Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich (1996) *141*/2: 53–63

Das komplexe und dynamische Zusammenspiel von Arbuskularen Mycorrhiza-Pilzen und Pflanzen

Hannes Schüepp & Beat Frey, Wädenswil

Zusammenfassung

Die Arbuskularen Mykorrhizen bilden eine allgemein verbreitete, gegenseitig vorteilhafte Symbiose zwischen Pflanzen und Pilzen. Sie kommen bei fast sämtlichen Pflanzenarten in natürlichen wie auch in landwirtschaftlich genutzten Ökosystemen vor. Von den intensiv besiedelten Wurzeln aus durchdringen die Pilze den ganzen Boden mit einem dichten Hyphengeflecht. Die Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze stellen eine wichtige Verbindung der Pflanzen zu den biotischen und abiotischen Komponenten des Bodens dar. Die Symbiose mit ihren vielseitigen positiven Auswirkungen, sowohl bezüglich der Ernährung und Entwicklung der Pflanzen als auch bezüglich der Bodenstruktur und der Bioaktivität, ist erst in neuerer Zeit zum Thema intensiver, interdisziplinärer Forschung geworden. – Anhand einiger Beispiele sollen Resultate über die Dynamik der Biomasse der Mycorrhiza-Pilze und deren Bedeutung beim Stickstoffkreislauf im Boden, insbesondere bezüglich Transport und Verfügbarkeit des Stickstoffes vorgestellt werden.

The complex and dynamic interactions between the arbuscular mycorrhizal fungi and the plants

Arbuscular mycorrhizas are an universal, mutually beneficial symbiosis between plants and fungi. They are most common in almost all plant species in natural and agroecosystems. They form abundant internal structures within the roots and extensive external mycelia throughout the soil. Arbuscular mycorrhizal fungi act as a major interface between the plants and the biotic and abiotic components of the soil. The complex positive interactions of the symbiosis concerning nutrition and development of plants as well as the improving soil structure and enhancement of bioactivity has become only in recent years a topic of comprehensive, interdisciplinary research. – Some results are presented concerning the dynamics of the biomass of the mycorrhizal fungi and their role in the nitrogen cycle mainly with regard to transport and availability of nitrogen.

1 EINLEITUNG

Pilze und höhere Pflanzen haben im Verlaufe gegenseitiger Anpassung (Koevolution) sehr spezifische komplexe Interaktionen entwickelt. Besonders fallen die negativen Beziehungen zwischen Pflanzen und krankheitserregenden Pilzen auf, deren Bekämpfung für den Menschen eine ständige Herausforderung bedeutet. Die sehr zahlreichen, gegenseitig nutzbringenden Symbiosen zwischen Pflanzen und Pilzen hingegen treten naturgemäss weniger in Erscheinung.

Der Wurzelbereich scheint sich für die Entwicklung gegenseitig nutzbringender Lebensgemeinschaften zwischen Pilzen und höheren Pflanzen besonders gut zu eignen, was in den mannigfaltigen Formen der sogenannten Mykorrhizen oder «Pilzwurzeln» zum Ausdruck kommt. Aufgrund morphologisch-anatomischer Unterschiede wird primär zwischen ektotrophen und endotrophen Mykorrhizen unterschieden.

Bei der ersteren umspinnt das Pilzmyzel die Saugwurzeln mit einem dichten Geflecht und dringt nur bis in die Interzellularräume der äusseren Wurzelschicht ein. Sie ist die typische Mycorrhiza der Waldbäume und wurde schon vor über hundert Jahren von FRANK (1885) entdeckt, der auch schon die Bedeutung der Pilze für die Entwicklung der Waldbäume erkannte. Besonders bei den Vertretern der Pinaceen (Nadelhölzer) und der Fagaceen (Buchengewächse mit Buche, Eiche, Kastanie und Ulme) bilden Tausende von Pilzarten aus der Klasse der Ascomyzeten[1] und der Basidiomyzeten formen- und farbenreiche, von blossem Auge erkennbare ektotrophe Mykorrhizen. Da es in diesem Beitrag um das Thema der endotrophen Arbuskularen Mykorrhizen geht, kann auf

die für den Wald unentbehrlichen ektotrophen Mykorrhizen nicht näher eingegangen werden.

Die endotrophen Mykorrhizen sind dadurch gekennzeichnet, dass die Pilzhyphen in das Wurzelgewebe und in das innere der Rindenzellen eindringen. Von den zahlreichen Typen wäre etwa die Erikoide Mykorrhize, eine Symbiose spezifischer Pilze mit den Heidekrautgewächsen, zu erwähnen.

Eine besondere Form endotropher Mycorrhiza hat sich bei den einheimischen und tropischen Orchideen entwickelt. Hier hängt das labile Gleichgewicht zwischen den Mycorrhiza-Partnern stark von Umweltfaktoren ab, die entscheiden, ob es zu einer positiven Symbiose oder zu einer pathogenen Interaktion kommt. Die winzigen, ohne Nährstoffvorräte ausgebildeten Orchideensamen können sich nicht entwickeln, wenn sie nicht von spezifischen Pilzen infiziert und mit den notwendigen Nährstoffen versorgt werden. Der Keimling muss sich jedoch gleichzeitig gegen diese Pilzinfektion zur Wehr setzen, damit der Pilz nicht überbordet. Nur in seltenen Fällen kommt das für das Gedeihen des Keimlings notwendige subtile Gleichgewicht zwischen Pilzbefall und Abwehr des Orchideenembryos zustande; meist bringt der Pilz den Keimling zum Absterben. Diese komplexen Interaktionen wurden bereits von BERNARD (1909) untersucht und beschrieben.

Unser Thema gilt jedoch einer weiteren Form endotropher Mykorrhizen, den Arbuskularen Mykorrhizen, denen erst in neuerer Zeit vermehrte Beachtung geschenkt wird.

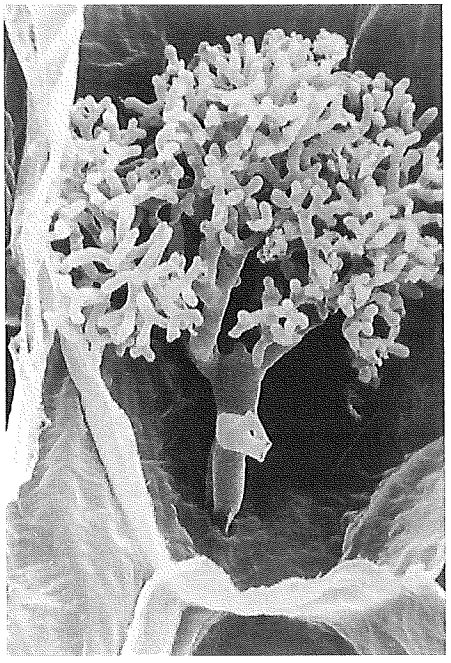

Abb. 1. Die Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze dringen mit ihrem fadenförmigen Myzel in die Wurzelzellen ein und bilden dort bäumchenartige Organe, sog. Arbuskeln. Die 2500fach vergrösserte REM-Aufnahme von Prof. Rosmarie Honegger (Universität Zürich) zeigt eine Arbuskel innerhalb der aufgerissenen Zelle.

Fig. 1. The filamentous mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungi invades the root cells and form there arbuscular structures (arbuscules). The 2500 times magnified SEM photograph by Prof. Rosmarie Honegger (University of Zürich) shows an arbuscle within the ruptured cell walls.

