

Infektionsversuche an Eschen

Kontrollierte Infektionen mit der Neben- und Hauptfruchtform des »Falschen Weißen Stengelbecherchens« geben Einblicke in die Infektionswege des Pilzes

Andrea Mayer und Heike Lenz

Zahlreiche und zunehmende Kronenverlichtungen an Eschen (*Fraxinus excelsior*) weisen auf den starken Infektionserfolg des Falschen Weißen Stengelbecherchens (*Hymenoscyphus pseudoalbidus*) hin. Erste Angriffsflächen stellen die Eschenblätter dar, die von den Sporen des Pilzes besiedelt werden. Häufig gelingt es dem Pilz, vom Blattgewebe aus in den Holzkörper vorzudringen. Ein stabiles Infektionssystem unter definierten Bedingungen soll es zukünftig erlauben, abiotische und biotische Einflussgrößen direkt zu ermitteln, um Möglichkeiten aufzudecken, den pilzlichen Infektionsweg zu unterbrechen.

Das Eschentriebsterben ist eine schwerwiegende, europaweit verbreitete Erkrankung (Timmermann et al. 2011). Hervorgerufen wird sie durch den Pilz *Hymenoscyphus pseudoalbidus* mit seiner Nebenfruchtform *Chalara fraxinea* (Kowalski 2006; Quelez et al. 2010). Neueste Studien belegen, dass der Pilz in Japan beheimatet ist und dort unter dem Namen *Lambertella albida* als harmloser Streuzersetzer bekannt ist (Zhao et al. 2012).

Der Sporenflug von *H. pseudoalbidus* findet über mehrere Monate statt und ermöglicht auf diese Weise über weite Entfernungen zahlreiche Blattinfektionen. Um ein besseres Verständnis des Infektionsverlaufs und den damit verbundenen Reaktionen in Wirt und Pathogen zu erhalten, sollten unter Gewächshausbedingungen künstliche Blatt- und Stamminfektionen, sowohl mit Myzel der Nebenfruchtform, als auch mit Sporen der Hauptfruchtform etabliert werden. Die Auswirkungen der Infektion auf das Blattgewebe wurden an verschiedenen Blattstellen und unterschiedlich altem Blattgewebe analysiert. Desweiteren wurden infizierte Gewächshaus-Eschen über mehrere Wochen bzw. Monate auf ihren Infektionsverlauf hin untersucht.

Infektionen mit Myzel der Nebenfruchtform an Blattspindeln und Stämmen

Chalara fraxinea wurde aus befallenem Astmaterial isoliert und Teile des Myzels für Infektionen verwendet. Nach mehrwöchiger Inkubation konnten keinerlei Veränderungen auf dem Blattgewebe festgestellt werden (Daten nicht gezeigt). Lediglich sterile, frisch mit Myzel überwucherte Holzstücke konnten, nachdem man sie an *Blattspindeln*, die zuvor leicht verletzt wurden befestigte, Symptome verursachen (Abbildung 1). Nach vier bis sechs Wochen begannen die ersten über dem Infektionsort liegenden Blätter zu welken. Acht der zehn im Gewächshaus lokal infizierten Eschen konnten die infizierten Blätter noch rechtzeitig abwerfen, bevor der Pilz in den Trieb einwuchs. Im Folgejahr trieben diese Eschen normal aus (Beispiel A). Nur bei zwei Eschen gelang es dem Pilz, von der Spindel in den Haupttrieb einzuwachsen und dort Stammnekrosen zu erzeugen (Beispiel B). Diese Eschen konnten in der folgenden Vegetationsperiode unterhalb des Haupttriebs aus-

treiben und Ersatztriebe bilden. Innerhalb eines Jahres gelang es dem Pilz somit nicht, die zehn hier untersuchten Eschen zum Absterben zu bringen.

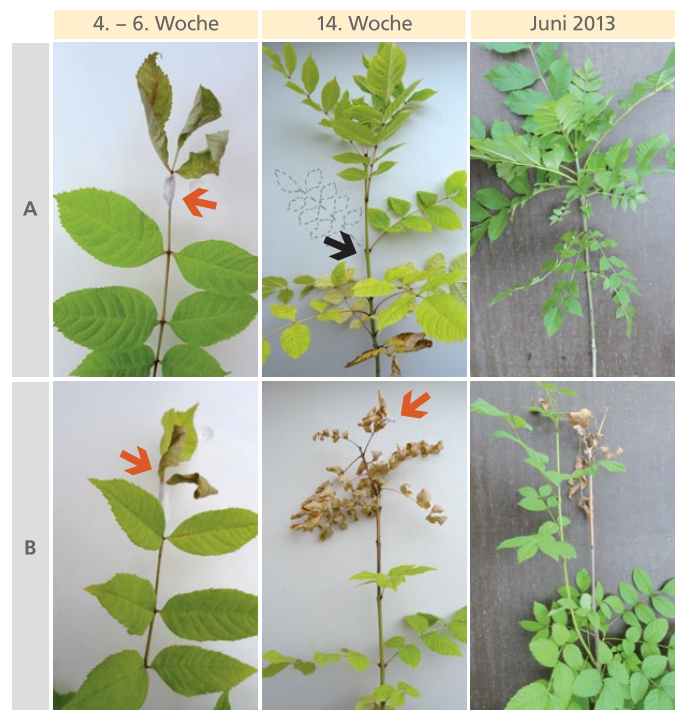


Abbildung 1: Infektion mit *Chalara fraxinea* an Blattspindeln: Im August 2012 wurden Holzmyzelstücke an den Spindeln befestigt und der Infektionsverlauf über die Zeit dokumentiert. Rote Pfeile markieren die Infektionsstelle, der schwarze Pfeil zeigt die Ursprungslokalisation der abgeworfenen Blattspindel.

Eine direkte *Stamminfektion* an weiteren zehn untersuchten Eschen führte an allen Haupttrieben zur Nekrosenbildung, jedoch konnten acht dieser Eschen nach einer Vegetationsperiode normal austreiben (Abbildung 2, Beispiel A). Bei zwei Eschen starb der Haupttrieb ab, welcher aber durch die Ausbildung eines neuen Haupttriebes unterhalb der Infektionsstelle ersetzt werden konnte (Beispiel B). Eine der zehn Eschen ist innerhalb eines Jahres abgestorben.

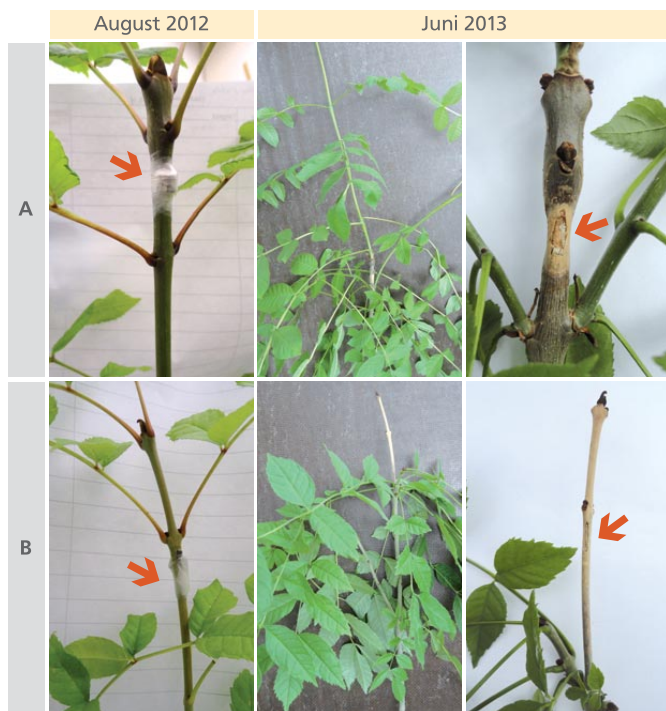


Abbildung 2: Infektion mit *Chalara fraxinea* am Haupttrieb: Im August 2012 wurden Holzmyzelstücke am Haupttrieb der Eschen befestigt und die Zunahme der Nekrose über die Zeit verfolgt.

Nachdem der Pilz sich im Haupttrieb etablieren konnte, ist anzunehmen, dass das weitere Pilzwachstum in den nächsten Jahren ein Absterben des Triebes zur Folge haben wird, weswegen die Eschen weiter untersucht werden.

Der natürliche Infektionsweg verläuft über die Blätter, von denen aber die meisten vor dem Einwachsen des Pilzes abgeworfen werden. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass eine einmalige Infektion des Baumes nur in seltenen Fällen zum Absterben führt. In der Natur ist eine einmalige Infektion aufgrund des langen Sporulationszeitraums und dem seit mehreren Jahren anhaltenden Infektionsdruck allerdings äußerst selten. Es kommt vor allem in Jungbeständen zu massiven Ausfällen, da die Triebe mit ihren geringen Durchmessern relativ schnell stammumfassend befallen werden können.

Infektionen mit Sporen der Hauptfruchtform

Die Infektion der Eschenblätter erfolgt unter natürlichen Bedingungen über die Ascosporen der Hauptfruchtform. Typische Blattflecken und Welkeerscheinungen sind hierbei die Folge (Kräutler et al. 2012). Bei Inkubation der Blätter unter hoher Luftfeuchtigkeit konnte nach der Sporeninfection der Infektionsverlauf im Blattgewebe verfolgt werden. Dabei hat man junges und altes Blattgewebe auf Unterschiede in der Anfälligkeit hin untersucht. Desweiteren wurde geklärt, ob der Pilz über die Blattober- und -unterseite eindringen kann, beziehungsweise die Infektion auf der einen oder anderen Seite schneller verläuft.

Einfluss des Blattalters auf den Infektionsverlauf

Frisch ausgetriebene Eschenblätter wurden zusammen mit bereits länger ausgetriebenen Blättern infiziert und in Feuchtekammern inkubiert. Wöchentlich erfolgte eine fotografische Dokumentation des Infektionsverlaufs. Nach mehrwöchiger Infektion zeigte sich, dass älteres Gewebe schneller besiedelt wurde, als frisch ausgetriebene Blätter (Abbildung 3).

Die Ursache der erhöhten Anfälligkeit älterer Blätter ist Gegenstand zukünftiger Untersuchungen.

Einfluss des Infektionsortes auf den Infektionsverlauf

Um den bevorzugten Eindringort des Pilzes auf den Blättern zu untersuchen, wurden jeweils 85 Blätter auf der Blattoberseite und 85 Blätter auf der Blattunterseite mit Pilzsporen infiziert

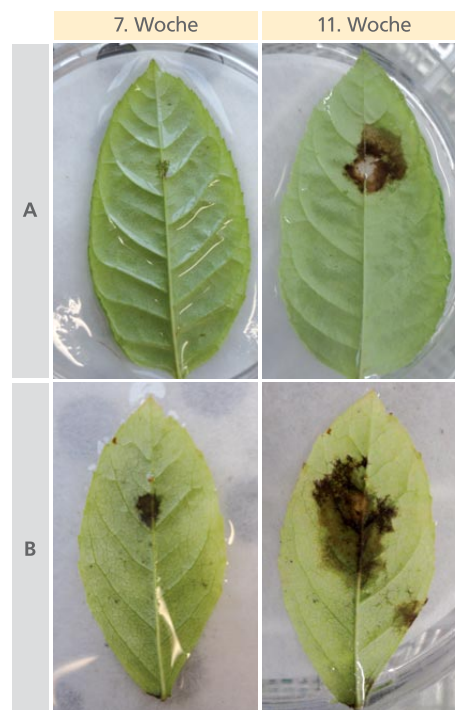


Abbildung 3: Infektion mit Sporen des *Hymenoscyphus pseudoalbidus* auf jungem (A) und altem Blattgewebe (B)

und der Infektionsverlauf über die Zeit dokumentiert. Es stellte sich heraus, dass eine Besiedlung des Gewebes auf beiden Seiten möglich ist, der Infektionsverlauf jedoch auf der Blattunterseite tendenziell schneller verläuft (Abbildungen 4 und 5).

17 Wochen nach der Infektion wurde das Ausmaß der Blattnekrose nach einem dafür entwickelten fünfstufigen Boniturschlüssel erfasst (siehe Abbildungslegende 5). 25 % der auf der Blattunterseite infizierten Blätter waren zu diesem Zeitpunkt bereits komplett nekrotisch, während Blätter, die auf der Oberseite infiziert wurden, einen Ausfall von 17 % aufwiesen. Betrachtet man gekoppelt die Stufen 4 (75–100 % nekrotisch) und 5 (100 % nekrotisch), zeigt sich ein Unterschied von 90 % auf der Blattunterseite zu 73 % auf der Blattoberseite.

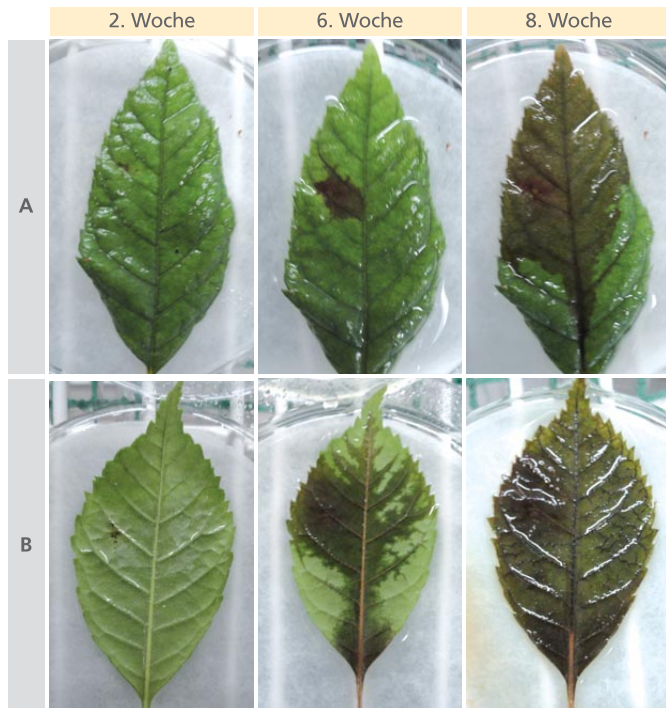


Abbildung 4: Infektion mit Sporen des *Hymenoscyphus pseudoalbidus* auf der Blattober- (A) und -unterseite (B)

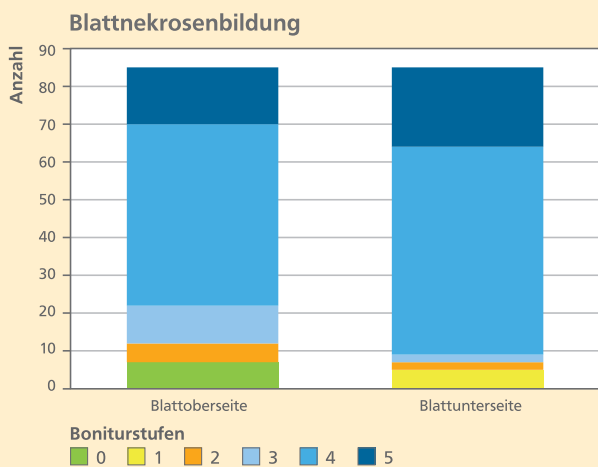


Abbildung 5: Unterschiede im Infektionsverlauf nach 17-wöchiger Inkubation auf der Blattober- und -unterseite infizierter Blätter. Die Boniturstufen 0 bis 5 stehen für den unterschiedlichen Anteil an Blattnekrosen (0 = lokaler Infektionsort, 1 = 1–25 %, 2 = 25–50 %, 3 = 50–75 %, 4 = 75–100 %, 5 = komplett nekrotisch).

Mikroskopische Untersuchungen sollen zukünftig die Ursache der schnelleren Besiedlung klären. Denkbar wäre, dass der Pilz schneller über die auf den Blattunterseiten liegenden Spaltöffnungen einwachsen kann.

Fazit und Ausblick

Kontrollierte Infektionen konnten sowohl mit der Neben- als auch der Hauptfruchtform des Pilzes unter Gewächshausbedingungen etabliert werden und sollen weiteren Aufschluss über den Infektionsweg des Pilzes geben. So können zukünftig abiotische und biotische Faktoren mit negativem Einfluss auf die Pilzentwicklung gefunden werden. Weiterhin soll durch den Vergleich resistenter und anfälliger Eschen ein besseres Verständnis des Resistenzmechanismus gewonnen werden. Ziel der Untersuchung ist es, herauszufinden, welche möglichen Abwehrantworten in resistenten Eschen im Vergleich zu anfälligen Eschen induziert werden.

Literatur

Kowalski, T. (2006): *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology* 36, S. 264–270

Kräutler, K.; Kirisits, T. (2012): The ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* is associated with leaf symptoms on ash species (*Fraxinus* spp.). *Journal of Agricultural Extension and Rural Development* 4, S. 261–265

Queloz, V.; Grünig, C.R.; Berndt, R.; Kowalski, T.; Sieber, T.N.; Holdener, O. (2010): Cryptic speciation in *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. *Forest Pathology* 41, S. 133–142

Timmermann, V.; Borja, I.; Hietala, A.M.; Kirisits, T.; Solheim, H. (2011): Ash dieback: pathogen spread and diurnal patterns of ascospore dispersal, with special emphasis on Norway. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 41, S. 14–20

Zhao, Y.J.; Hosoya, T.; Baral, H.O.; Hosaka, K.; Kakishima, M. (2012): *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albidula* reported from Japan. *Mycotaxon* 122, S. 25–41 (17)

Andrea Mayer studiert an der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (HSWT) und fertigt in der Abteilung »Waldschutz« der Bayerischen Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft (LWF) ihre Bachelorarbeit.

Dr. Heike Lenz leitet das Projekt Z70 »Eschentriebsterben« in der Abteilung »Waldschutz« der LWF. Heike.Lenz@lwf.bayern.de