



FORSCHUNGSVERBUND AGRARÖKOSYSTEME MÜNCHEN

Erfassung, Prognose und Bewertung nutzungsbedingter
Veränderungen in Agrarökosystemen und deren Umwelt

Holger Geue

**Molekularbiologische Untersuchungen
zum Nachweis arbuskulärer Mykorrhizapilze
bei Wildpflanzenpopulationen landwirtschaftlicher
Nutzflächen**

FAM - Bericht 54



GSF - Forschungszentrum
für Umwelt und Gesundheit



Technische Universität
München / Weihenstephan

Shaker Verlag
Aachen 2002

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Geue, Holger:

Molekularbiologische Untersuchungen zum Nachweis arbuskulärer
Mykorrhizapilze bei Wildpflanzenpopulationen landwirtschaftlicher
Nutzflächen/Holger Geue.

Aachen: Shaker, 2002

(FAM-Bericht; Bd. 54)

Zugl.: München, Techn. Univ., Diss., 2002

ISBN 3-8322-0940-9

Copyright Shaker Verlag 2002

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen
oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungs-
anlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-0940-9

ISSN 0941-892X

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

In der vorliegenden Arbeit wurden arbuskuläre Mykorrhizapilze (AMF) in landwirtschaftlichen Nutzflächen bei *Plantago lanceolata*, *Trifolium repens*, *Holcus lanatus* und anderen Pflanzen mit spezifischen Primer in einer *nested* PCR nachgewiesen. Neben *Acaulospora longula* wurde eine Gruppe nah verwandter Arten um *Glomus mosseae* erfasst, die als dominant auf landwirtschaftlichen Flächen betrachtet werden kann. Die Isolate dieser Gruppe konnten *a posteriori* durch Sequenzvergleiche als *G. mosseae*, *G. caledonium* und *G. geosporum* identifiziert werden. Als Zielregion für die PCR diente die große Untereinheit der ribosomalen DNA (LSU rDNA). Um die Pilze *in planta* nachweisen zu können, mussten bestehende DNA-Extraktionsmethoden weiterentwickelt werden. 56 DNA-Extrakte aus Wurzeln wurden mit universellen Primern als amplifizierbar getestet. *A. longula* konnte in mindestens fünf Wurzelproben bei allen drei Grünland-Pflanzen nachgewiesen werden. Außer in diesen Pflanzen wurde *G. mosseae* auch in *Helianthus annuus* und *Triticum aestivum* gefunden. Die *G. caledonium*-Sequenzen stammten aus *H. lanatus* und *Zea mays* sowie *G. geosporum* aus *P. lanceolata*. Aufgrund dieser Verbreitung konnte keine Wirtsspezifität der untersuchten AMF festgestellt werden. Die PCR-Produkte der *G. mosseae*-Gruppe wurden mit Endonukleasen behandelt, um Restriktionsmuster zu erhalten. Mit dem Enzym *AluI* konnte *G. mosseae* von den übrigen Arten unterschieden werden. Von den gewonnenen Sequenzdaten konnte unter Einbeziehung von Datenbank-Sequenzen ein phylogenetischer Stammbaum erstellt werden. Mithilfe der quantitativen Taqman[®] real-time PCR wurde die Kopienzahl der Mykorrhizapilze bestimmt. Von *A. longula* konnten bis zu 13.300 Kopien und von *G. mosseae* bis zu 64.750 Kopien je mg Wurzel nachgewiesen werden.

Die Pilze wurden in der Wurzel mit Trypanblau gefärbt, die Kolonisierungsraten mikroskopisch bonitiert und mit den pflanzenverfügbaren Phosphatgehalten der Rhizosphäre korreliert. Aufgrund der hohen Standardabweichungen konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Mykorrhizierung und Standort, Jahreszeit, Pflanze oder Phosphatverfügbarkeit festgestellt werden. Die Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, dass die Kolonisierung mit Hyphen im Jahresverlauf zunimmt, während die Vesikelzahl abzunehmen scheint. Vermutlich werden die Speicherstoffe der Vesikel gegen Ende des Jahres zur Bildung von Sporen extraradikal verlagert. *P. lanceolata* wies generell die höchste Hyphen-Kolonisierungsrate auf und bei *H. lanatus* scheint es einen indirekten Zusammenhang zwischen Hyphendichte und Phosphatkonzentration zu geben.