2 LEBENSWEISE UND BEDEUTUNG DER ARBUSKULAREN MYKORRHIZEN

2.1 Kurzportrait der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze

Die Arbuskularen Mykorrhizen sind intensive Lebensgemeinschaften von Pflanzenwurzeln mit Pilzen aus der Reihe der Glomales (Zygomyceten). Auch in intensiv genutzten landwirtschaftlichen Flächen sind diese Pilze regelmässig anzutreffen. Das symbiotische Zusammenleben mit Pflanzen ist für sie lebensnotwendig. Die Pilzhyphen durchdringen die Zellwände der Pflanzenwurzeln und bilden innerhalb der Zellen die reich verzweigten Arbuskeln, die oft fast die ganzen Zellen ausfüllen (Abb. 1). Die Plasmamembran der Wurzelzelle schmiegt sich dem reich verzweigten Arbuskel eng an, wobei sich die Membranoberfläche um ein Vielfaches vergrössert. In der Zone zwischen Arbuskel und Zellmembran, dem sogenannten Interface, werden zwischen Pilz und Pflanze Moleküle als Signale oder als Nährstoffe ausgetauscht. In einer späteren Phase der Besiedlung bildet der Pilz in den Wurzelzellen oft sehr zahlreiche Vesikeln als Speicherorgane. Deshalb wurden diese Pflanzen-Pilz-Symbiosen früher als Vesikulare Arbuskulare Mykorrhizen (VAM) bezeichnet. Da jedoch nicht alle Pilze dieser Gruppe Vesikeln bilden, wird seit ein paar Jahren der einfachere Begriff Arbuskulare Mycorrhiza (AM) verwendet.

Von den intensiv besiedelten Wurzeln aus durchdringt der Pilz den ganzen Boden mit einem dichten Hyphengeflecht und tritt in enge Beziehungen mit den vielfältigen Bodenlebewesen. Die im Boden zahlreich gebildeten grossen Sporen (Abb. 2) sichern das Überleben der Pilzpopulationen über

[1] Ascomyceten (Schlauchpilze): zu ihnen gehören z. B. die Trüffel an Eichenwurzeln; Basidiomyceten (Ständerpilze), Mykorrhizen bilden besonders die Hutpilze, wie z. B. der Birkenpilz an Birke, der Butterröhrling an Kiefer, der Knollenblätterpilz an der Eiche, der Reizker, der Maronenröhrling und viele andere an der Fichte.

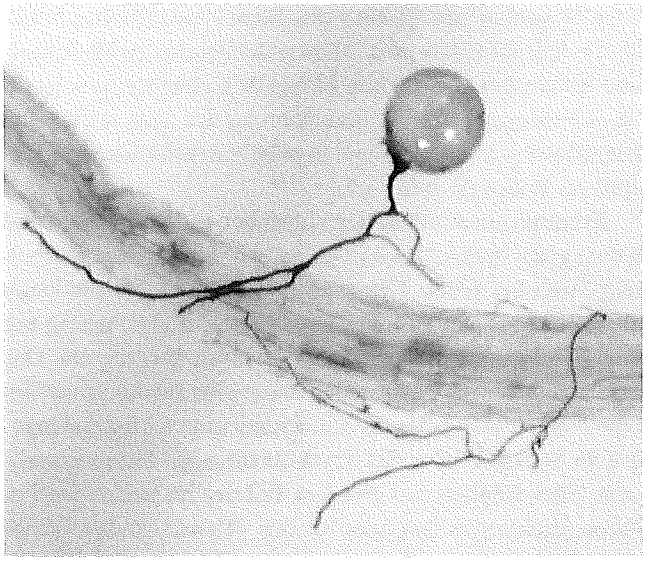

Abb. 2. Das Pilzmyzel wächst von der Wurzel in den Boden hinaus und bildet relativ grosse Sporen (80:1).

Fig. 2. From the root the fungal mycelium grows through the soil and forms relatively large spores (80:1).

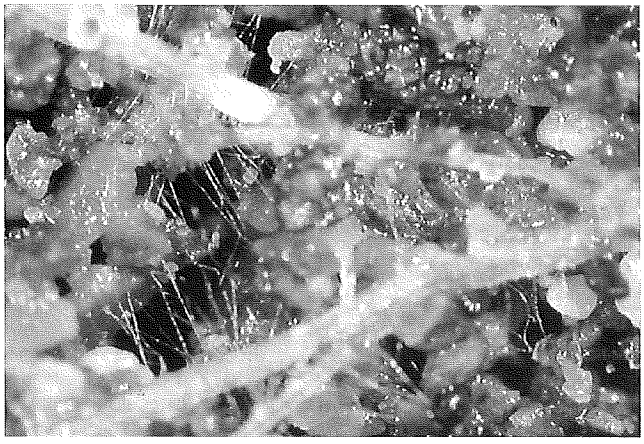

Abb. 3. Das Myzel der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze verbindet die Wurzeln untereinander und mit den biotischen und abiotischen Komponenten des Bodenökosystems (100:1).

Fig. 3. The mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungi interconnects the roots with each other and with the biotic and abiotic compartments of the soil ecosystem (100:1).

Monate und Jahre. Zu gegebener Zeit keimen sie aus und der Keimschlauch infiziert eine heranwachsende Wurzel.

Die AM stellen in allen klimatischen und geographischen Regionen allgemein verbreitete symbiotische Pilz-Wurzel-Systeme dar. Mit Ausnahme zum Beispiel der Kreuzblütler oder der Meldengewächse können sich diese Pilze in den Wurzeln fast sämtlicher Kultur- und Wildpflanzen rasch entwickeln. Der selbe Pilz kann Wurzel um Wurzel von Pflanzen unterschiedlichster Arten besiedeln und miteinander in Verbindung bringen (Abb. 3). Das symbiotische Zusammenleben dieser Pilze mit Pflanzen ist für alle Beteiligten in verschiedener Hinsicht von grossem Nutzen. Vor allem bilden die Pilze wichtige Verbindungen der Pflanzen zu den biotischen und abiotischen Komponenten des Bodens.

Das Phänomen der Mykorrhizen fasziniert Wissenschaftler verschiedenster Disziplinen. Projekte zur Erforschung der vielseitigen Interaktionen zwischen Mycorrhiza-Pilzen, Pflanzen und Boden eignen sich daher in besonderer Weise zur interdisziplinären Zusammenarbeit, die zu einem umfassenden und ganzheitlichen Verständnis des komplexen Bodenökosystems führen soll.

2.2 Koevolution der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze mit den Pflanzen

Die dem komplexen Bodenökosystem bestens angepasste Symbiose zwischen Pflanzen und Pilzen hat sich im Verlaufe der dynamischen Koevolution während Jahrmillionen in ständiger gegenseitiger Anpassung entwickelt. Zahlreiche fossile Funde zeigen, dass symbiotische Pilze bereits vor 300 bis 350 Millionen Jahren regelmässig in Wurzeln vorkamen und es ist anzunehmen, dass die ersten, sich aus den Meeren entwickelnden Landpflanzen den noch kargen und unwirtlichen Boden nur mit Hilfe dieser Pilze zu besiedeln vermochten.

