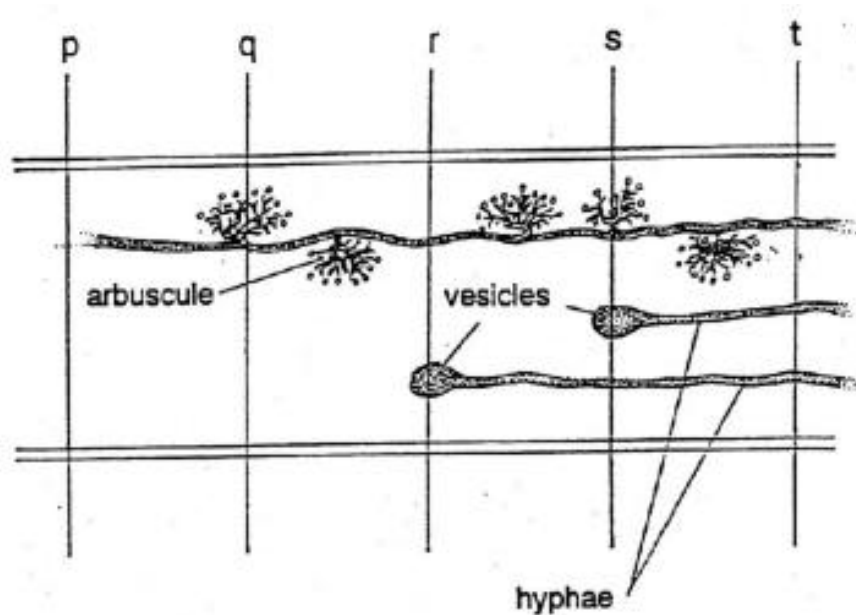


Abb. 27: Schema zur Verwendung der „Magnified Intersection Method“. „T“, „S“, „r“, und „q“ gelten als mykorrhiziert „p“ hingegen nicht.³⁴

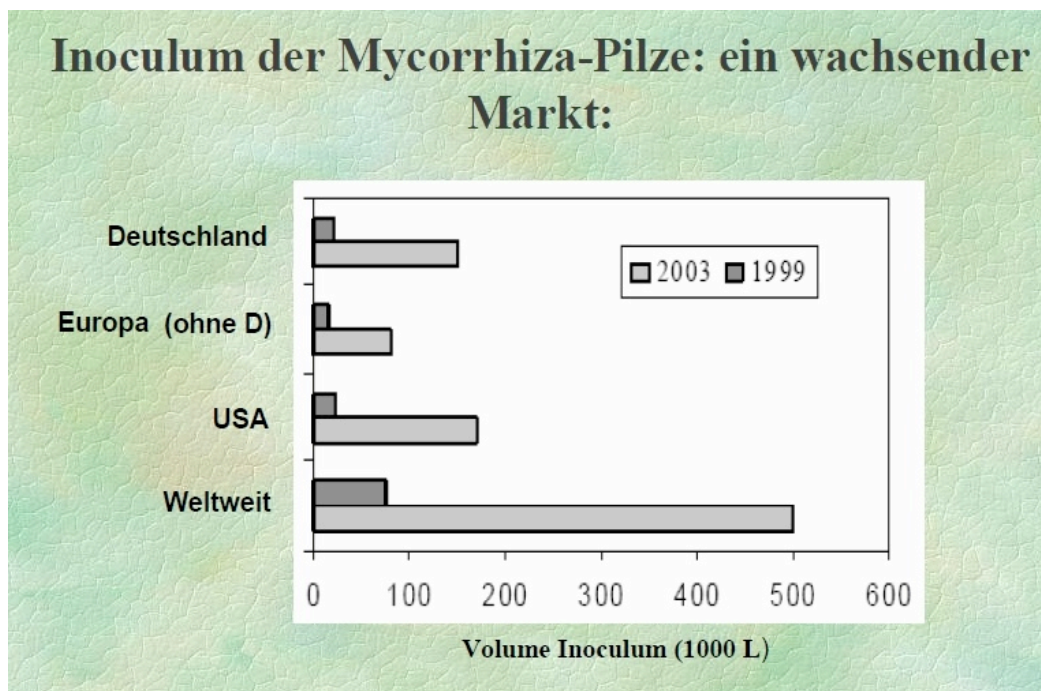


Abb. 28: Menge an gehandeltem Volumen von Mykorrhiza-Pilzen³⁵

³⁴ Quelle: Gollner, M. (2003): Auswirkungen acker- und pflanzenbaulicher Maßnahmen sowie der Dauer der ökologischen Bewirtschaftung auf die arbuskuläre Mykorrhiza im ökosystem. Dissertation an der Universität für Bodenkultur Wien.

