

Physiologische Untersuchungen an *Herpotrichia juniperi* (Duby) Petrak aus unterschiedlichen Höhenstufen

Masterarbeit

von

Christoph Huber BSc

zur Erlangung des akademischen Grades

Diplomingenieur der Forstwirtschaft (Dipl.–Ing.)



Betreuer und Beurteiler:

Ao. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Erhard Halmschlager

Pinsdorf-Wien, im Mai 2014

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei all jenen Personen bedanken, die mir die Erstellung meiner Masterarbeit ermöglicht und mich in meinem Studium tatkräftig unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt:

- Meinem Betreuer, Herrn Prof. Dipl.-Ing. Dr. Erhard Halmschlager, für die verschiedenen Anregungen, den Zeitaufwand und die unzähligen wertvollen, fachlichen Ratschläge
- Herrn Prof.i.R. Dr. Heinz Butin, Herrn Prof. Dr. Ottmar Holdenrieder und Martin Schlaffer BSc für die Zurverfügungstellung diverser Isolate
- Frau Mag. Susanne Mottinger-Kroupa für Ihre tatkräftige Unterstützung sowie die Einschulung in die Laborpraktiken
- Herrn Prof. Dipl.-Ing. Dr. Friedrich Leisch, Herrn Prof. Dipl.-Ing. Dr. Karl Moder und Herrn Dipl.-Ing. Dr. Johannes Tintner für die Unterstützung bei statistischen Fragen
- Herrn Dipl.-Ing. Peter Kritsch für die Bereitstellung von wertvollen Informationen
- Meinem Studienkollegen und Mitbewohner Maximilian Kastner BSc
- Meiner gesamten Familie für die Geduld, das Interesse und die umfassende Unterstützung während meines Studiums

Abstract (dt.)

Der Schwarze Schneeschimmel, *Herpotrichia juniperi*, ist eine Pilzerkrankung der nördlichen Hemisphäre, die in den Hochlagen Mitteleuropas große Schäden an Jungpflanzen von Fichte, Latsche, Zirbe und Wacholder verursacht. Eine Untergliederung dieser Pilzart in zahlreiche Unterarten wird zwar vermutet, bisher ist jedoch noch wenig darüber bekannt. Neueste Erkenntnisse deuten darauf hin, dass an Fichte zwei morphologisch trennbare Gruppen des Schwarzen Schneeschimmels auftreten: Die in höheren Lagen vorkommende „subalpine Form“ besitzt vorwiegend 4-zellige Ascosporen während die in tieferen Lagen anzutreffende „Mittelgebirgsform“ meist 5-zellige Sporen aufweist. Darauf aufbauend wurde in dieser Arbeit untersucht, ob sich beide Formen anhand ihrer *in vitro* Wachstumsraten bei unterschiedlichen Temperaturstufen unterscheiden lassen. Des Weiteren wurde getestet, ob sich Isolate von unterschiedlichen Wirtsbaumarten in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit unterscheiden. Die durchgeführten Wachstumsversuche zeigten jedoch, dass sich das Myzelwachstum von Fichtenisolaten der „subalpinen Form“ von jenem der „Mittelgebirgsform“ bei den einzelnen Temperaturstufen nur wenig unterscheidet. Eine Anpassung beider Formen an ihre unterschiedliche Höhenverbreitung konnte anhand ihres *in vitro* Wachstums somit nicht festgestellt werden. Deutlichere, wenn auch nicht signifikante Unterschiede lieferte der Vergleich des Wachstums von Isolaten unterschiedlicher Baumarten. Hierbei wiesen Isolate von Wacholder ein deutlich geringeres Wachstum auf als Isolate von Fichte und Latsche, welche sich ihrerseits nur wenig voneinander unterscheiden. Dieses Ergebnis legt nahe, dass *Herpotrichia*-Isolate von Wacholder einen eigenen Komplex aus wenigen kryptischen Arten darstellen könnten. Darüber hinaus zeigten morphologische Untersuchungen der Ascosporen, dass sie während ihres Reifungsprozesses in Länge und Breite zunehmen und dass die reifen, dunkelbraunen Dauerformsporen die reifen, hyalinen Sporen in ihrer Breite übertreffen. Weiters konnte festgestellt werden, dass die Ascosporen von *Picea abies* ein signifikant größeres Länge/Breite Verhältnis aufweisen als jene von *Pinus mugo*. Im Zuge der Arbeit konnte auch das asexuelle Stadium des Schwarzen Schneeschimmels, das bisher erst einmal beobachtet wurde und welches der Gattung *Pyrenochaeta* angehört, untersucht werden.

