

DISS. ETH NO. 20469

**MYCORRHIZAL COMMUNITIES IN A GLACIER FOREFIELD -
SIZE, COMPOSITION AND FUNCTIONING**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

Monika Welc Mahrez

MSc of Biology, Kazimierz Wielki University of Bydgoszcz, Poland

Born June 14, 1978

citizen of Poland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Emmanuel Frossard, examiner

Prof. Dr. Thomas Kuyper, co-examiner

Dr. Jan Jansa, co-examiner

2012

Summary

More than 90% of all terrestrial plant species establish mycorrhizal associations supporting their growth, nutrition and resistance against environmental stresses. These associations seem to be particularly important for the mountain vegetation by facilitating plant establishment, development and species succession on recently deglaciated areas. However, the current knowledge about mycorrhizas in mountain ecosystems consists mostly of the information on taxonomic diversity, whereas the link between the composition and functions of mycorrhizae remains poorly understood. The main objective of the research project described in this thesis was to characterize the size, composition (structure and abundance) and functional diversity of the mycorrhizal fungal communities associated with *Salix helvetica* (Swiss willow) in a glacier forefield.

The research included field work in a young alpine ecosystem developed at the Damma glacier forefield, and laboratory experiments, mimicking different stages of ecosystem development. Biochemical (fatty acid profiling, chapter 1; enzymatic activity assays, chapters 2 and 4) and molecular techniques (quantitative PCR (qPCR); chapters 2 to 4) as well as isotope labeling (^{15}N and ^{33}P ; chapters 3 and 4) were the main methods employed in this study.

In order to characterize the composition of ectomycorrhizal (ECM), arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and other fungi (called fungi of uncertain trophic status, UTS) associated with roots and rhizosphere soil of willow, a number of taxon-specific qPCR molecular markers were designed. The composition of mycorrhizal fungi was linked with their functional diversity by measuring the activities of enzymes in the rhizosphere soils (field and lab studies) and from ECM root tips (field). In the experiments, willows were inoculated with indigenous fungi originating from different stages of ecosystem development at the Damma glacier forefield (approximately 16, 60 and 116 years after deglaciation). The effect of mycorrhizal communities on willow growth and nutrition was tested by following the transfer of nutrients from labeled sources to the willow plants. We used two external sources of nutrients: an apatite labeled with ^{33}P and bacterial biomass labeled with ^{15}N and ^{33}P . The transfer of nutrients from these two sources to willow was studied in two distinct rhizobox experiments.

The field study demonstrated that the size of the fungal communities in soils at different developmental stages (i.e., 23 sites spanning 7 through 137 years of soil development) increased and was strongly correlated to soil pH and total organic carbon (C) content. AMF dominated over other fungi (including ECM) at the early stages of soil development, whereas other fungi (including ECM) presented stable co-dominance with soil bacteria along the entire developmental gradient (chapter 1). Concerning the structure of the mycorrhizal fungal communities established with adult willows (roots and rhizosphere soil) colonizing the sites of different developmental stage (i.e., 7 sites spanning 7 through 110 years of soil development), changes in abundance but not composition were observed. The highest abundance of AMF, ECM and UTS was observed in willow bushes at the central part of the glacier forefield. The high activity of chitinase and β -glucosidase observed in the rhizosphere soil of willows suggested possible participation of associated ECM fungi in willow nutrition (chapter 2). The composition of mycorrhizal fungal communities established with willow in the two rhizobox experiments depended on the origin of the inoculum and C content of the growth medium. The abundance of ECM and UTS fungi significantly correlated with the dry weight of willow and N and P uptake (chapter 3). The added sources of nutrients were used by the willow in association with the fungal communities but at different rates. Moreover, release, uptake and transfer of ^{15}N and ^{33}P from labeled bacteria correlated predominantly with the abundance of UTS fungi (chapter 4).

Conclusions

- Mycorrhizal fungal communities are important components of the developing ecosystem. Their size and composition were related to soil pH and total soil organic C and to the structure of plant communities (chapters 1 to 4).
- Enzymatic activity of fungal communities should be considered as one (but not the only) strategy of nutrient acquisition. The link between the composition and functions of mycorrhizal communities (in term of enzymatic activities) was difficult to reveal under field conditions, but it could be better observed in the rhizobox experiments (chapters 2 and 4).
- Mycorrhizal fungal communities contributed to willow growth and nutrition from inorganic and organic nutrient sources. The rate of nutrient release, uptake, and transfer was dependent on the fungal community composition (origin of the fungal inoculum) and the type of external nutrient source (chapters 3 and 4).

Zusammenfassung

Mehr als 90% aller Landpflanzen sind mit Mykorrhizapilzen vergesellschaftet, die Wachstum, Ernährung und Widerstand der Pflanzen gegen Umwelteinflüsse unterstützen. Diese Vergesellschaftungen scheinen besonders wichtig zu sein für die Bergvegetation, weil durch sie Ansiedlung und Entwicklung der Pflanzen und Artenabfolge in kürzlich vom Gletschereis freigegebenen Gebieten erleichtert werden. Der Stand des Wissens über Mykorrhiza in Bergökosystemen besteht jedoch hauptsächlich aus Informationen über taxonomische Diversität, wogegen über die Verbindung zur Artenzusammensetzung und Funktion der Mykorrhizen noch wenig bekannt ist. Das Hauptziel dieses Forschungsprojekts war es, die Grösse, Zusammensetzung (Struktur und Häufigkeit) und funktionale Diversität von Mykorrhizapilzgemeinschaften in Vergesellschaftung mit *Salix helvetica* (Schweizerische Weide) in einem Gletschervorfeld zu charakterisieren.