³⁵ Quelle: www.agroscope.admin.ch (2003): Präsentation zur Mykorrhiza. Zugriff: 22.02.2010

4.1 Abkürzungen und Fachwörter

AM	...Arbuskuläre Mykorrhiza
Kolonisation	...Besiedlung
Hyphen	...Pilzhypen
MBG	...Mykorrhizabesiedlungsgrad
CO ₂	...Kohlenstoffdioxid
KOH	...Kaliumlauge
Hartigsches Netz	... Hyphenhülle

4.2 Literaturverzeichnis

4.2.1 Fachliteratur

- Diédhiou, P. (2001):** *Untersuchungen zum Auftreten und zur Bedeutung der arbuskulären Mykorrhizapilze für die Pflanzengesundheit und –vitalität.* Institut für Pflanzenkrankheiten, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Dissertation, S. 43-49.
- Feldmann, F. (1998):** *Arbuskuläre Mykorrhiza im Gartenbau.* s.l.: Thalacker Medien, S. 17- 36.
- Gobena, D. (1995):** *Zum Einfluss der vesikulären-arbuskulären Mykorrhiza auf Wachstum, Entwicklung und Gesundheit von Lein.* Fachbereich Gartenbau, Universität Hannover, Dissertation.
- Gollner, M. (2003):** *Auswirkungen acker- und pflanzenbaulicher Massnahmen sowie der Dauer der Ökologischen Bewirtschaftung auf die arbuskuläre Mykorrhiza im Ökosystem.* Dissertation an der Universität für Bodenkultur Wien.
- Hertwig, O. (1883):** *Die Symbiose oder das Genossenschaftsleben im Tierreich.* G. Fischer-Verlag, S.37-42.
- Koch, A. (1976):** *Symbiose: Partnerschaft fürs Leben.* Suhrkamp, S.25,26.
- Kruckelmann, H. (1973):** *Die Vesikulär-AM und ihre Beeinflussung in landwirtschaftlichen Kulturen.* Dissertation an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Technischen Universität Braunschweig, S. 55-108.
- Lorenz, C. & Elers, B. (2000):** *Mykorrhiza und ihre Symbiose mit landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.* Springer, S.12-35.
- Merryweather, J. & Alastair, F. (1998):** *Patterns of arbuscular mycorrhiza colonisation of the roots of Hyacinthoides non-scripta after disruption of soil mycelium.* Springer, S. 3.
- Odum, E. & Overbeck, J. (1999):** *Ökologie: Grundlagen, Standorte, Anwendung.* Thieme, S. 307-309, S.7.
- Salem, F. & Salem, M.; Fawaz, K.; Michail, S. (1995):** *Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mykorrhiza-Pilzen, Wurzelgallen-Dichte und Wachstum von Bohnenpflanzen.* Springer, S.70-72.
- Sieverding, E. (1980):** *Einfluss der Bodenfeuchte auf Entwicklung und Effektivität der vesikulär-arbuskulären Mykorrhiza.* Suhrkamp, S.11-14.

Vereinigung für angewandte Botanik (1987): *Mykorrhiza und Stress bei Pflanzen: 100 Jahre Mykorrhiza*. Springer, S. 12-93, S.150- 174.

4.2.2 Zeitungs- und Zeitschriftenartikel

Blaszkowski, Janusz (1993): *Comparative studies of the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae Glomales in cultivated and uncultivated soils of Poland*. Acta Mycologia 28: S. 95,136.

Dehne, H. (1987): *Zur Nutzung der VA Mykorrhiza als Antistressfaktor*. Angewandte Botanik 61: S. 136.

Dodd, John (2000): *The role of arbuscular mycorrhizal fungi in agro- and natural ecosystems*. Outlook on Agriculture 29 (1): S.50.

Evans, D.; Miller, Michael (1988): *Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize I. Causal relations*. New Phytologist 110: S. 68,69.