Abstract (engl.)

Herpotrichia juniperi, the causal agent of brown felt blight, is one of the most serious diseases in Central Europe at higher elevations and is able to cause severe damages on Norway spruce, Mountain pine, Swiss stone pine and Common juniper. It is very likely that *H. juniperi* consists of several subspecies or cryptic species, but there is still some need for further research. Latest scientific findings suggest that *H. juniperi* can be divided in two morphological groups: The so called "subalpine type" mostly occurs at higher elevations and predominantly forms four-celled ascospores. The "montane type" develops at lower altitudes and generally forms more elongated, five-celled ascospores. Referring to these findings, the growth rate of these two groups has been studied at different temperatures. Also the differences between the growth rates of isolates from Norway spruce, Mountain pine and Common juniper had been analyzed. The analyses showed that the growth rates of *H. juniperi*-isolates belonging to the „subalpine type“, are very similar to those of the „montane type“. An adaptation of both types to their different distribution areas could not be observed by means of their growth *in vitro*. More distinct, but also not significant differences were found when the growth rates of isolates from different tree species were compared. Isolates from Common juniper showed considerably lower growth rates than isolates of Norway spruce or Mountain pine whereas the growth rates of the last two species were comparatively similar. These results lead to the assumption, that *Herpotrichia*-isolates from Common juniper form a discrete complex of a few cryptic species. Morphological analyzes of ascospores showed, that the spores grow in length and width during maturation. Measurements indicated that the mature, hyaline spores of *H. juniperi* become thicker when they change their color from hyaline to dark brown due to sun exposure. Furthermore the study showed that mature ascospores, formed on spruce twigs, have a significant higher length to width ratio than spores that developed on infected pine twigs. The asexual stage of the brown felt blight which was only examined once in literature and belongs to the genus *Pyrenochaeta*, could also be observed and examined on Petri dishes.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	BEDEUTUNG UND VERBREITUNG VON <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i>	1
1.2	TAXONOMISCHE EINORDNUNG VON <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i>	2
1.3	ERSTE ERKENNTNISSE ÜBER <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i>	3
1.4	TELEOMORPHER ENTWICKLUNGSZYKLUS VON <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i>	5
1.5	ANAMORPHES STADIUM VON <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i>	16
1.6	ABGRENZUNG ZU MORPHOLOGISCH ÄHNLICHEN PILZEN	17
1.7	VORBEUGUNG UND BEKÄMPFUNG	19
1.8	ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	22
2	MATERIAL UND METHODEN.....	24
2.1	VORBEREITUNG DES WACHSTUMSTESTS	25
2.2	WACHSTUMSTEST	25
2.3	DATENAUSWERTUNG.....	27
2.4	MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DER ASCOSPoren	28
3	ERGEBNISSE	29
3.1	MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER ASCOSPoren	29
3.1.1	Ascosporenlänge und –breite der „subalpinen Form“ in Abhängigkeit vom Reifegrad ..	29
3.1.2	Ascosporenlänge und –breite in Abhängigkeit von der Wirtsbaumart	31
3.2	MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DES ANAMORPHS VON <i>H. JUNIPERI</i>	33
3.2.1	Größe der Pyknidien.....	33
3.2.2	Maße der Pyknosporen.....	35
3.3	PHYSIOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN <i>HERPOTRICHIA JUNIPERI</i> - ISOLATEN VERSCHIEDENER WIRTSBAUMARTEN	35
3.4	WACHSTUMSUNTERSCHIEDE ZWISCHEN DER „MITTELGEBIRGSFORM“ UND DER „SUBALPINEN FORM“ IN VITRO.....	38
3.5	WEITERE BEOBACHTUNGEN IM ZUGE DES WACHSTUMSVERSUCHS.....	42
4	DISKUSSION	44
4.1	MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ASCOSPoren.....	44
4.2	MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DES ANAMORPHS.....	46