Die Forschungsarbeiten beinhalteten Feldarbeit in einem jungen alpinen Ökosystem auf dem Dammagletschervorfeld und Laborexperimente, die verschiedene Stadien der Ökosystementwicklung nachahmten. Die Hauptmethoden dieser Arbeit waren biochemische (Fettsäuremuster, Kapitel 1, und Enzymaktivitätsmessungen, Kapitel 2 und 4) und molekulare Techniken (quantitative PCR (qPCR), Kapitel 2 bis 4) und Isotopenmarkierung (^{15}N und ^{33}P , Kapitel 3 und 4).

Um die Zusammensetzung von Ektomykorrhizapilzen (ECM), arbuskulären Mykorrhizapilzen (AMF) und anderen Pilzen (genannt Pilze von unbekanntem trophischem Status, UTS), die mit den Wurzeln und dem Rhizosphärenboden der Weide assoziiert sind, zu charakterisieren, wurden eine Reihe von gattungsspezifischen qPCR molekularen Markern entworfen. Die Zusammensetzung der Mykorrhizapilze wurde mit ihrer funktionellen Diversität verknüpft, indem die Enzymaktivitäten im Rhizosphärenboden (Feld- und Laborstudien) und in ECM-Wurzelspitzen (Feld) gemessen wurden. In den Versuchen wurden Weiden mit einheimischen Pilzen inokuliert, die von verschiedenen Stadien der Ökosystementwicklung auf dem Dammagletschervorfeld (ca. 16, 60 und 116 Jahre nach dem Abschmelzen) stammten. Die Auswirkungen von Mykorrhizagemeinschaften auf Wachstum und Ernährung der Weide wurden anhand des Transfers von Nährstoffen aus markierten Quellen zu den Weidepflanzen untersucht. Zwei externe Nährstoffquellen wurden verwendet: ein mit ^{33}P markierter Apatit und bakterielle Biomasse, die mit ^{15}N und ^{33}P markiert war. Der

Transfer der Nährstoffe aus diesen beiden Quellen wurde in zwei verschiedenen Topfversuchen untersucht.

Die Feldstudie zeigte, dass die Grösse der Pilzgemeinschaften mit dem Alter der Böden verschiedener Entwicklungsstadien (23 Flächen von 7 bis 137 Jahren Bodenentwicklung) zunahm und stark mit dem pH und Gesamtkohlenstoffgehalt (C-Gehalt) des Bodens korreliert war. In frühen Stadien der Bodenentwicklung dominierten AMF über andere Pilze (einschliesslich ECM), wogegen andere Pilze (einschliesslich ECM) eine stabile Kodominanz mit Bodenbakterien entlang des gesamten Gradienten zeigten (Kapitel 1). Bei der Struktur der Mykorrhizapilzgemeinschaften von adulten Weiden (Wurzeln und Rhizosphärenboden) auf verschiedenen Bodenentwicklungsstadien (7 Flächen von 7 bis 110 Jahren Bodenentwicklung) wurden Veränderungen in der Häufigkeit, nicht aber in der Zusammensetzung beobachtet. Die grösste Häufigkeit von AMF, ECM und UTS wurde bei Weidenpflanzen im mittleren Teil des Gletschervorfelds festgestellt. Die hohe Aktivität von Chitinase und β -Glucosidase im Rhizosphärenboden der Weiden wies auf eine Rolle der assoziierten ECM-Pilze bei der Ernährung der Weide hin (Kapitel 2). Die Zusammensetzung der Mykorrhizapilzgemeinschaften, die sich in den zwei Topfversuchen entwickelten, hing von der Herkunft des Inokulums und vom C-Gehalt des Wachstumsmediums ab. Die Häufigkeit von ECM- und UTS-Pilzen war signifikant mit dem Trockengewicht der Weiden sowie N- und P-Aufnahme korreliert (Kapitel 3). Die zugegebenen Nährstoffquellen wurden von den Weiden genutzt, die mit Pilzgemeinschaften vergesellschaftet waren, aber in unterschiedlichen Raten. Darüberhinaus korrelierten Freisetzung, Aufnahme und Transfer von ^{15}N und ^{33}P aus den markierten Bakterien vor allem mit der Häufigkeit von UTS-Pilzen (Kapitel 4).

Schlussfolgerungen

- Mykorrhizapilzgemeinschaften sind wichtige Bestandteile sich entwickelnder Ökosysteme. Ihre Grösse und Zusammensetzung korrelierte mit dem Boden-pH-Wert und dem Gehalt an organischen Kohlenstoff im Boden sowie mit der Struktur der Pflanzengemeinschaften (Kapitel 1-4).
- Enzymaktivitäten von Pilzgemeinschaften sollten als eine (aber nicht als einzige) Strategie zur Nährstoffaneignung betrachtet werden. Der Zusammenhang zwischen Zusammensetzung und Funktion von Mykorrhizagemeinschaften (im Sinne von

Enzymaktivitäten) war unter Feldbedingungen schwierig zu zeigen, konnte in den Laborversuchen aber besser beobachtet werden (Kapitel 2 und 4).

- Mykorrhizapilzgemeinschaften trugen zu Wachstum der Weiden und Aufnahme von Nährstoffen aus anorganischen und organischen Quellen bei. Die Rate der Freisetzung, Aufnahme und Verlagerung der Nährstoffe hing von der Zusammensetzung der Pilzgemeinschaft (Herkunft des Inokulums) und von der Art der externen Nährstoffquelle ab (Kapitel 3 und 4).