Feldmann, F.; Weritz, J.; Boyle, C.; Backhaus, G. (1996): *Symbiontische Mykorrhizapilze im Pflanzenbau*. Deutscher Gartenbau 1, S. 10-12.

George, F. (1999): *Das Stadium der Pflanze in Bezug auf ihre Fähigkeiten*. New Phytologist 115: 102-105

Guinel, F.; Hirsch, A. (2000): *The involvement of root hairs in mycorrhizal associations*. Puerto Rico: Cell. Mol. Biol. 17, S. 295–319.

Harinikumar, K.; Bagyaraj, D (1988): *Effect of crop rotation on native vesicular arbuscular mycorrhizal propagules in soil*. Plant and Soil 110, S. 78-80.

Harrison, M. (2005): *Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. s.l.: Annu. Rev. Microbiol. 59, S. 13-2.

Kurle, J. & Pflieger, F. (1996): *Management influences on arbuscular mycorrhizal fungal species composition in a corn-soybean rotation*. Agronomy Journal 88: S. 157-159.

Limonard, T. & Ruissen, M. (1989): *The significance of VA-mycorrhiza to future arable farming in the Netherlands*. Netherland Journal Of Plant Pathology 95: S. 125-131.

McGonigle, T.; Miller, M.; Evans, D.; Fairchild G.; Swan J. (1990): *A new method which gives an objective measure of colonisation of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. New Phytologist 115: 495-501.

Remy, W., Taylor, T.; Hass, H.; Kerp, H (1991): *Four hundredmillion-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, S. 11842–11843.

Schnitzler, W.; Michalsky, F.; Gruda, N. (1996): *Mykorrhiza zur Kulturverbesserung*. Deutscher Gartenbau 17, S. 1030, 1031.

Strack, D.; Fester, T.; Hause, B.; Walter, M. (2001): *Die arbuskuläre Mykorrhiza: Eine unterirdische Lebensgemeinschaft*. Biologie in unserer Zeit 31, S. 285-289.

Tews, L. & Koske, R., (1986): *Toward a sampling strategy for vesicular-arbuscular mycorrhizas*. Transactions of the British Mycological Society 87: S. 450-456.

4.2.3 Internetseiten

www.ipb-halle.de Präsentation zum Thema Mykorrhiza. Internet: <http://www.ipb-halle.de/myk/> (Zugriff: 05.02.2010)

www.waldwissen.net. (Egli, S. & Brunner, I.) Kurzzusammenfassung über sämtliche Themengebiete der Mykorrhiza. Internet: http://www.waldwissen.net/themen/waldoekologie/pilze_flechten/wsl_mykorrhiza_lebensgemeinschaft_DE (Zugriff: 06.02.2010)

www.biologie.uni-hamburg.de (Fachbereich Biologie an der Universität Hamburg) Multimediapräsentation zum Thema Mykorrhiza. Internet: <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/myco/index.html> (Zugriff: 12.02.2010)

www.pilzforum.eu (Pilzforum) Informationen zur Mykorrhiza. Internet: <http://www.pilzforum.eu/mykorrhiza.php> (Zugriff: 12.02.2010)

www.ufz.de (Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung) Arbuskuläre Mykorrhiza. Internet: <http://www.ufz.de/index.php?de=17029> (Zugriff: 07.02.2010)

www.wissenschaft-online.de (Wissenschaft-Online) Die Symbiose als Lebensgemeinschaft. Internet: <http://www.wissenschaft-online.de/abo/lexikon/biok/11517> (Zugriff: 11.02.2010)

www.notes.utk.edu (Robert M. Augé) Die Mykorrhiza. Internet: <http://notes.utk.edu/bio/unistudy.nsf/0/def1b0b97a9fe06585256fba006093fe?OpenDocument> (Zugriff: 15.02.2010)

www.mycorrhizas.org (Verein internationaler Mykorrhiza Freunde) All about mycorrhizae. Internet: <http://www.mycorrhizas.org/restricted.php?accesscheck=%2Fdirectory.php> (Zugriff: 01.02.2010)

4.3 Erklärung zur selbständigen Erarbeitung

Die Bestimmungen zur Seminararbeit am Windthorst-Gymnasium Meppen habe ich zur Kenntnis genommen.

Ich versichere, dass ich die vorgelegte Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe und alle benötigten Hilfsmittel und Quellen ordnungsgemäß angegeben und gekennzeichnet habe.

Meppen, den 09.03.2010
Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers