

Endophytische Pilze in Tanne (*Abies alba* MILL.). – Vergleich zweier Standorte im Schweizer Mittelland (Naturwald-Aufforstung)

Francesca SIEBER-CANAVESI & Thomas N. SIEBER

Mikrobiologisches Institut, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich, Schweiz

Summary. – The endophyte population in needles (2 different age classes) of European white fir (*Abies alba* MILL.) growing in two differently managed forests (Switzerland „Schweizer Mittelland“; Ruswil, Üetliberg) was investigated. Species composition of the endophyte population and occurrence of each fungal species is depending on the management type of the forest. Clearcuttings and plantations will eliminate the transmission of endophytic fungi; on the other hand, clearcutting will also modify the plant community and the microclimate. In Ruswil, where European white fir is propagating spontaneously, needle endophytes are more frequent than in Üetliberg, where white fir has been planted. Differences are best expressed by the frequency of occurrence of *Cryptocline abietina* and *Gloeosporidiella* sp.. *Hypoxylon fragiforme*, *Xylaria* spp. and *Rosellinia thelena* occur more frequently during the winter season and follow patterns of seasonal variation. Old needles are more heavily infected than young ones; the needle petiole is more colonized than the apex. A succession of species could not be observed. In Ruswil trees can be grouped in geographically distinct clusters by their endophyte populations; such patterns could not be observed in Üetliberg.

1. Einleitung

Während erste Arbeiten über endophytische Pilze hauptsächlich Pilzartenlisten für bestimmte Wirtspflanzen liefern, befassen sich neuere Untersuchungen vermehrt mit der Ökologie dieser Pilze. Danach wirken sich Boden, Wetter, Wirt, Alter und Typ des Wirtsgewebes auf die Artenzusammensetzung und die Häufigkeit der einzelnen Pilzarten am nachhaltigsten aus (PETRINI, 1985; PETRINI & MÜLLER, 1979; SIEBER, 1988; SIEBER & al., 1988; WIDLER & MÜLLER, 1984).

Die vorliegende Untersuchung will am Beispiel der Tanne einen weiteren Beitrag zum Einfluß des Standorts liefern. Im Gegensatz zu früheren Arbeiten werden aber nicht Standorte mit verschiedenen klimatischen Voraussetzungen, sondern solche mit unterschiedlichen Bewirtschaftungsformen verglichen.

Bei der Auswahl der Tanne als Versuchsobjekt waren vor allem zwei Gründe ausschlaggebend: erstens existieren bereits Voruntersuchungen über die Endophytenflora der Tanne (CARROLL & al., 1977; BRUNNER, 1982), die wichtige Informationen zur Planung der

vorliegenden Arbeit lieferten, und zweitens ist *Abies alba* MILL. eine der vom Waldsterben am stärksten betroffenen Arten. Grundlegende Untersuchungen über die Pilze in epigäischen Pflanzenteilen von Bäumen, die für eine glaubwürdige Beurteilung dieser neuartigen Krankheit und zur Ergreifung geeigneter Maßnahmen nötig wären, fehlen aber fast gänzlich.

2. Material und Methoden

2.1 Wirtspflanze und ökologische Charakterisierung der Standorte Ruswil-Üetliberg

Die Tanne (*Abies alba* MILL.) besitzt im subkontinental-subatlantischen Areal eine montane Verbreitung (MAYER, 1977), die sich von den Pyrenäen über Mitteleuropa, nördliche Balkaninsel und Korsika bis nach Südtalien (Apennin) erstreckt (HESS & al., 1970).

Die für die Untersuchungen gewählten Standorte Ruswil (LU) und Üetliberg (ZH) sind bezüglich Meereshöhe (ca. 650 m), Exposition (flaches bis leicht coupiertes Gelände mit 0–10% Hangneigung) und klimatischen Bedingungen (vgl. Klimadiagramme in Abb. 1) ähnlich.

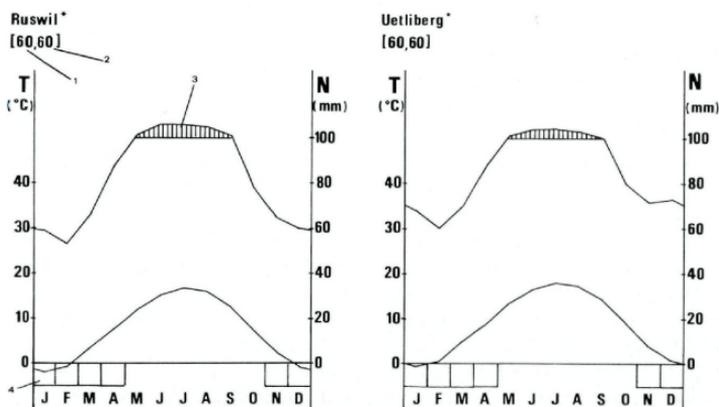


Abb. 1: Klimadiagramme der beiden Standorte. – Ruswil*: extrapolierte Daten (0,5°C/100 m Höhendifferenz) der Meßstation Luzern-Wesemli (498 müM). – Üetliberg*: extrapolierte Daten (0,5°C/100 m Höhendifferenz) der Meßstation Üetliberg (Bahnstation, 810 müM). – T: Temperatur (untere Kurve). – N: Niederschlag (obere Kurve). – 1, 2: Anzahl Jahre über welche die Temperatur beziehungsweise die Niederschlagsmenge gemittelt wurde. – 3: bei Niederschlagsmengen, die 100 mm/Monat überschreiten, werden die Mengen über 100 mm auf 1/10 reduziert und zu 100 addiert (schraffiert). – 4: leere Vierecke stellen Monate mit vereinzelt Frosttagen dar.

Die Tannen in Ruswil sind durch Naturverjüngung entstanden, während der Bestand am Üetliberg aus einer Pflanzung hervorgegangen ist. Die unterschiedlichen Bewirtschaftungsformen wirken sich auf die Pflanzengesellschaft und letztlich auch auf die Bodenbildung aus: in Ruswil handelt es sich um ein Bazzanio-Abietetum auf mittelmäßig bis gering mit Nährstoffen versorgten, feuchten bis nassen Böden, das stellenweise in ein Dryopterido-Abietetum (ELLENBERG & KLÖTZLI, 1972) übergeht. Am Üetliberg entspricht die Waldgesellschaft einem Galio odorati – Fagetum typicum (ELLENBERG & KLÖTZLI, 1972) mit wirtschaftsbedingtem Vorkommen von *Abies alba*; der Boden des eher trockenen Standortes ist mittelmäßig bis gut mit Nährstoffen versorgt.

Die Tannen beider Standorte sind gesund und weisen einen Nadelverlust zwischen 0% und 5% auf. Dennoch scheinen die Bäume in Ruswil vitaler zu sein: ihre Kronen sind dichter und länger. Zudem ist das Längenwachstum der untersuchten Tannen in Ruswil größer [durchschnittlich 16 m hoch und 19 cm Brusthöhendurchmesser (BHD)], während sie am Üetliberg lediglich 12 m hoch, dafür aber 24 cm BHD aufweisen.

2.2. Versuchsanordnung und Isolierungsmethoden

An beiden Standorten wurden grüne, 1,5 bis 2,5 Jahre alte (= Altersklasse j) und 4 bis 7 Jahre alte (= Altersklasse a) Nadeln während zweier Jahre in regelmäßigen Zeitabständen aus dem unteren Kronenbereich (in 4 bis 7 m Höhe) entnommen und untersucht (Tab. 1). Die Anzahl untersuchter Bäume wurde nach der vierten Probenahme auf die Hälfte reduziert. Pro Probenahme, Altersklasse und Baum wurden 20 Nadeln einer Untersuchung zugeführt.

Zusätzlich wurden jeweils im Frühling der Jahre 1984 und 1985 vierzig 0–2 Monate alte Nadeln pro Standort untersucht.

Im Frühling des ersten Untersuchungsjahres wurden an beiden Standorten von den gleichen Ästen zusätzlich zu den Nadeln je 40 Knospen (mit Hülle) entnommen und auf das Vorhandensein von Endophyten geprüft. Im Verlaufe der letzten zwei Probenahmen (8 und 9) wurden je 40 Zweigstücke untersucht.

Alle untersuchten Nadeln, Knospen und Zweigstücke wurden der von CARROLL & al. (1977) beschriebenen Oberflächensterilisation unterzogen; das Pflanzenmaterial wurde zuerst eine Minute in Aethanol (96%), dann fünf Minuten in Natriumhypochlorit und schließlich 30 Sekunden in Aethanol (96%) getaucht. Anschließend wurden Nadeln einmal in der Mitte, Knospen einmal längs und Aststücke mehrmals quer (etwa 5,0 mm lange Stücke) geschnitten und auf ein mit Terramycin (50 mg/l) angereichertes 2%iges Malzarmmedium in Petrischalen (90 mm) ausgelegt. Die Schalen wurden

Tab. 1: Umfang und Zeitpunkt der Probenahmen an den Standorten Ruswil und Üetliberg

Probenummer	Zeitpunkt der Probenahmen	Anzahl untersuchte Bäume pro Standort
1	Feb. 1984	30
2	Mai 1984	30
3	Juli 1984	30
4	Aug. 1984	30
5	Okt. 1984	15*)
6	Feb. 1985	15*)
7	Juni 1985	15*)
8	Aug. 1985	15*)
9	Okt. 1985	15*)

*) Anzahl untersuchter Bäume um die Hälfte reduziert.

bei Dunkelheit und 18°C inkubiert und bis zur Austrocknung des Nährmediums (4–6 Monate lang) beobachtet. Der größte Teil der Endophytenisolate wuchs 3 bis 6 Wochen nach der Oberflächensterilisation aus den Nadelstücken heraus. Alle Myzelien wurden auf Schrägagarröhrchen mit 1% Malz übertragen und bei einer Temperatur von 15°C weiter inkubiert.

Ein Teil der isolierten Pilzkulturen fruktifizierte ziemlich rasch; andere, noch steril gebliebene Myzelien wurden unter UV-Licht oder/und auf speziellen Medien (CMA: cornmeal agar, Difco; PDA: potato-dextrose agar, Difco; „Nadel-Agar“: 2% zermahlene Nadeln, 2% Agar, 0–1% Malz) inkubiert.

2.3. Auswertungsmethoden

Der Pilzbefall der Nadeln ist in % befallener Nadeln oder als relative Kolonisierungshäufigkeit (rH) angegeben:

$$rH = \frac{\text{Anzahl befallene Nadeln}}{\text{Anzahl untersuchte Nadeln}}$$

Die Daten sind statistisch nach folgenden Methoden ausgewertet worden:

– Diskriminanzanalyse nach dem Stufenmodell mit Wilks- λ als Diskriminanzkriterium: Programmpakete SPSSX (Version 2.0; SCHUBÖ & UEHLINGER, 1984) auf einer Rechenanlage des Typs Cyber 170–825 (Rechenzentrum der ETH, Zürich) und SYSTAT (Version 3.0; WILKINSON, 1986). Die Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse und die Berechnung der diskriminatorischen Bedeutung

unabhängiger Variablen sind in Anlehnung an SCHUCHARD-FICHER & al. (1982) entstanden.

– „K-means“ – Verfahren nach dem von HARTIGAN (1975) beschriebenen Modell.

– Clusteranalyse: Clusterabstand: euklidisch; Clusteraggregation: complete linkage (SNEATH & SOKAL, 1973).

Befallsunterschiede zwischen jungen und alten Nadeln oder zwischen verschiedenen Nadelteilen wurde mittels t- und Wilcoxon-Test (nach RIEDWYL, 1978) geprüft. Boxplots (nach TUKEY, 1977) sind für die graphische Darstellung des Endophytenbefalls der Nadeln in Abhängigkeit von der Jahreszeit verwendet worden. Als Software diente STATVIEW 512⁺™ (Brainpower, Calabasas, Kalifornien) auf einem Apple Macintosh 512.

3. Ergebnisse und Diskussion

31 Ascomyceten, 92 Deuteromyceten (37 Hyphomyceten und 55 Coelomyceten), 3 Basidiomyceten und 1 Zygomycet konnten aus grünen Tannennadeln isoliert werden (CANAVESI, 1987). In Tab. 2 sind nur diejenigen Pilzarten aufgenommen, die mindestens 0,5% der Nadeln gleichen Alters (gleiche Altersklasse) an einem der beiden Standorte besiedeln. Der Anteil der in Kultur steril gebliebenen Pilze beträgt am Üetliberg durchschnittlich 19,8% und 6,8% in Ruswil.

3.1. Unterschiede zwischen den Standorten Ruswil – Üetliberg

Die Standorte lassen sich sowohl anhand der Artenzusammensetzung als auch hinsichtlich der Stärke des Befalls deutlich unterscheiden. Der durchschnittliche Befall der Nadeln liegt in Ruswil je nach Probenahme zwischen 51,3% und 78,3%, dagegen am Üetliberg zwischen 10,1% und 37% (Abb. 2); die Streuung innerhalb der einzelnen Standorte ist vor allem in Ruswil groß.

Die Standorte lassen sich auch aufgrund der häufigsten Pilze signifikant trennen (Diskriminanzanalyse, Tab. 3). Zum Beispiel kommen *Cryptocline abietina* und *Gloeosporidiella* sp. ausschließlich in Ruswil vor, wo sie 35% beziehungsweise 16% aller Nadeln besiedeln. An diesem Standort kommen noch sechs weitere Pilzarten in mehr als 1% der Nadeln vor, während dies am Üetliberg nur für insgesamt drei Arten zutrifft. Eine davon, *Exophiala* sp. 1, ist aus Ruswiler Proben nur vereinzelt isoliert worden.

Cryptocline abietina und *Gloeosporidiella* sp. sind, was den Befall und dessen zeitlichen Verlauf betrifft, für die großen Unterschiede in der Endophytenpopulation der Standorte verantwortlich:

Tab. 2: Liste der am häufigsten (Werte $\geq 0,5\%$) aus Tanne isolierten Endophyten, mit Angabe des Anteils (%) befallener junger (j) beziehungsweise alter (a) Nadeln an beiden Standorten

Legende: j: Nadeln der Altersklasse j (1.5–2.5jährig), a: Nadeln der Altersklasse a (4–7jährig), Üe: Üetliberg; Ru: Ruswil, +: Werte $\leq 0,5\%$.

Pilzart	in Kultur*)	Üe		Ru	
		j	a	j	a
Ascomycetes					
<i>Hypoxyylon fragiforme</i> (PERS.: FR.) KICKX (<i>Nodulisporium</i>)	A	0,5	1,7	2,6	3,7
<i>Rosellinia thelena</i> (FR.) RABH. (<i>Nodulisporium</i>)	A+T	+	+	3,4	3,7
<i>Xylaria</i> spp.	S	0,8	1,1	2,0	2,6
Hyphomycetes					
<i>Exophiala</i> sp. 1		1,6	3,1	0	+
<i>Exophiala</i> sp. 2		+	0,8	+	0
<i>Hormonema dematioides</i> LAGERBERG & MELIN		+	0,5	0,5	0,8
<i>Nodulisporium</i> sp. 1		0,6	1,1	0,9	0,9
Coelomycetes					
<i>Agryiellopsis caeruleo-atra</i> HÖHN.		+	3,5	6,1	7,4
<i>Brunchorstia</i> sp.		+	0,7	0	0
<i>Cryptocline abietina</i> PETRAK		0	0	26,8	42,6
<i>Cryptosporiopsis abietina</i> PETRAK		1,0	+	0	0
<i>Cytospora</i> sp.		+	0,9	+	+
<i>Gelatinosporium</i> sp. 1		+	1,2	+	0,6
<i>Gloeosporidiella</i> sp.		0	0	13,4	18,9
<i>Leptostroma</i> sp.		+	+	5,6	5,8
<i>Libertella</i> sp.		+	0,8	+	+
<i>Phomopsis occulta</i> TRAV.		+	+	2,3	1,5
<i>Sirodothis</i> sp. 1		+	0,7	+	0,5
<i>Zythiostroma pinastri</i> (KARST.) v. HÖHN.		+	0,6	+	+
Sterile Myzelien		2,8	4,8	5,1	6,8

*) Anamorphs (=A), Teleomorphs (=T) in Kultur gebildet; steril (=S), nach Kulturaussehen bestimmt; Name des Anamorphs in Klammern unter dem des Teleomorphs angegeben.

wird der Befall in Ruswil ohne diese zwei Pilzarten aufgezeichnet, so verhalten sich beide Standorte ähnlich (Abb. 2, 3 und 4). *Rosellinia thelena*, *Xylaria* spp., *Agryiellopsis caeruleo-atra*, *Leptostroma* sp., *Cytospora* sp. und *Libertella* sp. sind an beiden Standorten vorhanden. Mit Ausnahme der zwei letztgenannten Pilzarten kommen sie in Ruswil häufiger als am Üetliberg (Tab. 2) vor.

Die Analyse der Ähnlichkeit (Clusteranalyse) aller Bäume bezüglich ihrer Endophytenpopulation (Abb. 5) ergab deutliche

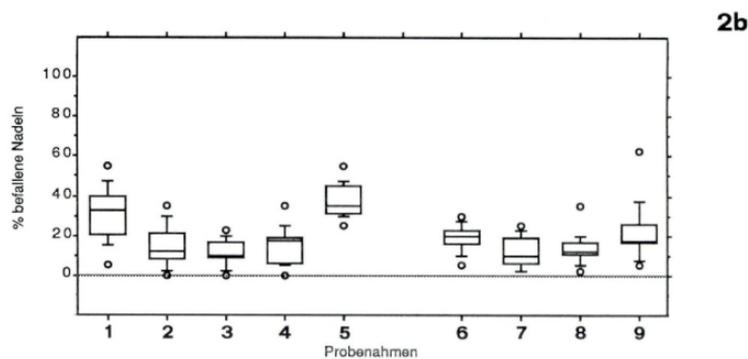
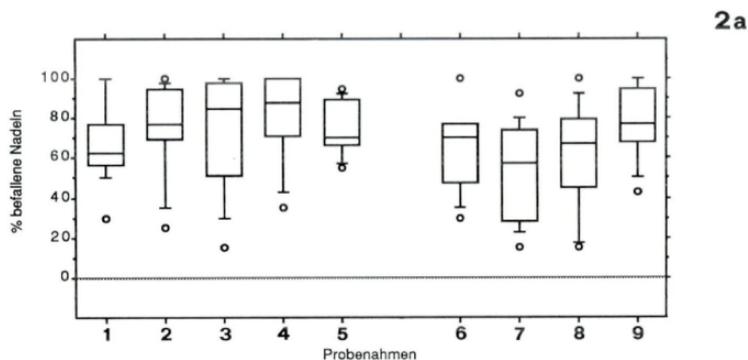


Abb. 2: Gesamtbefall für die einzelnen Probenahmen (Boxplots). – a. Ruswil. – b. Üetliberg.

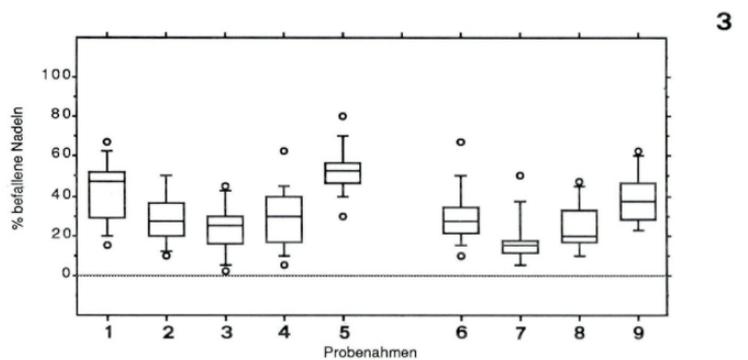


Abb. 3: Gesamtbefall für die einzelnen Probenahmen in Ruswil ohne *Cryptocline abietina* und *Gloeosporidiella* sp. (Boxplots).

Tab. 3: Diskriminatorische Bedeutung (nach SCHUCHARD-FICHER & al., 1982) der Pilzarten für die Trennung der zwei Standorte (Ergebnis der Diskriminanzanalyse).

Legende:

PG_i = %-Anteil an der Summe aller (absoluten) Koeffizienten.

$$= \frac{b_i}{\sum b_i} \times 100$$

Pilzart	standardisierte kanonische Koeffizienten b_i (absolut)	Prozentuale Gewichte PG_i
<i>Cryptocline abietina</i>	1,76	28,6
<i>Rosellinia thelena</i>	1,29	21,0
<i>Xylaria</i> spp.	0,83	13,5
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i>	0,83	13,5
<i>Gloeosporidiella</i> sp.	0,51	8,2
<i>Leptostroma</i> sp.	0,32	5,2
<i>Cytospora</i> sp.	0,32	5,2
<i>Libertella</i> sp.	0,29	4,8
Total	6,15	100,0%

Unterschiede zwischen den Standorten. Die für die Trennung der zwei Hauptgruppen des Clusters verantwortlichen Pilzarten sind, nach abnehmender Trennstärke (Resultate der „K-means“-Analyse), *Cryptocline abietina*, *Gloeosporidiella* sp., *Phomopsis occulta*, *Exophiala* sp. 1, *Exophiala* sp. 2, *Rosellinia thelena* und *Libertella* sp.. Die Verschiedenheit der Artenzusammensetzung an den beiden Standorten beruht vermutlich auf der unterschiedlichen Vergesellschaftung der Tanne mit anderen Pflanzenarten und dem damit verbundenen Mikroklima.

Nach PETRINI (1985) sind bestimmte Endophytenarten wirtsspezifisch. Wirtsspezifische Arten können aber auch in taxonomisch verwandten und seltener in anderen Pflanzenarten nachgewiesen werden, vor allem wenn sich diese in unmittelbarer Nachbarschaft des Hauptwirtes befinden. Vor diesem Hintergrund wird der starke Einfluß der Pflanzengesellschaft auf den Endophytenbesatz eines bestimmten Wirtes verständlich (PETRINI, 1986). Bei *Cryptocline abietina* und *Gloeosporidiella* sp. handelt es sich sehr wahrscheinlich um echte wirtsspezifische Arten. Im Naturwald werden sie von einer Tannengeneration auf die nächste übertragen. In Pflanzungen oder nach Kahlschlag ist das Infektionspotential (Inokulum) dieser beiden Endophyten entweder stark reduziert oder nicht vorhanden. Dies dürfte wohl auch der Hauptgrund für das Fehlen der beiden Pilze am Üetliberg sein. Die starke Besiedlung der Nadeln durch

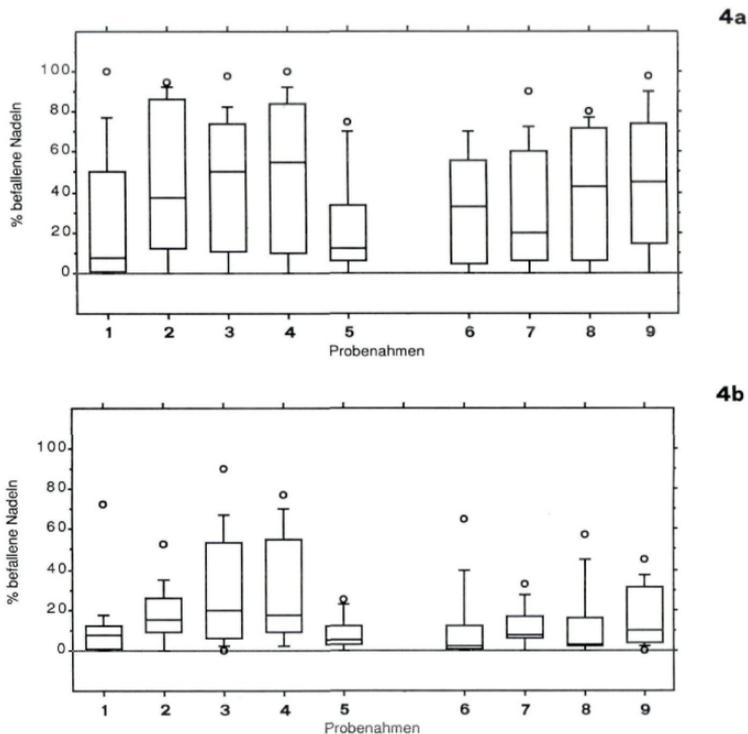


Abb. 4: Befall (in %) durch – a. *Cryptocline abietina* und – b. *Gloeosporidiella* sp. für die einzelnen Probenahmen in Ruswil (Boxplots).

diese beiden Pilze in Ruswil läßt vermuten, daß es sich um mutualistische Symbionten im Sinne von CARROLL (1986) handeln könnte. Würde sich unsere Vermutung als Tatsache herausstellen, könnte sich das Fehlen von *Cryptocline abietina* und/oder *Gloeosporidiella* sp. in einem Tannenbestand früher oder später nachteilig auf die Vitalität auswirken.

Die dichte Bedeckung von Boden, Stämmen und verrottenden Baumstrünken mit Moosen in Ruswil fehlt am Üetliberg. In Ruswil ist das Waldesinnere damit deutlich feuchter als am Üetliberg. Zudem stehen die Bäume in Ruswil viel dichter, sodaß die Austrocknungsgefahr in niederschlagsarmen Perioden vermindert ist. Manche Autoren weisen darauf hin, daß eine positive Korrelation zwischen Baumkronenschluß sowie relativer Luftfeuchtigkeit und dem Ausmaß des Endophytenbefalls besteht (CARROLL & CARROLL, 1978;

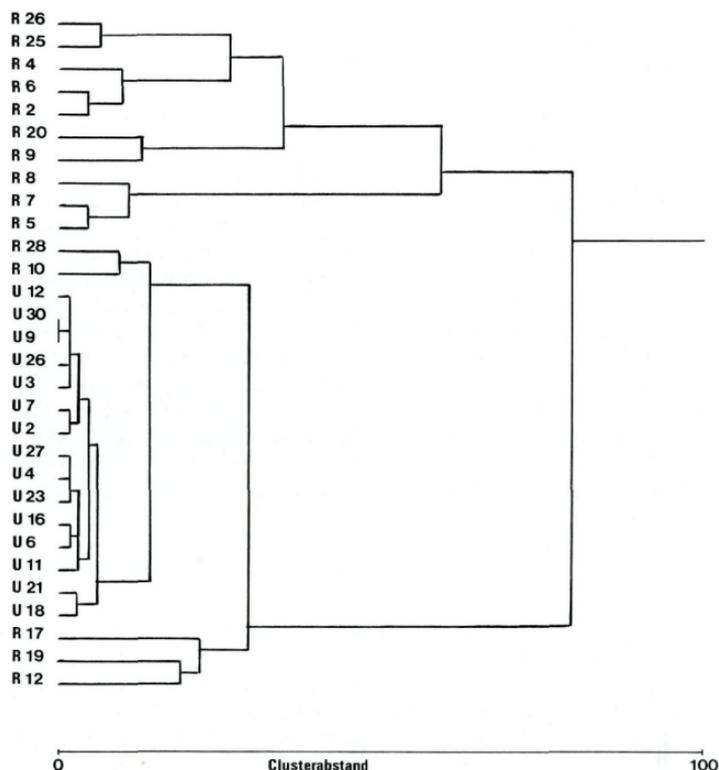


Abb. 5: Ergebnis der Clusteranalyse für die Bäume beider Standorte aufgrund der Besiedlung durch die häufigsten Pilzarten. Clusterabstand: euklidisch; Clusterbildung: complete linkage. U: Üetliberg; R: Ruswil. Die Zahlen entsprechen den Baumnummern.

PETRINI & CARROLL, 1981; PETRINI & al., 1982). Unsere Befunde bestätigen diese Ergebnisse.

3.2. Unterschiede innerhalb der Standorte Ruswil-Üetliberg

Das Ausmaß des Befalls der einzelnen Bäume innerhalb der Untersuchungsflächen kann zum gleichen Zeitpunkt stark variieren; so z. B. in Ruswil zwischen 15% (Baumnr. 10) und 100% (Baumnr. 2, 4 und 6) bei der dritten oder am Üetliberg zwischen 0%

(Baumnr. 26) und 35% (Baumnr. 11) bei der zweiten Probenahme. In Ruswil lassen sich Gruppen von Bäumen bilden, die eine ähnliche Pilzpopulation aufweisen (Abb. 6). Die folgenden, nach abnehmender Wichtigkeit geordneten Pilze, eignen sich am besten als Variablen zur Unterteilung der Ruswiler Bäume in Gruppen („K-means“-Analyse): *Cryptocline abietina*, *Agryiellopsis caeruleo-atra*, *Hypoxylon fragiforme* und *Leptostroma* sp. (Tab. 4).

Die Gruppierung von Bäumen aufgrund ihrer Pilzpopulation stimmt in Ruswil gut mit ihrer gegenseitigen Lage im Wald überein (Abb. 6). Bäume mit einem ähnlichen *C. abietina*-Befall stehen oft nahe beieinander (Bäume 10 und 28 mit ganz geringem Befall von *C. abietina*). Zusätzlich zu den ökologischen Bedingungen dürften auch genetisch bedingte Eigenarten der Einzelbäume die Zusammensetzung der Endophyten bestimmen. Dieses Verhalten ist am Ütliberg nicht so deutlich zu erkennen, weil dort die Pilzpopulationen der Bäume wegen des meist geringen Befalls viel homogener sind (Abb. 7); nur die Bäume Nr. 18 und 21, die einen etwas höheren Gesamtbefall und ein vermehrtes Vorkommen von *Agryiellopsis caeruleo-atra* und *Hypoxylon fragiforme* zeigen, lassen sich von den übrigen abtrennen.

3.3. Jahreszeitliche Schwankungen der Endophytenpopulation

Der Befall der Nadeln ist jahreszeitlichen Schwankungen ausgesetzt (Tab. 5 und 6).

In Tab. 6 a und 6 b sind die Klassifikationsmatrizen der Analyse für beide Standorte dargestellt. Die Zuteilung der Bäume zu den verschiedenen Proben zeigt, daß die im Frühling und Sommer entnommenen Proben, vor allem am Ütliberg, schlecht voneinander zu unterscheiden sind. Eine gute Übereinstimmung der tatsächli-

Tab. 4: Vorkommen (in % befallener Tannennadeln) der wichtigsten Pilzarten in den sechs Baumgruppen in Ruswil.

Pilzart	<i>Cryptocline abietina</i>	<i>Agryiellopsis caeruleo-atra</i>	<i>Leptostroma</i> sp.	<i>Hypoxylon fragiforme</i>	<i>Gloeosporidiella</i> sp.
Baumnr.					
10, 28, 17	0,3–8,9	3,6–10,0	2,2–21,4	3,1–5,8	0,8–5,8
20, 9	24,2–34,2	8,1–15,8	5,06–6,9	3,3–5,6	27,2–30,6
12, 19	10,6–25,3	3,9–8,6	7,8–9,7	3,1–3,3	11,7–21,9
25, 26	45,6–45,8	2,8–4,7	1,1–5,8	3,1–3,3	11,7–21,9
2, 4, 6	46,9–56,4	3,6–5,6	0,6–2,5	2,5–3,3	28,1–32,8
5, 7, 8	69,2–80,3	1,9–3,9	1,1–3,1	1,1–1,7	8,9–14,2

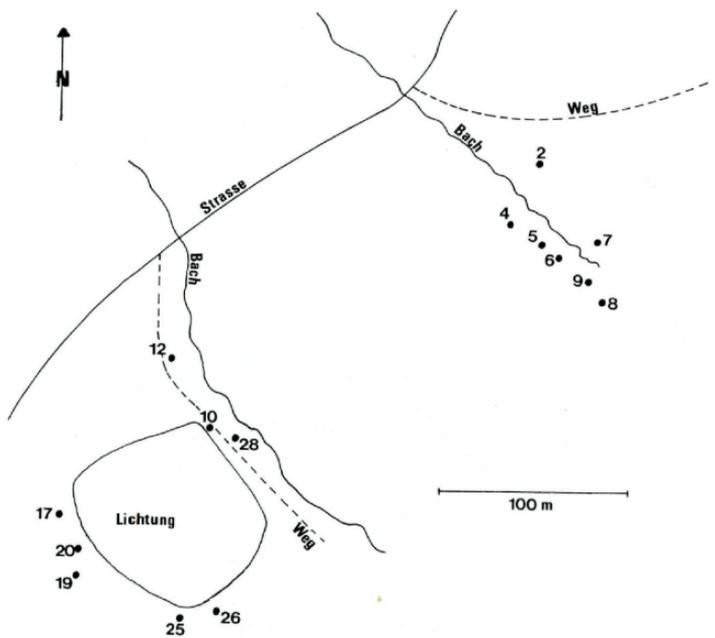
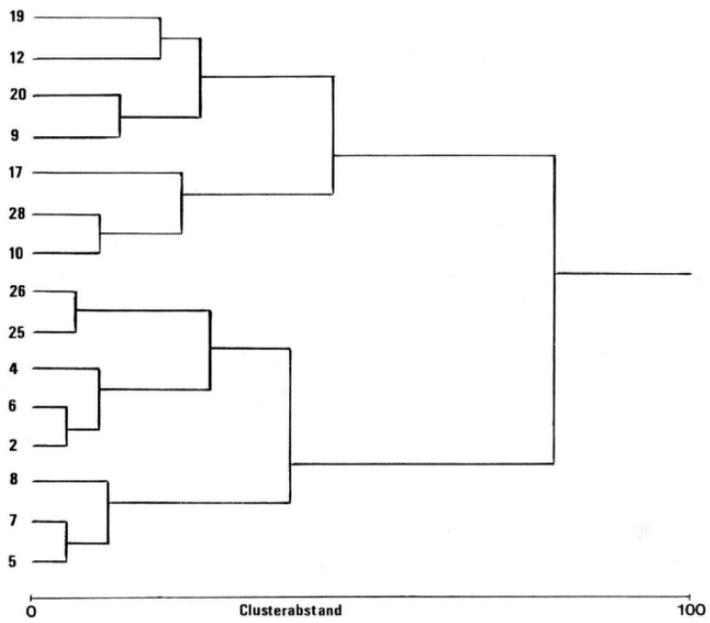
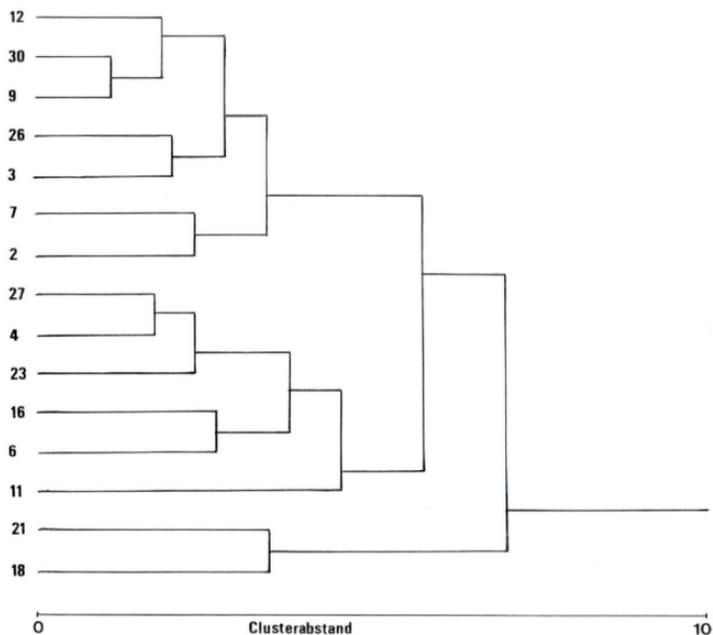


Abb. 6: - a. Ergebnis der Clusteranalyse der Besiedlung der Bäume in Ruswil durch die häufigsten Pilzarten. Clusterabstand: euklidisch; Clusterbildung: complete linkage. - b. Lageplan der Bäume in Ruswil.

7a



7b

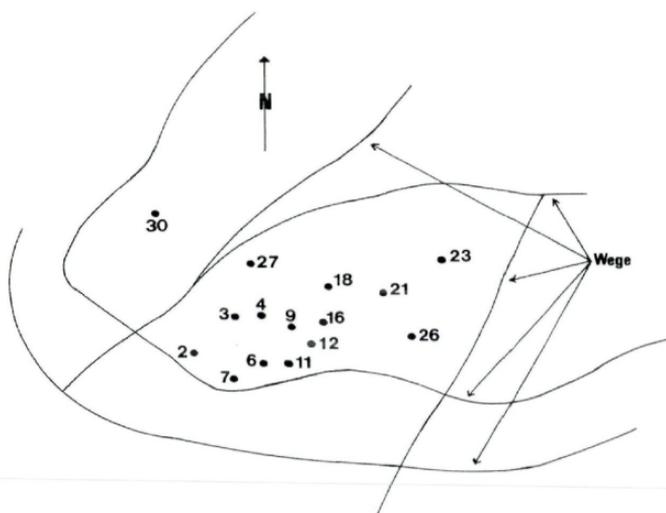


Abb. 7: - a. Ergebnis der Clusteranalyse der Besiedlung der Bäume am Üetliberg durch die häufigsten Pilzarten. Clusterabstand: euklidisch; Clusterbildung: complete linkage. - b. Lageplan der Bäume am Üetliberg.

Tab. 5: Diskriminatorische Bedeutung (nach SCHUCHARD-FICHER et al., 1982) der Pilzarten für die Trennung der 9 Probenahmen an den zwei Standorten.

Legende: Der gewichtete Diskriminanzkoeffizient b_i für alle Funktionen ist definiert:

$$b_i = \sum_{f=1}^8 b_{if} \times DK_f \text{ wobei:}$$

b_{if} = standardisierte kanonische Koeffizienten einer Diskriminanzfunktion f
 DK_f = relative Diskriminanzkraft einer Diskriminanzfunktion f

$$DK_f = \frac{\lambda_f}{\sum_{f=1}^8 \lambda_f}$$

λ_f = Eigenwert der Diskriminanzfunktion ($f = 1, \dots, 8$)

$$PG_i = \frac{b_i}{\sum b_i} \times 100$$

Pilzart i	Diskriminanzkoeffizient b_i	prozentuale Gewichte PG_i
Ruswil		
<i>Rosellinia thelena</i>	0,68	25,3
<i>Xylaria</i> spp.	0,50	18,7
<i>Cryptocline abietina</i>	0,43	16,0
<i>Hypoxyylon fragiforme</i>	0,42	15,6
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i>	0,21	7,8
<i>Leptostroma</i> sp.	0,16	5,8
<i>Phomopsis occulta</i>	0,15	5,5
<i>Gloeosporidiella</i> sp.	0,14	5,3
		100,0
Üetliberg		
<i>Xylaria</i> sp.	0,63	29,4
<i>Libertella</i> sp.	0,45	21,1
<i>Hypoxyylon fragiforme</i>	0,41	19,1
<i>Exophiala</i> sp. 2	0,25	11,7
<i>Phomopsis</i> sp. 1	0,14	6,7
<i>Gelatinosporium</i> sp. 1	0,11	5,3
<i>Exophiala</i> sp. 1	0,09	4,1
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i>	0,05	2,6
		100,0

chen mit der von der Analyse vorausgesagten Zugehörigkeit der Bäume läßt sich in Ruswil nur für die Probenahmen 1, 5, 7 und 9, am Üetliberg nur für 1, 5 und 8 nachweisen.

Im Februar und im Oktober ist der Gesamtbefall (ohne *Cryptocline abietina* und *Gloeosporidiella* sp.) an beiden Standorten signifikant höher [$p < 0,05$ (Wilcoxon-Test), vgl. auch Abb. 2 b und 3] als

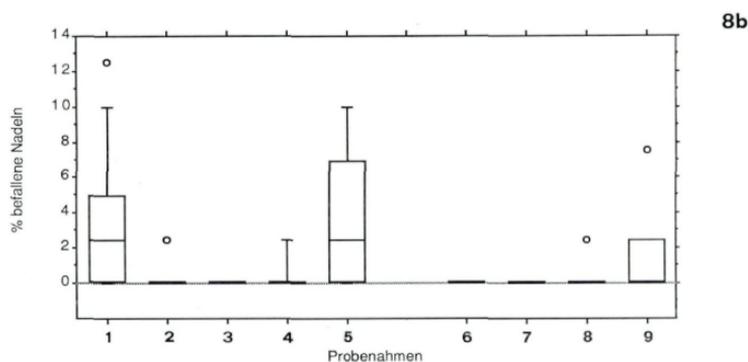
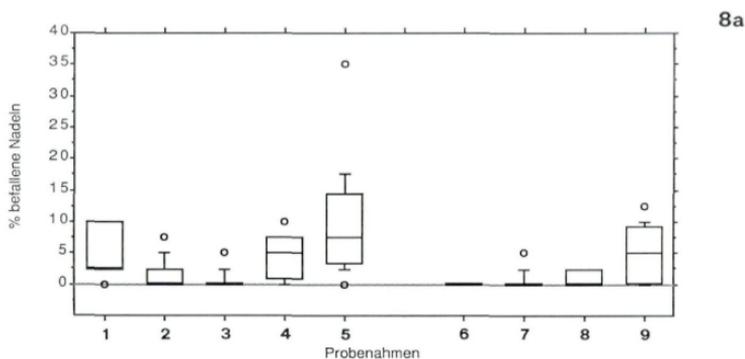


Abb. 8: *Hypoxylon fragiforme*-Befall (in %) in Abhängigkeit von der Jahreszeit (Boxplots). – a. Ruswil. – b. Üetliberg.

während der übrigen Jahreszeit. Die gegenüber den anderen Monaten erhöhte Infektionshäufigkeit der Nadeln im Winterhalbjahr beruht vor allem auf dem ausgesprochen saisonalen Auftreten einiger Endophyten. *Hypoxylon fragiforme* und *Xylaria* spp. kommen im Frühling und im Sommer nur gelegentlich vor (Abb. 8 und 9), dafür sind sie im Herbst und meistens auch im Winter häufig. In Ruswil verhält sich *Rosellinia thelena* ähnlich, ist aber, im Gegensatz zu den oben erwähnten Arten, im Februar 1984 weniger stark vertreten als im entsprechenden Monat des zweiten Untersuchungs-jahres (Abb. 10). Der erhöhte Befall im Winter dürfte auf der in dieser Jahreszeit reduzierten physiologischen Tätigkeit der Bäume

Tab. 6a: Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse. Standort: Ruswil

Tatsächliche Probenahme	Vorausgesagte Probenahme**									Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1 (2. '84)	17	5	2	2	0	2	2	0	0	30*
2 (5. '84)	4	10	3	5	0	0	4	4	0	30*
3 (7. '84)	1	5	8	3	0	0	9	4	0	30*
4 (8. '84)	3	0	5	13	0	1	2	4	2	30*
5 (10. '84)	1	0	0	0	10	0	0	0	4	15
6 (2. '85)	0	1	3	0	0	6	2	2	1	15
7 (6. '85)	1	0	1	0	0	0	11	2	0	15
8 (8. '85)	0	2	1	2	0	2	1	7	0	15
9 (10. '85)	2	0	0	1	3	0	0	0	9	15
Total	29	23	23	26	13	11	31	23	16	

Tab. 6b: Klassifikationsmatrix der Diskriminanzanalyse. Standort: Üetliberg

Tatsächliche Probenahme	Vorausgesagte Probenahme**									Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1 (2. '84)	15	2	0	3	3	0	0	5	2	30*
2 (5. '84)	0	7	3	2	1	2	2	10	3	30*
3 (7. '84)	0	4	9	1	0	1	1	13	1	30*
4 (8. '84)	1	2	4	8	0	0	2	10	3	30*
5 (10. '84)	1	0	0	0	13	0	0	0	1	15
6 (2. '85)	0	2	2	0	0	6	3	2	0	15
7 (6. '85)	0	0	1	0	0	3	3	8	0	15
8 (8. '85)	0	2	1	1	0	0	0	11	0	15
9 (10. '85)	2	0	0	1	0	0	1	5	6	15
Total	19	19	20	16	17	12	12	64	16	

*) siehe Abschnitt 2.2

**) durch die Analyse

bzw. der Nadeln beruhen: die Reaktion auf das Eindringen von Pilzhypphen ist verlangsamt oder fällt ganz aus. Hinzu kommen Verletzungen der Kutikula infolge von Kälteeinwirkung (Schädigungen der Wachse durch Eisbildung an der Nadeloberfläche), die das Eindringen von Pilzen ebenfalls erleichtert. Für einige wenige Arten [z. B. *Rosellinia diathrausta* (REHM) L. PETRINI] kann die Sporenkeimung im Winter durch erhöhte Feuchtigkeit und durch tiefe Temperaturen begünstigt werden (QUELLETTE & WARD, 1970). Alle im Laufe dieser Arbeit hauptsächlich im Winter isolierten Pilzarten gehören zur Familie der Xylariaceae; diese Tatsache ist ökologisch schwer zu interpretieren, da die meisten Arten dieser Familie nicht psychrophil sind (PETRINI L., persönliche Mitteilung).

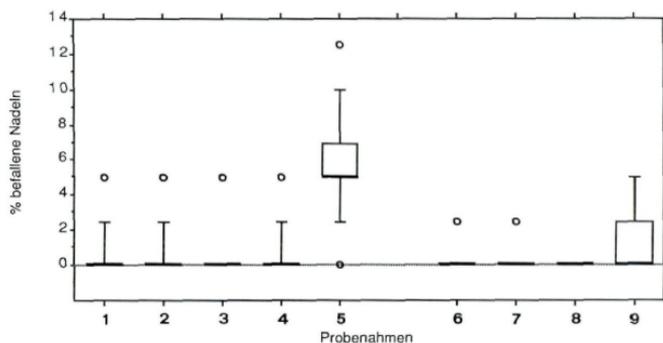
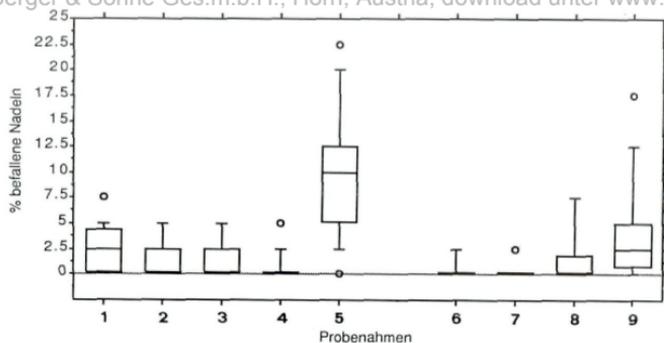


Abb. 9: *Xylaria* spp. – Befall (in %) in Abhängigkeit von der Jahreszeit (Boxplots). – a. Ruswil. – b. Üetliberg.

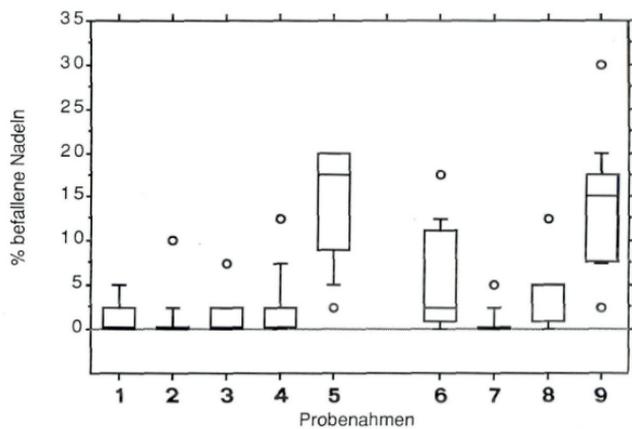


Abb. 10: *Rosellinia thelena*-Befall (in %) in Abhängigkeit von der Jahreszeit in Ruswil (Boxplots).

Tab. 7: Prozentuale Verteilung der häufigsten Pilzarten in Ruswil und am Üetliberg
 – auf Nadeln der Altersgruppe j und a
 – auf Nadelteilen

Ruswil							
Pilzart	Nadelalters- klassen			Nadelteil			% befallene Nadeln (Total)**
	j***	j	a	Basis	Spitze	beide*	
<i>Cryptocline abietina</i>	0	38,6	61,4	33,2	20,9	45,9	34,7
<i>Gloeosporidiella</i> sp.	0	41,5	58,5	43,7	33,2	23,1	16,2
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i>	0	45,5	54,5	98,1	0	1,9	6,8
<i>Leptostroma</i> sp.	0	49,2	50,8	49,4	46,3	4,3	5,7
<i>Rosellinia thelena</i>	0	48,0	52,0	56,3	41,2	2,5	3,6
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	0	41,5	58,5	72,8	24,8	2,4	3,2
<i>Xylaria</i> spp.	0	43,8	40,3	79,9	17,4	2,7	2,3
<i>Phomopsis occulta</i>	0	59,7	40,3	79,9	17,4	2,7	1,9
Üetliberg							
<i>Exophiala</i> sp. 1	0	33,7	66,3	63,0	35,9	1,1	2,4
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i>	0	11,1	88,9	98,0	0	2,0	2,0
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	0	21,8	78,2	81,6	17,2	1,2	1,1
<i>Xylaria</i> spp.	0	41,9	58,1	86,5	10,8	2,7	0,9
<i>Gelatinosporium</i> sp. 1	0	11,3	88,7	98,1	1,9	0	0,7
<i>Cytospora</i> sp.	0	26,1	73,9	67,4	28,3	4,3	0,6
<i>Libertella</i> sp.	0	29,8	70,2	85,1	0	14,9	0,6
<i>Brunchorstia</i> sp.	0	35,0	65,0	100,0	0	0	0,5

*) beide Teile der gleichen Nadel befallen

***) Total beider Altersklassen

j****) 0 bis 2 Monate alte Nadeln

Der Verlauf des Gesamtbefalls entspricht am Üetliberg demjenigen der oben erwähnten Arten, während er in Ruswil durch die in den Wintermonaten seltener vorkommenden *Cryptocline abietina* und *Gloeosporidiella* sp. geprägt wird.

3.4. Unterschiede zwischen jungen und alten Nadeln

Die Infektionshäufigkeit junger Nadeln (Altersklasse j, 1.5–2.5jährig) ist für die meisten Probenahmen signifikant kleiner (Wilcoxon-Test) als diejenige älterer Nadeln (Altersklasse a, 4–7jährig) (Abb. 11). Im allgemeinen kommen alle häufig isolierten Pilzarten, mit Ausnahme von *Phomopsis occulta* in Ruswil, vermehrt in alten Nadeln vor (Tab. 7); die gleichen Tendenzen konnte BRUNNER (1982) feststellen. Der prozentuale Anteil der einzelnen Arten am

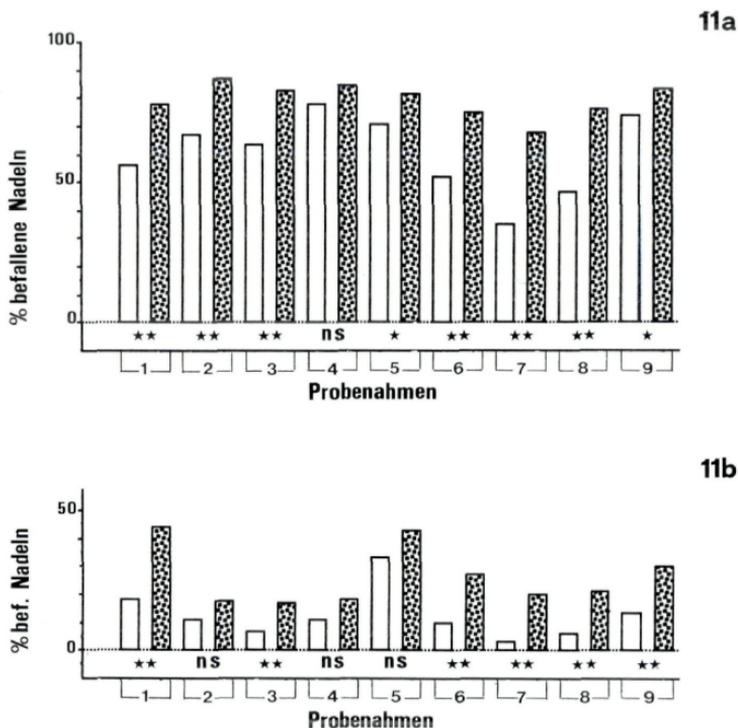


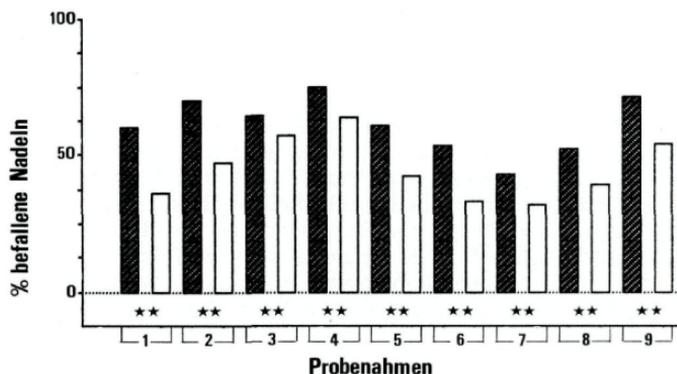
Abb. 11: Durchschnittlicher Befall (in %) junger und alter Nadeln für die einzelnen Probenahmen. – a. in Ruswil. – b. am Üetliberg. – leere Balken: junge Nadeln (Altersklasse j); punktierte Balken: alte Nadeln (Altersklasse a). **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; ns: nicht signifikant.

Gesamtbefall in jungen und in alten Nadeln ist allerdings etwa gleich groß (Tab. 2).

Am Üetliberg sind die Altersklassen vor allem wegen des stark erhöhten Vorkommens von *Agrylloopsis caeruleo-atra* in alten Nadeln auffälliger voneinander verschieden.

Sehr junge (0–2 Monate alte) Nadeln enthalten keine oder sehr wenige Pilze. Die Abhängigkeit des Endophytenbefalls vom Blattalter wurde von mehreren Autoren bei verschiedenen Wirtspflanzen bereits erkannt (BERNSTEIN & CARROLL, 1977; PETRINI & MÜLLER, 1979; STONE, 1986). Im Laufe des Alterungsprozesses der Nadeln wird das Eindringen der Pilze durch Biodeterioration und Erosion der epikulären Wachse und der Kutikula (DICKINSON, 1979) zunehmend

12a



12b

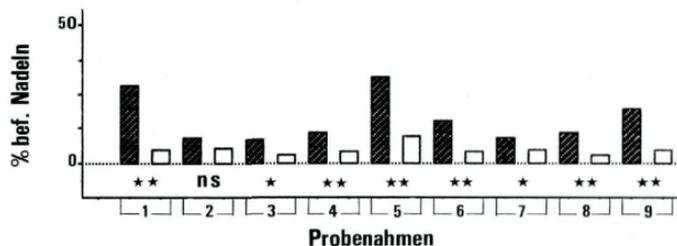


Abb. 12: Durchschnittlicher Befall (in %) der Nadelteile (Basis und Spitze) für die einzelnen Probenahmen. – a. Ruswil. – b. Üetliberg. – leere Balken: Nadelspitze; schraffierte Balken: Nadelbasis. **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; ns: nicht signifikant.

erleichtert. Zudem ist die Wahrscheinlichkeit erfolgreicher Infektionen bei alten Nadeln größer als bei jungen (STONE, 1986).

3.5. Unterschiede zwischen basalem und apikalem Teil der Nadeln

Die Nadelbasis ist insgesamt signifikant ($p < 0,01$, t-Test) stärker befallen als die Spitze (Abb. 12, Tab. 7).

Agrylloopsis caeruleo-atra ist an beiden Standorten in der Nadelbasis sehr häufig. Vereinzelt läßt sie sich auch in der Nadelspitze nachweisen; es handelt sich dabei jedoch stets um Nadeln, deren Basis ebenfalls von diesem Pilz besiedelt ist. Ähnlich verhalten sich *Phomopsis occulta*, *Brunchorstia* sp., *Libertella* sp. und

Gelatinosporium sp. 1. Das Vorkommen dieser Arten beschränkt sich fast ausschließlich auf den Petiolus-Bereich der Nadeln („Stielendophyten“ vgl. CARROLL & al., 1977; BRUNNER, 1982). Das Vorhandensein von verschiedenen Pilzarten in verschiedenen Nadelteilen stellt eine grobe räumliche Trennung gewisser Endophyten dar. Andererseits dürften auch Pilze, die sich im gleichen Nadelbereich befinden, räumlich getrennt sein; STONE (1986) konnte zeigen, daß *Rhabdocline parkeri* intrazellulär und *Phyllosticta* sp. interzellulär in Nadeln von *Pseudotsuga menziesii* wachsen und koexistieren. Eine weitere Möglichkeit der Koexistenz mehrerer Pilzarten dürfte durch die unterschiedlichen Fähigkeiten, pflanzliche Stoffe zu verwerten, gegeben sein (CARROLL & PETRINI, 1983; CANAVESI, 1987).

3.6. Untersuchung von Zweigstücken und Knospen der Nadeln

Aststücke und grüne Nadeln unterscheiden sich lediglich in der Häufigkeit des Auftretens einzelner Endophytenarten. Der Gesamtbefall der Aststücke am Üetliberg beträgt 80%; am häufigsten sind *Cryptosporiopsis abietina* (27%) und *Phomopsis occulta* (13%) isoliert worden. In Ruswil hingegen waren nur 53% der untersuchten Aststücke durch Pilze, meistens *Phomopsis occulta* (47%), befallen (Tab. 8).

Die untersuchten Knospen waren am Üetliberg zu 43% und in Ruswil zu 93% befallen. Der häufigste Pilz am Üetliberg ist *Exophiala* sp. 1; in Ruswil kommt dagegen meistens *Phomopsis occulta*, aber auch eine Reihe anderer, zum Teil steril bleibender Pilzarten vor (Tab. 8).

Das starke Vorkommen von *Phomopsis* in Aststücken und Knospen läßt darauf schließen, daß sich der Pilz von den Ästen in die Nadelbasis (Petiolus) ausbreitet. Es handelt sich demnach zumindest in Ruswil um den wichtigsten Primärbesiedler junger Nadeln. Mit zunehmendem Alter der Nadeln wird diese Art mehr und mehr durch andere Pilze verdrängt. Dies wird unter anderem durch die Tatsache belegt, daß nur *P. occulta* in jungen Nadeln häufiger vorkommt (Tab. 7).

Unser besonderer Dank geht an Prof. Dr. E. MÜLLER, der die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte, wertvolle Ratschläge erteilte und bei der Bestimmung schwieriger Pilzarten behilflich war. PD Dr. O. PETRINI half bei der Planung und Auswertung der Arbeit. Ihm und Frau Dr. L. PETRINI möchten wir für die kritische Durchsicht des Manuskripts und vor allem für die Hilfe bei Probenahmen und deren Verarbeitung nach dem Unfall von F. SIEBER-CANAVESI herzlich danken. Bei der Auswahl der Untersuchungsflächen unterstützte uns Dr. W. LINGG und Dr. A. LEUCHTMANN half bei den Vegetationsaufnahmen.

Tab. 8: Pilzarten aus Aststücken und Knospen der Tanne von beiden Standorten [in % befallener Aststücke (Knospen)].

Legende: +: Werte < 10%, Üe: Üetliberg, Ru: Ruswil

Pilzart	in Kultur*	Aststücke		Knospen	
		Üe	Ru	Üe	Ru
Ascomycetes					
<i>Diaporthe</i> sp.	T	0	+	0	0
<i>Gnomonia</i> sp.	T	0	+	0	0
<i>Hypoxyton bipapillatum</i> BERKLEY	S	+	0	0	0
<i>Hypoxyton serpens</i> (PERS.: FR.) KICKX (<i>Geniculosporium</i>)	A	10	+	0	0
<i>Sordaria fimicola</i> (ROB.) CES. & DENOT.	T	0	0	+	+
<i>Xylaria</i> spp.	S	0	0	0	10
Deuteromycetes					
Hyphomycetes					
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (FRESEN) DE VRIES					
		0	0	0	+
<i>Exophiala</i> sp. 1		+	0	30	0
<i>Exophiala</i> sp. 2		+	0	0	0
<i>Hormonema dematioides</i> LAGERBERG & MELIN		+	0	0	13
<i>Oedocephalum elegans</i> PREUSS		0	+	0	0
<i>Phialophora</i> sp.		+	0	0	0
<i>Torula herbarum</i> (PERS.) LINK: S. F. GRAY		+	0	0	0
Coelomycetes					
<i>Agrylloopsis caeruleo-atra</i> HÖHN.		+	+	0	+
<i>Asteroma</i> sp.		+	0	0	0
<i>Brunchorstia</i> sp. 1		0	0	0	+
<i>Brunchorstia</i> sp.		10	0	0	+
<i>Cryptocline abietina</i> PETRAK		0	0	0	+
<i>Cryptosporiopsis</i> sp.		0	0	0	+
<i>Cryptosporiopsis abietina</i> PETRAK		27	0	0	0
<i>Leptostroma</i> sp.		0	0	0	+
<i>Libertella</i> sp.		0	0	+	0
<i>Phoma</i> sp.		+	0	+	0
<i>Phomopsis</i> sp. 1		+	0	0	10
<i>Phomopsis conorum</i> (SACC.) DIED		0	0	0	+
<i>Phomopsis occulta</i> TRAV.		13	47	0	30
<i>Sirodothis</i> sp. 1		0	0	0	10
Basidiomycetes					
<i>Rhizoctonia</i> sp.	A	0	0	+	0
Steriles Mycel Nr. 3		+	0	0	0
Sterile Myzelien		17	+	17	47

* Anamorph (=A), Teleomorph (=T) in Kultur gebildet; Steril (=S), nach Kulturaussehen bestimmt; Name des Anamorphs in Klammern unter dem des Teleomorphs angegeben.

Literaturverzeichnis

- BERNSTEIN, M. E. & G. C. CARROLL (1977). Internal fungi in old-growth Douglas fir foliage. – *Can. J. Bot.* 55: 644–653.
- BRUNNER, I. (1982). Endophytische Pilze von *Abies alba* MILL.; Vergleich der Nadelendophyten mit den Pilzen der Streue. – Diplomarbeit ETH, Zürich, 69 S.
- CANAVESI, F. (1987). Beziehungen zwischen endophytischen Pilzen von *Abies alba* MILL. und den Pilzen der Nadelstreue. – Dissertation ETH Nr. 8325, Zürich.
- CARROLL, G. C. (1986). The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. – In: FOKKEMA, N. J. & van den HEUVEL, J. (eds.). *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- & F. E. CARROLL (1978). Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. – *Can. J. Bot.* 56: 3034–3043.
- CARROLL, F. E., E. MÜLLER & B. C. SUTTON (1977). Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. – *Sydowia* 29: 87–103.
- CARROLL, G. C. & O. PETRINI (1983). Patterns of substrate utilization by some fungal endophytes from coniferous foliage. – *Mycologia* 75: 53–63.
- DICKINSON, C. H. (1979). External synergism among organisms inducing disease. – In: J. G. HORSFALL & E. B. COWLING (eds.). *Plant Disease an Advanced Treatise*. Vol. IV. How pathogens induce disease. Academic Press, New York.
- EELLENBERG, H. & F. KLÖTZLI (1972). *Waldgesellschaften und Waldstandorte der Schweiz*. – Mitteilungen EAFV 48, Birmensdorf.
- HARTIGAN, J. A. (1975). *Clustering algorithms*. Wiley & sons, New York.
- HESS, H. E., E. LANDOLT & R. HIRZEL (1970). *Flora der Schweiz* (3 Bände). – Birkhäuser, Basel.
- MAYER, H. (1977). *Waldbau auf soziologisch-ökologischer Grundlage*. – Fischer, Stuttgart und New York.
- QUELLETTE, G. B. & E. W. B. WARD (1970). Low – Temperature requirements for ascopore germination and growth of *Hypoxyylon diathrauston*. – *Can. J. Bot.* 48: 2223–2225.
- PETRINI, O. (1985). Wirtsspezifität endophytischer Pilze bei einheimischen *Ericaceae*. – *Botanica Helvetica* 95: 213–238.
- (1986). Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. – In: FOKKEMA, N. J. & van den HEUVEL, J. (eds.). *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- & G. CARROLL (1981). Endophytic fungi in foliage of some *Cupressaceae* in Oregon. – *Can. J. Bot.* 59: 629–636.
- & E. MÜLLER (1979). Pilzliche Endophyten am Beispiel von *Juniperus communis* L. – *Sydowia* 32: 224–251.
- J. K. STONE & F. E. CARROLL (1982). Endophytic fungi in evergreen shrubs in Western Oregon: a preliminary study. – *Can. J. Bot.* 60: 789–796.
- RIEDWYL, H. (1978). *Angewandte mathematische Statistik in Wissenschaft, Administration und Technik*. – Paul Haupt Verlag, Bern und Stuttgart.
- SCHUBÖ, W. & H. M. UEHLINGER (1984). *SPSSX – Handbuch der Programmversion 2*. – Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- SCHUCHARD-FICHER, CH., K. BACKHAUS, U. HUMME, W. LOHRBERG, W. PLINKE & W. SCHREINER (1982). *Multivariate Analysemethoden*. – Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- SIEBER, T. N. (1988). Endophytische Pilze in Nadeln von gesunden und geschädigten Fichten [*Picea excelsa* (LAM.) LINK]. – *Eur. J. For. Path.* (in press).
- T. K. RIESEN, E. MÜLLER & P. M. FRIED (1988). Endophytic fungi in four winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) differing in resistance against *Stagonospora nodorum* (BERK.) CAST. & GERM. (= *Septoria nodorum* BERK.). – *J. Phytopath.* (in press).

- SNEATH, P. H. A. & P. R. SOKAL (1973). Numerical Taxonomy. – Freeman, London.
- STONE, J. K. (1986). Foliar endophytes of Douglas fir: cytology and physiology of the host-endophyte relationship. – Ph. D. thesis, University of Oregon, Eugene, Oregon, USA.
- TUKEY, J. W. (1977). Exploratory Data Analysis. – Addison-Wesley Publishing Co., Reading, Massachusetts.
- WIDLER, B. & E. MÜLLER (1984). Untersuchungen über endophytische Pilze von *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) SPRENGEL (*Ericaceae*). – Botanica Helvetica 94: 307–337.
- WILKINSON, L. (1986). SYSTAT: The system for Statistics. – SYSTAT INC., Evanston, IL.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1987/1988

Band/Volume: [40](#)

Autor(en)/Author(s): Sieber-Canavesi Francesca, Sieber Thomas N.

Artikel/Article: [Endophytische Pilze in Tanne \(*Abies alba* MILL.\) - Vergleich zweier Standorte im Schweizer Mittelland \(Naturwald-Aufforstung\). 250-273](#)