In der Symbiose spielt sich zwischen Pilz und Pflanze gleichsam ein vielseitiger Dialog auf molekularer, biochemischer und physiologischer Ebene ab. Von einem Partner abgegebene Signalmoleküle lösen beim andern morphogenetische oder zellphysiologische Prozesse aus. So erkennt der Pilz aufgrund der von den Wurzeln ausgesandten Signale die Wirtspflanzen und findet so die Wurzeln auf direktem Weg. Andere pflanzliche Signale bewirken zum Beispiel eine netzartige Verästelung der im Boden wachsenden Pilzhyphen oder lösen beim Kontakt der Hyphen mit der Wurzel die Bildung von Haftorganen aus oder induzieren den Infektionsvorgang.

Während pathogene bodenbürtige Pilze in der Wurzel die Bildung von *Phytoalexine* genannten Abwehrstoffen induzieren oder morphologische Veränderungen der Zellwände auslösen, scheinen die AM-Pilze keine oder nur geringe derartige Signale auszusenden und daher keine Abwehrreaktionen auszulösen. Die neulich erzielten Fortschritte bei der Erforschung der Erkennungsprozesse, der Signalmoleküle und der Morphogenese (GIOVANNETTI et al., 1994) sind Voraussetzung für das bessere Verständnis der vielseitigen Interaktionen zwischen Pflanzenwurzel und AM-Pilz.

2.3 Arbuskulare Mykorrhizen im biogeochemischen Kreislauf

Festlegung und Freisetzung von Nährstoffen in Biomasse

Die AM bilden die wichtigste Bodenkomponente bezüglich der biogeochemischen Kreisläufe. Allgemein wird angenommen, dass die AM-Pilze in erster Linie die von der Pflanze in die Wurzeln verlagerten Kohlenhydrate als Kohlenstoffquelle nutzen und als Gegenleistung die Pflanze mit dem oft schwer verfügbaren Phosphat und andern Mineralstoffen versorgen. Auch Spurenelemente können der Pflanze zugeführt werden, so dass es nicht zu Mangelsymptomen kommt.

Treten umgekehrt Schwermetalle in hohen Konzentrationen als Bodenbelastung auf, können die AM-Pilze den Transport der Schwermetalle von der Wurzel in den Spross zu einem gewissen Grad reduzieren.

Das den Boden durchwachsende, aus relativ dicken Hyphen bestehende Myzelgeflecht und die grossen, oft sehr zahlreichen Sporen der AM-Pilze bilden in der Regel den grössten Teil der mikrobiellen Biomasse sowohl in den Wurzeln als auch im Boden; sie wird pro Hektare auf viele hundert Kilo geschätzt. Von besonderer Bedeutung ist der dynamische Zyklus zwischen dem raschen Aufbau des Pilzgeflechtes und seiner Auflösung (Mineralisierung) durch andere Bodenmikroorganismen.

Phosphorversorgung

In zahlreichen Untersuchungen wurde gezeigt, dass die AM-Pilze eine wesentliche Rolle beim Kreislauf der Stoffe, insbesondere bei der Verbesserung der Phosphatversorgung der Pflanzen spielen (Cox et al., 1975; Jakobsen et al., 1994). Beträchtliche Unterschiede bezüglich der Phosphatversorgung und somit der Entwicklung der Pflanzen werden regelmässig in Böden mit ungenügendem Gehalt an verfügbarem Phosphat beobachtet. Wegen der langsamen Diffusion und der starken Adsorption der Phosphate an die Bodenpartikeln bildet sich um die Wurzeln eine mit Phosphat unterversorgte sog. Verarmungszone. Die Hyphen der Wurzelpilze können Phosphate aus entfernter liegenden Bodenzonen aufnehmen, zu den Wurzeln transportieren und so das Pflanzenwachstum wesentlich fördern.

Stickstoffversorgung

Die Bedeutung der Mykorrhizen im Kreislauf des Stickstoffes wurde bis anhin wenig beachtet. Die Biomasse der Mycorrhiza-Pilze ist reich an Stickstoff; allein das in den Zellwänden vorhandene Chitin weist einen beträchtlichen Stickstoffgehalt auf (Frey et al., 1994). Der bereits erwähnte Auf- und Abbau dieser pilzlichen Biomasse bedeutet eine wesentliche Festlegung bzw. Mineralisierung des Stickstoffes und beeinflusst somit den Gehalt an pflanzenverfügbarem Stickstoff im Boden (s. unten 3.1).

Erfahrungen aus dem Getreideanbau in Norddeutschland haben gezeigt, dass das im Herbst in den Boden eingearbeitete Stroh bei tiefen Temperaturen über den Winter kaum abgebaut wird. Im Frühjahr hingegen setzt gleichzeitig mit dem Wachstum der neuen Saat der Abbauvorgang ein. Das Stroh stellt für die Mikroorganismen eine reichlich verfügbare Kohlenstoffquelle dar, jedoch mit einem Minimalangebot an Stickstoff. Die das Stroh abbauenden Mikroorganismen legen folglich den grössten Teil des im Boden verfügbaren Stickstoffes fest, was bei den Pflanzen zu gravierendem Stickstoffmangel, ausgeprägter Chlorose und Wachstumshemmung führt.

Auch die AM-Pilze benötigen im Frühjahr beim Aufbau ihrer gewaltigen Biomasse in- und ausserhalb der Wurzel sehr viel Stickstoff. Der im Pilzgewebe festgelegte Stickstoff steht dann für das einsetzende Pflanzenwachstum nicht mehr zur Verfügung. Eigentlich wäre damit zu rechnen, dass der Pilz dabei in eine erhebliche Nährstoffkonkurrenz mit der Pflanze treten würde. Die Frage, warum es dennoch in diesem Zusammenhang für die Pflanzen zu keinem offensichtlichen Stickstoffmangel kommt, sondern im Gegenteil bisher nur positive Auswirkungen der Pilze auf das Pflanzenwachstum beobachtet wurden, ist noch nicht beantwortet.

Umfassendere Kenntnisse sind erforderlich, um die Bedeutung der Mycorrhiza-Pilze bei der Stickstoffernährung der Pflanze, beim Stickstoffkreislauf im Boden und auch bezüglich einer verminderten Nitratauswaschung ins Grundwasser zu beurteilen. Diesbezügliche Forschung wird in Kap. 3 vorgestellt. Sparsamer und gezielter Einsatz von Mineraldünger ist erst möglich, wenn neben den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens auch die Rolle der Mikroorganismen im Boden besser verstanden wird.

Bodenqualität: Struktur und organische Substanz

Die Bodenqualität und die Pflanzenentwicklung werden durch zahlreiche Faktoren bedroht. Eine Verschlechterung der Bodenstruktur und der Krümelstabilität beeinträchtigt nicht nur die Durchlüftung, Wasserführung und Speicherung von Nährstoffen, sondern fördert gleichzeitig auch die Erosion. Das den Boden durchwachsende Pilzmyzel trägt wesentlich zur Verbesserung der Bodenstruktur bei und erhöht die Krümelstabilität.

Ein schwerwiegendes Problem bedeutet im heutigen Pflanzenbau der ständige Rückgang der organischen Substanz, insbesondere der Huminstoffe. Die Bedeutung der AM in diesem Zusammenhang ist noch Hypothese. Es steht jedoch fest, dass die AM-Pilze dem Boden von der Wurzel her Nährstoffe zuführen und somit die allgemeine Aktivität der Bodenlebewesen wesentlich fördern. Es ist anzunehmen, dass dabei auch die Streptomyceten, die in erster Linie beim Aufbau der Huminstoffe beteiligt sind, wesentlich profitieren.

Noch kaum erforscht sind die kompetitiv-saprophytischen Fähigkeiten der AM-Pilze im Bodenökosystem, das heisst die Frage, ob und in welchem Ausmass sie im Boden vorhandenes organisches Material abbauen und verwerten können.

2.4 Interaktionen innerhalb der Biozönose des Bodens

Im Verlaufe der Koevolution haben die AM-Pilze enge Beziehungen zu den übrigen Bodenorganismen entwickelt. Die Hyphen der AM-Pilze vernetzen die Pflanzenwurzeln untereinander und mit den verschiedenartigen abiotischen und biotischen Kompartimenten des Bodenökosystems, stellen somit eine Art «Boden-Internet» dar. Die dynamische Bildung der pilzlichen, über den ganzen Boden verteilten Biomasse stellt zudem eine äusserst wichtige Energiequelle für die übrigen Bodenorganismen dar, wodurch die allgemeine Bioaktivität des Bodens erhöht wird.

Verschiedene Versuchsergebnisse der letzten Jahre zeigten auch, dass sich die dreifachen Symbiosen von mykorrhizierten Pflanzen und N_2-fixierenden, knöllchenbildenden Mikroorganismen für alle drei Symbiosepartner von Nutzen ist (PUPPI et al., 1994). Positive symbiotische Effekte wurden sowohl bei den Knöllchenbakterien der Leguminosen (Rhizobien) als auch bei den zur Gattung *Frankia* gehörenden, knöllchenbildenden Actinomyceten bei den Erlen gefunden.

Verschiedene zurzeit laufende Forschungsprojekte befassen sich mit den positiven Interaktionen zwischen AM-Pilzen und andern für das Pflanzenwachstum und die langfristige Bodenfruchtbarkeit essentiellen Gruppen von Bodenorganismen. Von besonderer Bedeutung sind auch die antagonistischen Interaktionen der AM gegenüber pathogenen bodenbürtigen Pilzen, z. B. aus den Gattungen *Fusarium, Phytophthora, Thielaviopsis* oder *Aphanomyces* (HOOKER et al., 1994).

Ein besseres Verständnis der antagonistischen und synergistischen Interaktionen der Mykorrhizen innerhalb der Bodenbiozönose ist die Voraussetzung für biotechnische Anwendungen zur Verbesserung der Bodenfruchtbarkeit und zur erfolgreichen biologischen Bekämpfung wurzelpathogener Pilze.

2.5 Genetische Diversität der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze

Trotz der grossen morphologischen Ähnlichkeit lassen die Forschungsergebnisse der letzten Jahre bei den AM-Pilzen eine ungeahnte physiologische und biochemische Diversität erkennen, die sich natürlich auch in ökologischer Hinsicht auswirkt.

Auch geringe oder sehr spezifische genetische Unterschiede verschaffen den einzelnen Pilzisolaten je nach Witterung und Jahreszeit und je nach dem physiologischen Zustand der Pflanzen im überaus heterogenen Bodenökosystem selektive Vor- oder Nachteile. Nur so ist es zu erklären, dass sich auf derselben Fläche, auf den gleichen Wirtspflanzen mehrere Pilzarten und -populationen auch langfristig entwikkeln können ohne sich durch gegenseitige Konkurrenz zu verdrängen.

In umfassenden Untersuchungen wird zurzeit abzuklären versucht, wie die Symbiose gefördert oder verbessert werden kann - im Sinne einer nachhaltigen, weniger intensiven Landwirtschaft. Die Methoden zur Produktion und Applikation von pilzlichen Inokula sind erarbeitet. Das Problem liegt jedoch bei der Charakterisierung und Auswahl der für die Beimpfung geeigneten Isolate.

Obwohl praktisch alle *Glomus*-Arten die selben Wirtspflanzen besiedeln können, unterscheiden sie sich doch in der Affinität zu verschiedenen Pflanzenarten. Auch bezüglich vieler anderer Eigenschaften treten grosse inter- und intraspezifische Unterschiede auf. So variieren die Isolate zum Beispiel ganz erheblich in der Effizienz der Phosphataufnahme, der Besiedlung der Wurzel, als Antagonist gegenüber spezifischen pathogenen Pilzen oder in ihrer allgemeinen Fähigkeit, die Entwicklung und das Wachstum der Pflanze zu fördern. Die einzelnen Stämme sind auch sehr unterschiedlich empfindlich gegenüber Phosphat- oder Schwermetallkonzentrationen im Boden, gegenüber Trokkenheit, pH und vieler anderer Bodeneigenschaften.

Da die Mycorrhiza-Populationen sich in ihren Beziehungen zu Pflanze und Boden sehr stark unterscheiden, sind die Untersuchungen mit einzelnen, gut charakterisierten Pilzisolaten in einem eingehend beschriebenen Ökosystem durchzuführen. Es ist schwierig, geeignete Isolate auszulesen, die alle gewünschten positiven Eigenschaften haben und sich

gleichzeitig unter den vorgesehenen Praxisbedingungen gut entwickeln und über längere Zeit etablieren können.

Dank der heute zur Verfügung stehenden, neuen molekularbiologischen Methoden wird es möglich, die ausgeprägte biochemische und physiologische Diversität der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze eingehend zu analysieren. Besonders die auf der PCR (Polymerase Chain Reaction) und der RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) basierenden Methoden ermöglichen eine umfassende Charakterisierung der Mycorrhiza-Pilze. Dank der internationalen Zusammenarbeit im Rahmen der COST Aktion 821 wird die inter- und intraspezifische Diversität eingehend untersucht werden. Die umfassend charakterisierten Mycorrhiza-Pilze werden von der BEG, der Europäischen Sammlung der zu den Glomales gehörenden Pilze, an interessierte Institute kostenlos abgegeben.

3 FALLBEISPIELE AUS DER FORSCHUNG

3.1 Zur Dynamik der Biomasse der Mycorrhiza-Pilze

Die pilzliche Biomasse wird einerseits endogen in den Wurzeln und andererseits ausserhalb der Wurzel, über den ganzen Boden verteilt, gebildet. Nur wenige Arbeiten befassen sich mit der Dynamik der Biomasse der Mycorrhiza-Pilze im Boden. Sie lässt sich mittels mikroskopischer und biochemischer Methoden bestimmen.

Die Intensität der Pilzbesiedlung der Wurzel kann nach spezifischer Färbung des Pilzgewebes und nach Aufhellung der intakten Wurzelsegmente bestimmt werden (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980). Mit der Membran-Filter-Technik nach ABBOTT et al. (1984) kann auch die totale Hyphenlänge pro Einheit Boden bestimmt werden. Meist werden Hyphenlängen von vielen Metern pro Gramm Boden gemessen. Mit Hilfe einer andern Methode (VILARINO et al., 1993) konnten wir aus sandigem Boden die relativ langen Myzelfäden mit einem mit grosser Drehzahl rotierenden Draht aufwickeln und so die Biomasse bei einer guten Ausbeute gewichtsmässig bestimmen.

Zur biochemischen Bestimmung der pilzlichen Biomasse eignen sich Chitin und Ergosterol. Chitin ist Bestandteil der Zellwände der AM-Pilze, und Ergosterol ist eine spezifische Komponente in den Zellmembranen von Pilzen. Beide Substanzen kommen im Pilzgewebe regelmässig vor und können als Indikatoren für die pilzliche Biomasse verwendet werden, zumal sie von höheren Pflanzen nicht gebildet werden.

Das pilzliche Trockengewicht besteht zu 0,7-1% aus Sterolen, vorwiegend Ergosterol (WEETE, 1974). Ergosterol kann mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie bestimmt werden. Mit Gaschromatographie/Massenspektrometrie wurde Ergosterol zuerst identifiziert. Bei der Kontrolle ohne Mykorrhizen erscheint der Ergosterol-Peak nur in Spuren. Mykorrhisierte Pflanzen weisen einen etwa 5- bis 10mal höheren Ergosterolgehalt auf als pilzfreie Pflanzen (FREY et al., 1992).

Mikroskopisch und biochemisch bestimmte Werte der Biomasse von AM-Pilzen zeigen eine gute Korrelation zwischen Chitingehalt und Hyphenlänge (Abb. 4) (FREY et al., 1994).

Um das Wachstum des Pilzmyzels im wurzelfreien Boden zu untersuchen, wurde ein spezielles Küvettensystem angefertigt (SCHÜEPP et al., 1992). Der Boden und die schmalen Wände der 15 cm tiefen, 15 cm breiten und 2 cm dicken Küvetten werden von einem u-förmigen Chromstahlblech gebildet, während ein Sandwich aus drei Polyamidgeweben als breite Seitenfläche dient. Das Sandwich besteht aus einem feinen Polyamidgewebe mit einer sehr regelmässigen Maschenweite von 30 oder 40 µm, das beidseitig mit einem gröberen Gewebe mit einer Maschenweite von 1 mm verstärkt ist. Das Netz-Sandwich kann von den Wurzeln nicht durchwachsen werden, während die Pilzhyphen dieses ungehindert passieren können (Abb. 5).

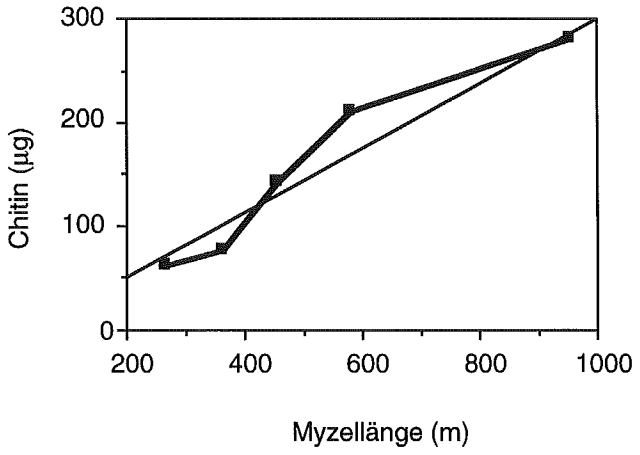

Abb. 4. Korrelation zwischen der totalen Myzellänge der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze im Boden und dem Chitingehalt der Pilzbiomasse.

Fig. 4. Correlation between the total mycelium length of the arbuscular mycorrhizal fungi in the soil and the chitin content of the fungal biomass.

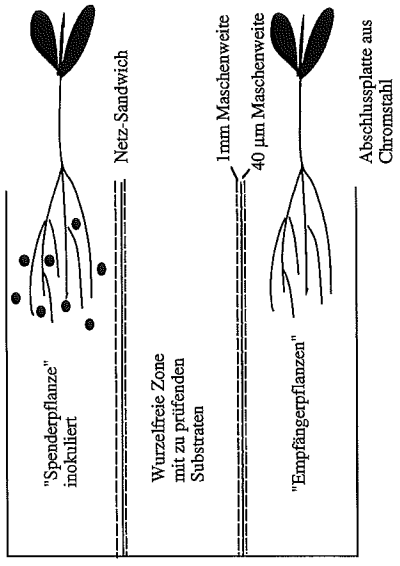

Abb. 5. Küvettensystem mit Testpflanzen in der ersten und dritten Küvette sowie wurzelfreie Zone in der zweiten Küvette, um das Verhalten und die Aktivität der Arbuskularen Mycorrhiza-Pilze zu untersuchen. Die drei Küvetten sind voneinander mit Septen aus Netz-Sandwich (Netz mit 40 µm Maschenweite, beidseits verstärkt mit Netzen von 1 mm Maschenweite) getrennt, die von Pilzhyphen, nicht aber von Wurzeln penetriert werden können. Die schwarzen, ovalen Körper bei der Spenderpflanze stellen ein Inokulum des Mykorrhizapilzes dar.

Fig. 5. Cuvette system containing testplants in the first and third cuvette and a root-free compartment in the second cuvette to investigate growth and activity of the arbuscular mycorrhizal fungi. The cuvettes are separated from each other by net-sandwiches (net of 40 µm mesh-width fortified on both sides with nets of 1 mm mesh-width) that can be penetrated by fungal hyphae but not by roots. The black ovoid bodies in the first cuvette represent an inoculum of an arbuscular mycorrhizal fungus.

Von der in einer ersten Küvette wachsenden, mit einem Mycorrhiza-Pilz inokulierten sog. Spenderpflanze aus kann der Pilz eine angrenzende, wurzelfreie zweite Küvette durchwachsen und in einer dritten Küvette die sog. Empfängerpflanze infizieren. Durch laufende Kontrollen der Wurzeln von Empfängerpflanzen lässt sich die Zeit bestimmen, die der Pilz braucht, um die wurzelfreie Zone zu durchwachsen. Je nach Versuchsfrage kann das Küvettensystem beliebig erweitert und kombiniert werden. Mehrere der u-förmigen Chromstahlbügel können ohne Trennwand aneinandergereiht werden, um die Dicke der Küvette zu variieren.

In wurzelfreien Küvetten kann das Verhalten von Mycorrhiza-Pilzen in verschiedenen Bodenproben und Substraten oder in mit spezifischen Wirkstoffen versehene Substrate untersucht werden. Das Küvettensystem eignet sich jedoch besonders auch, um die Biomasse der AM-Pilze und ihre Aktivitäten zu bestimmen oder um den Stofftransport über das Bodenmyzel zu untersuchen.

3.2 Arbuskulare Mykorrhizen und Stickstoffzyklus

Im Gegensatz zu den zahlreichen Arbeiten über die Bedeutung der AM für die Phosphorernährung der Pflanzen ist die Literatur über die Bedeutung der Mykorrhizen bezüglich der Stickstoffernährung der Pflanze sehr spärlich (BETHLENFALVAY & SCHÜEPP, 1994).

In eigenen Versuchen konnte gezeigt werden, dass Pilzhyphen Stickstoff über grössere Distanzen transportieren, den Pflanzen zuführen und allenfalls auch von einer Pflanze zur andern transferieren können. Anhand einiger Beispiele sollen Methoden und Resultate kurz dargelegt werden.

Als Testpflanzen dienten Mais, Alexandrinerklee und Apfelsämlinge. Die Experimente wurden in den oben beschriebenen Küvettensystemen mit Hilfe des stabilen Isotops ^{15}N durchgeführt. Stickstoff liegt in der Natur zu 99,66% als ^{14}N und zu 0,33% als nicht radioaktives ^{15}N vor. Die beiden Formen verhalten sich im Boden und in der Pflanze gleich. Abb. 6 gibt einen Überblick über den Versuchsaufbau. In das wurzelfreie, jedoch mit Myzel eines Mycorrhiza-Pilzes besiedelte Bodenkompartiment wurde 6 cm von den Wurzeln entfernt ein mit ^{15}N angereicherter Stickstoffdünger als Ammoniumsulfat [$(^{15}NH_4)_2SO_4$] eingespritzt. Die Analyse (Abb. 7) der Versuchspflanzen (Mais) ergab signifikant erhöhte ^{15}N-Werte in mykorrhisierten Pflanzen gegenüber Kontrollpflanzen (FREY & SCHÜEPP, 1993a). In einer weiteren Versuchsvariante wurde die Erde in der wurzelfreien Küvette alle zwei Tage mit einem Spatel durchschnitten, um die Hyphenverbindungen zu unterbrechen. In diesem Fall wurde kein ^{15}N zur Pflanze transportiert.

Die Anordnung in Abb. 8 mit den vier Küvetten A–D ist ein weiteres Beispiel, wie der Transfer von Stickstoff zwischen Pflanzen mittels Pilzmyzel untersucht werden konnte. Es sollte gezeigt werden, dass der Stickstoff eines in A applizierten Düngers durch das Myzel eines AM-Pilzes zu einer Maispflanze in D transferiert werden könne. Damit der Versuch beweiskräftig sei, musste verhindert werden, dass mit ^{15}N markierte Nährlösung vom Applikationsort in A passiv in die übrigen Küvetten diffundieren konnte. Dies wurde durch eine zwischen A und B montierte Chromstahlplatte erreicht. Die Küvetten C und D waren voneinander durch pilzdurchlässige Netz-Sandwiches (s. oben) getrennt, B und C nur in Versuchsvariante III, während in Variante II ein für Nährstoffe zwar durchlässiger, für Pilzhyphen jedoch

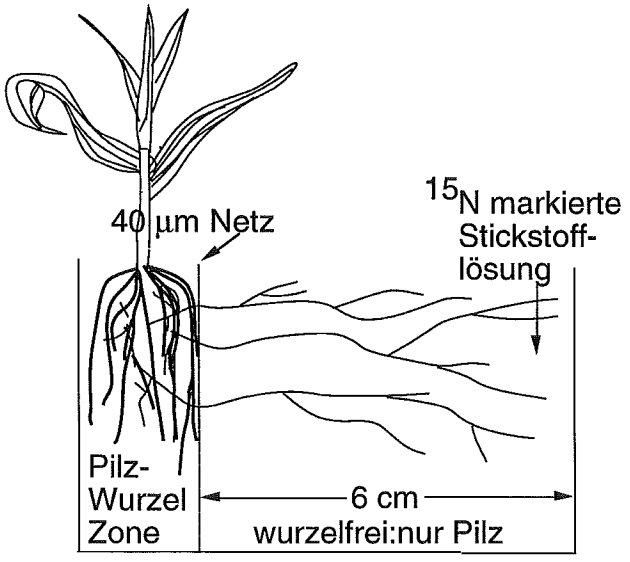

Abb. 6. In der ersten Küvette wächst die mit einem Arbuskularen Mycorrhiza-Pilz infizierte Pflanze. Die Küvette ist durch ein Netz-Sandwich-Septum von einem 6 cm tiefen, wurzelfreien Raum separiert. Im Gegensatz zu den Wurzeln durchwächst das Pilzmyzel das Septum und breitet sich in der Erde des wurzelfreien Raumes aus. In diesem Kompartiment wird 6 cm von den Wurzeln entfernt ^{15}N markierte Ammoniumsulfatlösung in den Boden eingespritzt. Das Pilzmyzel transportiert ^{15}N zu den Wurzeln (s. Abb. 7). - Wird in einer weiteren Versuchsvariante der Boden in der wurzelfreien Küvette jedoch alle zwei Tage mit einem Spatel durchschnitten, um die Hyphenverbindung zu unterbrechen, wird kein ^{15}N transportiert.

Fig. 6. In the first cuvette a plant was inoculated with an arbuscular mycorrhizal fungus. Contrary to the fungal mycelium the roots cannot penetrate the net-sandwich. ^{15}N marked ammoniumsulphate solution was added to the soil at a distance of 6 cm from the roots. The mycelium transports ^{15}N to the roots (see Fig. 7). – If in another setup the soil in the root-free cuvette is cut with a spatula every second day to disrupt the hyphal connections no ^{15}N is transported.

undurchlässiger Membranfilter mit 0,43 µm Porenweite eingesetzt wurde. Der Trick bestand nun darin, eine Kleepflanze so in A und B zu plazieren, dass sich ein Teil ihrer Wurzeln in A, der andere Teil in B befand (split root-system). Der Stickstoff der in A verabreichten, mit ^{15}N markierten Nährlösung wurde von den Kleewurzeln in den Spross und von dort zurück in die Wurzeln in B transportiert. Ausser in der ersten der drei Versuchsvarianten (I-III) wurden die Wurzeln in B mit dem AM-Pilz *Glomus interradices* infiziert. Der Pilz wächst (wenn nicht daran gehindert, wie in Var. II) von diesen Wurzeln durch die wurzelfreie Küvette C und besiedelt von dort die Wurzeln der Empfängerpflanze in D. Dabei bringt er einen wesentlichen Teil des in A applizierten ^{15}N zur Empfängerpflanze. Von den drei mit römischen Zahlen bezeichneten Versuchsvarianten ist Variante I die Kontrolle ohne AM-Pilz, während bei der Variante II den Pilzhyphen das

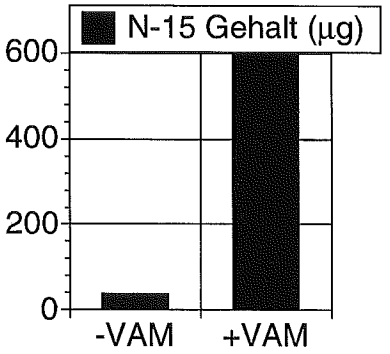

Abb. 7. ^{15}N-Gehalt von Maispflanzen aus der Versuchsanlage Abb. 6, wenn die Pflanzen nicht inokuliert (-VAM = Kontrollen) bzw. mykorrhisiert wurden (+VAM). Letztere nahmen wesentlich mehr ^{15}N auf als die Kontrollpflanzen.

Fig. 7. ^{15}N contents of maize plants from the experimental set-up of Fig. 6, if the plants were respectively not inoculated (-VAM = controls) or inoculated with mycorrhizas (+VAM). In the latter uptake of ^{15}N was considerably higher than in the controls.

Auswachsen in die Küvette C verwehrt wurde, was bewirkte, dass in den Varianten I und II kein ^{15}N zur Maispflanze transportiert wurde, während im ungestörten mykorrhisierten System III ein wesentlicher N-Transport stattfand (FREY & SCHÜEPP, 1993b).

In einem anderen Experiment (Abb. 9) wurde markierter Stickstoff als für die Pflanzen und Pilz nicht verfügbarer gasförmiger $^{15}N_2$ den stickstoff-fixierenden Rhizobien (Knöllchenbakterien) von Klee zugeführt. Dazu wurden die Bodenkompartimente der Küvetten mit einem gasdichten Plastiksack abgeschlossen. Die Pflanzen wuchsen aus diesem gasdichten System heraus und konnten sich in der natürlichen Atmosphäre entwickeln. Durch ein Ventil des Plastiksackes wurde ein Gemisch von O_2, $^{14}N_2$ und $^{15}N_2$ zugeleitet. Alexandrinerklee mit Rhizobien wurde als Spenderpflanze und Mais als Empfängerpflanze verwendet. Das Resultat war, dass Pilzhyphen den symbiotisch fixierten Stickstoff von der Leguminose zur Nichtleguminose (Mais) transportierten (FREY & SCHÜEPP, 1992). Dabei wurden in den mykorrhisierten Systemen signifikant höhere (wenn auch nur geringe) Mengen von ^{15}N in der Empfängerpflanze gemessen als in Systemen ohne Mykorrhizen. Da sich der Versuch aus methodischen Gründen nur über eine relativ kurze Zeit erstrecken liess, konnte die Phase der aktiven Stickstoff-Fixierung leider nicht leicht mit der Phase des optimalen Transportes in den Pilzhyphen synchronisiert werden.

Die Versuche mit ^{15}N zeigten eindeutig, dass das Aussenmyzel der AM-Pilze die N-Konzentration in der Wirtspflanze wesentlich erhöhen kann und in einem Fall bis zu 30% zur totalen N-Aufnahme von Mais beitrug. Da zwischen verschiedenen Pilzisolaten wesentliche Unterschiede in der ^{15}N-

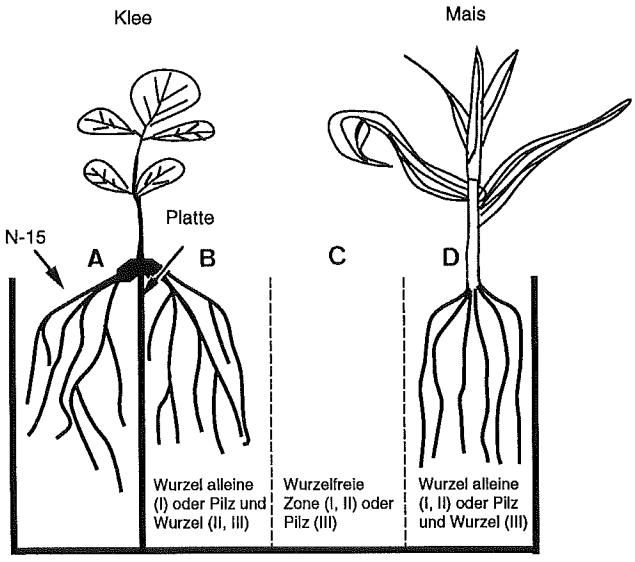

Abb. 8. Küvettensystem aus 4 Einheiten (A, B, C, D). A und B sind durch eine Chromstahlplatte gegeneinander vollständig abgedichtet, was keine direkte Nährstoffdiffusion von A nach B erlaubt. B-D sind voneinander durch Netz-Sandwiches getrennt. In D ist eine Maispflanze eingesetzt, während eine Kleepflanze so plaziert ist, dass sich ein Teil ihrer Wurzeln in A, der andere Teil in B befindet. Ausgenommen in der 1. der Versuchsvarianten I–III sind die Wurzeln in B mit dem Mykorrhiza-Pilz *Glomus interradices* infiziert. In A wird eine mit ^{15}N markierte Nährlösung verabreicht. Der markierte Stickstoff wird in den Spross und von da zurück zu den Wurzeln in B transportiert. Der Pilz (wenn nicht verhindert, wie bei Variante II, bei der B und C durch einen für Pilzhyphen unpassierbaren Membranfilter mit 0,43 µm Porenweite getrennt sind) durchwächst die angrenzende, wurzelfreie Küvette C und bringt einen wesentlichen Teil des applizierten ^{15}N zur Maispflanze in D. Details zu den Versuchsvarianten und Resultate im Text.

Fig. 8. System of 4 cuvettes (A, B, C, D). In order to prevent direct diffusion of nutrients A and B are separated by a stainless steel plate. B, C, and D are separated by net-sandwiches. A maize plant grows in D, whereas a Trifolium is planted in such a way that one part of its roots is located in A and the other in B. Except for the first of the experimental set-ups, I–III, the roots in B are inoculated with a mycorrhizal fungus (Glomus interradices). ^{15}N labelled nutrient solution is added to A. The labelled nitrogen is taken up to the shoot and from there transported back to the roots in B. The fungus (if not prevented as in setup II, where a membrane filter of pore size 0.43 µm separates B and C) penetrates into the adjacent root-free cuvette C and grows from there to the roots of the maize plant in D, transporting a considerable amount of the applied ^{15}N to the maize plant. More details and results in the text.

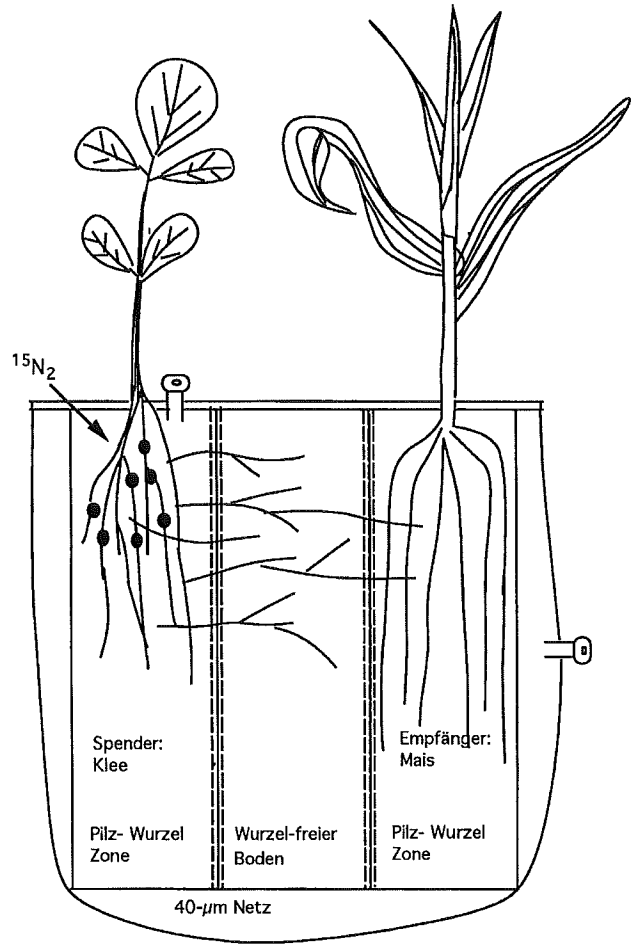

Abb. 9. Gasförmiges $^{15}N_2$ wird den Wurzeln einer mykorrhisierten Kleepflanze und einer Maispflanze zugeleitet. Der molekulare Stickstoff wird von den Rhizobien in den Knöllchen der Kleepflanze (schwarze Körperchen an den Wurzeln) fixiert und von da vom Pilz über eine wurzelfreie Zone zur Maispflanze transportiert. Die drei Küvetten sind je 2 cm dick und werden durch Netz-Sandwiches voneinander getrennt. Das Küvettensystem wurde für die $^{15}N_2$-Applikation in einen Plastikbeutel eingeschlossen. Ergänzungen im Text.

Fig. 9. $^{15}N_2$ is fixed in the nodules of a Trifolium plant from where it is transported through a root-free compartment to the roots of a maize plant. Each of the three cuvettes is 2 cm thick; they are separated from each other by 40 µm nets. The cuvette system was enclosed in a plastic bag during the application of $^{15}N_2$.

Aufnahme bestehen, lassen sich die Resultate nicht einfach verallgemeinern. Die verschiedenen Isolate bilden unterschiedlich grosse Myzelmengen im wurzelfreien Boden (Aufnahmeoberfläche, Bodenbesiedlung) und können andererseits unterschiedliche Aufnahmekapazitäten haben.

4 SYNTHESE: BEDEUTUNG DER ARBUSKULAREN MYKORRHIZEN

Das Bodenmyzel bedeutet für die Wurzel eine zusätzliche Nährstoffe absorbierende Oberfläche und verbessert so die Nährstoffaufnahme, insbesondere von Phosphat und Spuren-

elementen. Im Gegensatz zu den Wurzelhaaren bildet das Myzel im Boden ein effizientes Absorptionssystem mit längerer Lebensdauer und - in einem grösseren Bodenvolumen - auch jenseits der Verarmungszone um die Wurzel herum. Pilzliche Wuchsstoffe verändern auch die Morphologie und Physiologie der Wurzeln, wodurch die Nährstoffaufnahme erhöht wird.

Das Pilzmyzel kann auch Stickstoff aus dem Boden aufnehmen und in beträchtlichen Mengen zur Pflanze transportieren. Welche Bedeutung dem dynamischen Auf- und Abbau der Biomasse im komplexen Stickstoffzyklus zukommt, ist noch zuwenig erforscht. Ob das Pilzmyzel der Pflanze auch bei hohem Ammonium- und niedrigem Nitratgehalt Stickstoff zuführen kann und ob auch bei vermindertem Nährstoffffluss in ariden Gebieten sowie bei gehemmter Nitrifikation, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Die beträchtliche Immobilisierung von Stickstoff in der Pilzbiomasse und dessen Remobilisierung zu einem späteren Zeitpunkt oder der Transfer von Stickstoff von Pflanze zu Pflanze können allenfalls das Auswaschen aus dem Boden ins Grundwasser verhindern.

Mykorrhizen erhöhen die Widerstandsfähigkeit von Pflanzen unter Stress, zum Beispiel bei Trockenheit, bei Versalzung, hohem Gehalt pflanzentoxischer Stoffe, bei Staunässe oder Kälteeinbruch.

Von grosser Bedeutung ist die antagonistische Wirkung von Mykorrhizen gegenüber pathogenen Wurzelpilzen, die sich chemisch nicht bekämpfen lassen.

Den Mycorrhiza-Pilzen kommt bei der Mikrovermehrung[2] von Pflanzen eine besondere Bedeutung zu. Mit Mycorrhiza-Pilzen beimpfte, mikrovermehrte, sterile Jungpflanzen können sich besser an die Bedingungen in unsterilen Substraten oder im Feld anpassen und werden somit in ihrer Entwicklung wesentlich gefördert.

Dem Boden über das dichte Pilzgewebe zugeführte Nährstoffe bedeuten eine wesentliche Energiequelle für andere Bodenorganismen und bewirken somit eine erhöhte Bioaktivität.

Einer der wichtigsten Beiträge der AM-Pilze ist, im Sinne der nachhaltigen Landwirtschaft, die Verbesserung der Bodenstruktur und der Krümelstabilität.

5 DANK

Wir danken dem Bundesamt für Bildung und Wissenschaft für die finanzielle Unterstützung im Rahmen der COST-Aktionen 810 und 821 und das unseren Forschungsarbeiten entgegengebrachte Interesse.

[2] *In vitro*-Vermehrung aus Zellen oder kleinen Zellverbänden.

6 LITERATUR

ABBOTT, L.K., ROBSON, A.D. & DE BOER, G. 1984. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fascicuatum*. - New Phytologist *97*, 437-446.

BERNARD, N. 1909. L'évolution dans la symbiose. - Ann. Sci. nat. Bot. *9*, 1-96.

BETHLENFALVAY, G. & SCHÜEPP, H. 1994. Arbuscular mycorrhizae, the soil biota, and agrosystem stability. In: «Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems», S. GIANINAZZI & H. SCHÜEPP (eds.), pp. 117-131. - Birkhäuser, Basel, 226 pp.

COX, G., SANDERS, F.E., TINKER, P.B. & WILD, J.A. 1975. Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: «Endomycorrhizas», F.E. SANDERS, B. MOSSE & P.B. TINKER (eds.), pp. 298-312. - Academic Press, 626 pp.

FRANK, A.B. 1885. Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. - Ber. Deut. Bot. Ges. *3*, 128-145.

FREY, B. & SCHÜEPP, H. 1992. Transfer of symbiotically fixed nitrogen from berseem (*Trifolium alexandrinum* L.) to maize via vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae. - Phytol. *122*, 447-454.

FREY, B. & SCHÜEPP, H. 1993a. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. - New Phytol. *124*, 221-230.

FREY, B. & SCHÜEPP, H. 1993b. A role of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal fungi in facilitating interplant nitrogen transfer. - Soil Biol. Biochem. *25*, 651-658.

FREY, B., BUSER, H.R. & SCHÜEPP, H. 1992. Identification of ergosterol in vesicular-arbuscular mycorrhizae. - Biology and Fertility of Soils *13*, 229-234.

FREY, B., VILARINO, A., SCHÜEPP, H. & ARINES, J. 1994. Chitin and ergosterol content of extraradical and intraradical mycelium of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. - Soil Biol. Biochem. *26*, 711-717.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. - New Phytol. *84*, 489-500.

GIOVANNETTI, M., SBRANA, C., CITERNESI, A.S., AVIO, L., GOLLOTTE, A., GIANINAZZI-PEARSON, V. & GIANINAZZI, S. 1994. Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In: «Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems», S. GIANINAZZI & H. SCHÜEPP (eds.), pp. 61-72. - Birkhäuser, Basel, 226 pp.

HOOKER, J.E., JAIZME-VEGA, M. & ATKINSON, D. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. In: «Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems», S. GIANINAZZI & H. SCHÜEPP (eds.), pp. 191-200. - Birkhäuser, Basel, 226 pp.

JAKOBSEN, I., JONER, E.J. & LARSEN, J. 1994. Hyphal phosphorus transport, a keystone to mycorrhizal enhancement of plant growth. In: «Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems», S. GIANINAZZI & H. SCHÜEPP (eds.), pp. 133-146. - Birkhäuser, Basel, 226 pp.

PUPPI, G., ASCON, R. & HÖFLICH, G. 1994. Management of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with essential groups of soil microorganisms. In: «Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems», S. GIANINAZZI & H. SCHÜEPP (eds.), pp. 201-215. - Birkhäuser, Basel, 226 pp.

SCHÜEPP, H., BODMER, M. & MILLER, D.D. 1992. A cuvette-system designed to enable monitoring of growth and spread of hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi external to plant roots. In: «Methods in microbiology; techniques for the study of mycorrhiza», J.R. NORRIS, D.J. READ & A.K. VARMA (eds.), *24*, 67-76. - Academic Press, London, 450 pp.

VILARINO, A., SCHÜEPP, H. & ARINES, J. 1993. Extraction of extraradicular VA mycorrhizal mycelium from sand samples. - Soil Biol. Biochem. *25*, 99-100.

WEETE, J.D. 1974. Fungal lipid biochemistry: distribution and metabolism. - Plenum Press, New York, 160 pp.

PD Dr. Hannes Schüepp, Eidg. Forschungsanstalt Wädenswil, CH-8820 Wädenswil.

Dr. Beat Frey, Eidg. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft, CH-8903 Birmensdorf.