4.3	WACHSTUM VON <i>HERPOTRICHIA</i> -ISOLATEN UNTERSCHIEDLICHER WIRTSBAUMARTEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TEMPERATUR	47
4.4	UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEM WACHSTUM DER „SUBALPINEN FORM“ UND DER „MITTELGEBIRGSFORM“ <i>IN VITRO</i>	49
5	SCHLUSSFOLGERUNG	50
	LITERATURVERZEICHNIS	51
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	54
	TABELLENVERZEICHNIS.....	57
	ANHANG	58
	MALZEXTRAKT-AGAR 2% (MEA)	58
	WASSER-AGAR (TWA).....	58

1 Einleitung

Der „Schwarze Schneeschimmel“ (engl.: brown felt blight fungus) ist dadurch bekannt, dass er vor allem in Gebirgsregionen in schneereichen Lagen erhebliche Schäden an der Vegetation verursachen kann. Der Pilz umspinnt bodennahe Äste und Zweige seiner Wirtsbaumarten mit einem dichten, filzartigen Myzel und bringt diese nicht selten zum Absterben (Butin, 2011). Auf Grund seiner waldbaulichen Bedeutung in Gebirgswäldern beschäftigte sich die Wissenschaft nach seiner erstmaligen Beschreibung durch Hartig (1888) phasenweise sehr intensiv mit dieser Nadel- und Triebkrankheit.

Diese Arbeit soll den derzeitigen Wissensstand zu dieser Pilzerkrankung dokumentieren und beschäftigt sich darauf aufbauend mit gegenwärtigen Fragestellungen zur Morphologie und Physiologie dieses Pathogens.

1.1 Bedeutung und Verbreitung von *Herpotrichia juniperi*

Der „Schwarze Schneeschimmel“ (*Herpotrichia juniperi*) ist der Erreger von einer in Europa weit verbreiteten Pilzerkrankung. Er wurde jedoch auch in anderen Kontinenten wie Amerika (Scharpf, 1986) und in Asien (Oskay et al., 2011 und Kobayashi, 2007) nachgewiesen. In Mitteleuropa ist er von den Voralpen bis ins Hochgebirge weit verbreitet und befällt dort vorwiegend Nadeln von *Pinus mugo* und *Juniperus communis*. Etwas weniger häufig wird *Pinus cembrae* befallen (Wasern & Engesser, 2002). In tieferen Lagen ist *H. juniperi* häufig auch an *Picea abies*, *Abies alba* und an anderen Koniferen zu finden (Butin, 2011). Schneider et al. (2009) erwähnen *Calluna vulgaris* als einen weiteren Hauptwirt.



Abbildung 1: Starker Befall durch *H. juniperi* an den unteren Ästen einer Fichte (Wasern & Engesser, 2002)

Hervorzuheben ist die Assoziation des Pilzes mit der Schneedeckenmächtigkeit und der Dauer der Schneebedeckung. Unter der Schneedecke findet der Pilz ideale Wachstums- und Verbreitungsbedingungen vor (siehe Kapitel 1.7) und stellt somit in schneereichen Lagen eine große Gefahr für eine erfolgreiche Etablierung von Naturverjüngung und Aufforstungen dar (Wasern & Engesser, 2002). Da *H. juniperi* nur von Schnee bedeckte Pflanzenteile schädigt (TU-München, 2014), sind vor allem kleinere Bäume in schneereichen Lagen gefährdet, welche nach mehrjährigem Befall absterben können. Größere Bäume hingegen weisen nur an den unteren Ästen und Trieben, welche im Frühjahr lange Zeit von Schnee bedeckt sind, Symptome (Abb. 1) auf (Butin, 2011).

1.2 Taxonomische Einordnung von *Herpotrichia juniperi*

Tabelle 1: Systematik von *Herpotrichia juniperi*

Reich	<i>Fungi</i>
Abteilung	<i>Ascomycota</i>
Unterabteilung	<i>Pezizomycotina</i>
Klasse	<i>Dothideomycetes</i>
Unterklasse	<i>Pleosporomycetidae</i>
Ordnung	<i>Pleosporales</i>
Familie	<i>Lophiostomataceae</i>
Gattung	<i>Herpotrichia</i>
Art	<i>Herpotrichia juniperi</i>

Tabelle 1 bildet die derzeit aktuelle Klassifikation nach Farr & Rossman (2014) ab. Demnach gehört *Herpotrichia juniperi* dem Stamm der *Ascomycota* an. Diese bilden eine große Abteilung im Reich der *Fungi*. Als gemeinsames Merkmal besitzen sie Thalli mit Zellwänden aus Chitin (von Arx, 1987). Während bei der Klassifizierung von *H. juniperi* bis zur

Art noch weitgehend Einigkeit unter den Taxonomen herrscht, ist eine genaue Unterteilung in Unterarten noch immer umstritten. Gäumann et al. (1934) vermuten, dass *H. juniperi* eine Art mit breitem Wirtsspektrum ist und noch keine Aufspaltung in verschiedene Rassen erfahren hat. Diese Vermutung stützt sich auf die Tatsachen, dass keine ausgeprägte Wirtswahl zwischen den Koniferen besteht und selbst exotische Pflanzen von *Herpotrichia* befallen werden können. Weiters konnten Gäumann et al. (1934) bei der Untersuchung ihrer Isolate keine erheblichen Wachstumsunterschiede auf verschiedenen Nährböden feststellen, welche auf eine Differenzierung in unterschiedliche Rassen hinweisen könnte.

Daraufhin untersuchte Bazzigher (1976) die Wachstumsgeschwindigkeit unterschiedlicher Isolate von *Pinus mugo*, *Picea abies* und *Juniperus communis*. Der Versuch zeigte, dass es beträchtliche Unterschiede im Wachstum gibt (vgl. Kapitel 4.3). Pilzisolat von *J. communis* wiesen bei einer Temperatur von 15°C ein um ca. 32% geringeres Wachstum auf als Isolate von *P. abies* und *P. mugo*. Da die Isolate keine weiteren physiologischen oder morphologischen Unterschiede aufwiesen, war es jedoch nicht möglich aus den gewonnenen Informationen Rassen oder Unterarten auszuscheiden.

Schneider et al. (2009) versuchten daraufhin mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden *H. juniperi* in kryptische Arten zu untergliedern. Anhand von 2 Transekten in den Schweizer Alpen wurden frische Proben von *H. juniperi* von den Wirtspflanzen *P. abies*, *J. communis* und *P. mugo* isoliert. Es gelang ihnen die Proben auf Basis gewonnener ISSR-PCR-Daten 5 unterschiedlichen Gruppen zuzuordnen. Eine dieser Gruppen wurde allein von den von *P. abies* stammenden Isolat gebildet. Alle anderen Cluster korrelierten weder mit der Wirtsbaumart, den Transekten oder der Position innerhalb der Transekte. Die Ergebnisse bestätigen somit die Annahme, dass *H. juniperi* eine große Anzahl von kryptischen Arten aufweist, eine davon scheint nur auf *P. abies* vorzukommen.

1.3 Erste Erkenntnisse über *Herpotrichia juniperi*

Der Pilz wurde erstmals von Hartig (1888) mit dem Namen *Herpotrichia nigra* beschrieben. Hartig beschäftigte sich schon seit 1884 mit seinem Assistenten Tubeuf intensiv mit diesem Parasiten. Sie studierten ihn an verschiedenen Orten in den bayrischen Alpen an *Juniperus*, *Pinus mugo* und *Picea*. Die durch das Pathogen verursachten Symptome waren

jedoch schon längere Zeit zuvor bekannt, nicht jedoch deren Ursache. So berichtet Raimann (1890), dass bereits acht Jahre vor der Publikation durch Hartig durch Herrn Szyszykowicz von *Herpotrichia* befallene Latschen in der Tatra beobachtet wurden. Hartig (1888) und Raimann (1890) kannten im Wesentlichen bereits den Lebenszyklus von *H. juniperi* und wussten über ihren Stellenwert in den Hochlagen. Besondere Bedeutung wurde in ihren Beschreibungen der Fichte als Wirtsbaumart gewidmet. Rund 25 Jahre später wurde die Krankheit in Nordamerika beobachtet (Bazzigher, 1976). Weir (1915) konnte das Wirtsspektrum von *H. juniperi* um *Abies*, *Libocedrus* und *Tsuga* erweitern, während er *P. mugo* als Hauptwirt nicht mehr erwähnt. Vielmehr geht Weir (1915) davon aus, dass es sich bei Hartig's Funden auf *P. mugo* um *Neopeckia coulteri*, einem physiologisch und morphologisch sehr ähnlichen Pilz, handelt. Hierbei stützt er sich auf die Ergebnisse von Sturgis (1913), welcher in seiner Arbeit wichtige Unterschiede zwischen *N. coulteri* und *H. juniperi* formuliert. Bose (1961) erweiterte das Wirtsspektrum abermals um die Gattungen *Chamaecyparis*, *Pseudotsuga*, *Phyllodoce*, *Taxus* und *Thuja*. Auch die Gattung *Pinus* wird seitdem wieder als möglicher Wirt von *H. juniperi* geführt. Bis heute wurde das Wirtsspektrum von *H. juniperi* ständig erweitert. Zuletzt konnte *H. juniperi* auf *Cedrus libani* in der Türkei identifiziert werden (Oskay et al., 2011).

Von Arx (1987) und Bose (1961) beschränkten das Vorkommen von *H. juniperi* auf Koniferen, obwohl Boyce (1916) den Erreger auf *Primula* identifizieren konnte. Scharpf (1986) vermutete, dass *Primula* nur befallen werden konnte, da sie in direktem Kontakt mit infizierten Zweigen von *Pinus balfourianai* stand. Auch Scharpf (1986) berichtete neben Boyce (1916) von einem Vorkommen von *H. juniperi* auf „Nicht-Koniferen“. Er konnte den Krankheitserreger auf *Arceuthobium abietinum*, welches auf *Abies magnificae* wuchs, in Kalifornien nachweisen. Es gelang ihm das Pathogen anhand der Ascocarpien und der Ascosporen zu identifizieren. Weiters konnte er beobachten, dass *H. juniperi* durchaus in der Lage ist, Triebe von *A. magnificae* abzutöten (Abb. 2).



Abbildung 2: Von *Herpotrichia juniperi* befallene Zwergmistel (Scharpf, 1986)

1.4 Teleomorpher Entwicklungszyklus von *Herpotrichia juniperi*

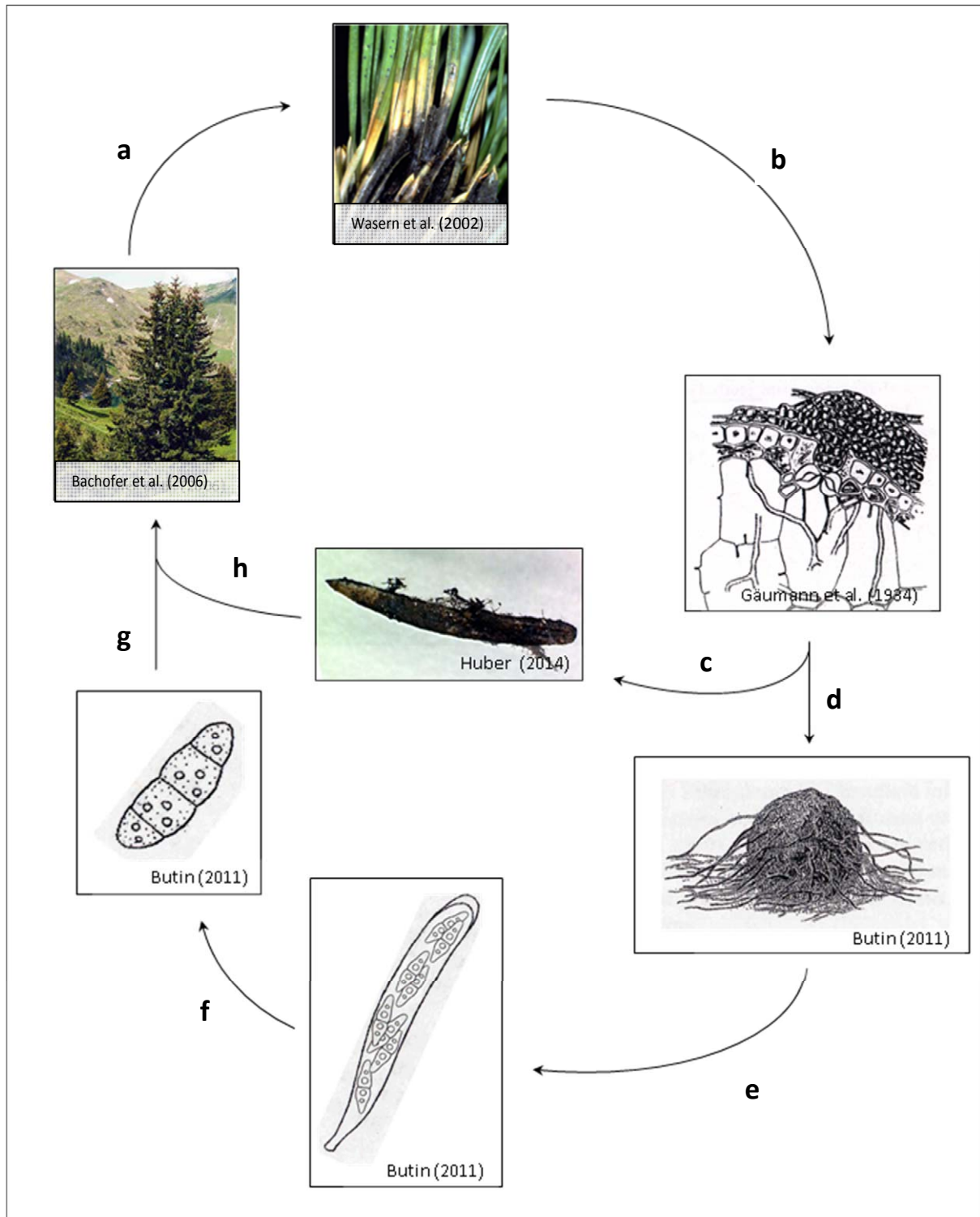


Abbildung 3: Lebenszyklus von *Herpotrichia juniperi*

Der „Schwarze Schneeschimmel“ gehört zur Gruppe der psychophilen Pilze. Hierbei handelt es sich um Arten, die niedrige Temperaturen bevorzugen und zwischen 0°C und 15°C ihr Optimum aufweisen (Dörfelt, 1989). *H. juniperi* ist wie viele andere Hochlagenpilze sehr gut an tiefe Temperaturen angepasst und vermag auch unter dem Gefrierpunkt zu wachsen (Nierhaus-Wunderwald, 1996). Besonders stark tritt das Myzel des Schwarzen Schneeschimmels an den bodennahen Ästen, vor allem auf der Lee-Seite von Bäumen auf (Simms, 1967). Diese Beobachtungen ver-

wundern nicht sehr, da der Pilz gut an die Bedingungen unter der Schneedecke angepasst ist. Zwei Faktoren sind für das Wachstum (vgl. Abb. 3/a) des Pilzes von entscheidender Bedeutung, einerseits die in seinem Umfeld herrschende Luftfeuchtigkeit, andererseits die ihn umgebende Temperatur (Schneider et al., 2009). Um aktiv wachsen zu können, benötigt *H. juniperi* eine hohe Luftfeuchtigkeit und gleichzeitig Temperaturen zwischen etwa -3°C und 30°C (Nierhaus-Wunderwald, 1996). Solche Bedingungen findet der Pilz vor allem außerhalb der Vegetationsperiode bei Schneelagen. Die Schneemächtigkeit spielt für das Wachstum der Pilzhyphen eine entscheidende Rolle (Abb. 4): Bei geringer Schneelage bzw. nahe der Schneeoberfläche kann der Pilz sehr wohl auf Grund der dort herrschenden Luftfeuchtigkeit wachsen. Den limitierenden Faktor stellt auf diesen Standorten viel mehr die Temperatur dar. Vor allem an wolkenlosen Tagen herrscht in Hochgebirgsregionen ein ausgeprägter Tagesgang der Lufttemperaturen. Während in den Mittagsstunden durchaus Temperaturen von einigen Plusgraden erreicht werden können, können die nächtlichen Temperaturen mehrstellige Minusgrade aufweisen. Gäumann et al. (1934) geben an, dass ausgewachsene Myzelien von *H. juniperi* wohl unter derart tiefen Temperaturen überleben können, bezweifeln aber, dass frisch gebildete, junge Hyphenspitzen derart tiefe Temperatur ertragen. Bei höheren Schneedeckenmächtigkeiten macht sich die isolierende Wirkung der Schneeauflage deutlich bemerkbar. Die Temperaturen sind milder und deren Verlauf ist

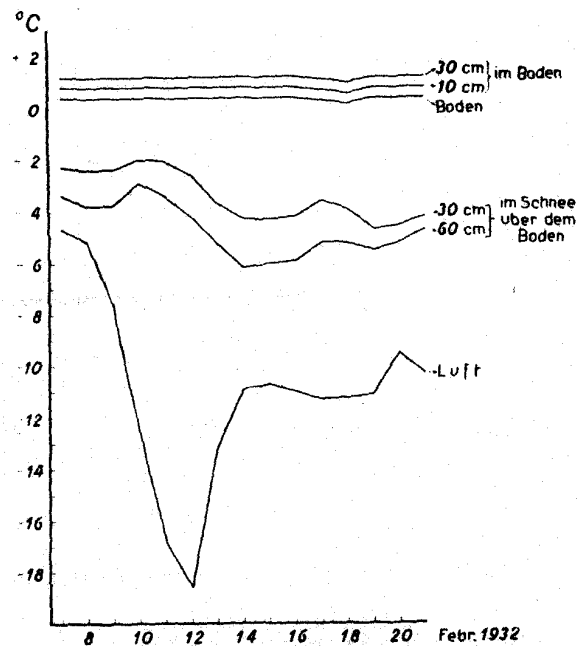


Abbildung 4: Verlauf von Boden-, Schnee- und Lufttemperatur in Davos (CH) bei einer Schneemächtigkeit von 60 bis 80 cm (Gäumann et al., 1934)

deutlich gedämpfter. Unter solchen Umweltbedingungen findet der Pilz sowohl eine ausreichend hohe Luftfeuchtigkeit vor als auch Temperaturen, unter denen er zu wachsen vermag (Gäumann et al., 1934). Erstaunlich scheint, dass dieser Hochlagenpilz in der Natur vor allem unter Schneedecken bei sehr tiefen Temperaturen um den Gefrierpunkt vorkommt und wächst, obwohl sich sein Wachstumsoptimum bei Temperaturen um 15°C (Gäumann et al., 1934 & Bazzigher, 1976) befindet. Gäumann et al. (1934) prüften daraufhin, ob *H. juniperi* bei wassergesättigter Luft und einer Temperatur von 15°C virulenter ist als unter natürlichen Bedingungen unter einer Schneedecke. Hierfür bedeckten sie Töpfe mit infizierten Koniferen mit einer Glasglocke um eine konstant hohe Luftfeuchtigkeit innerhalb dieser zu gewährleisten. Die bei 15°C gelagerten Koniferen wiesen eine stärkere Besiedlung sowie eine raschere Zerstörung des Wirtes auf als jene bei 0°C.

Auch Cunningham et al. (2006) untersuchten im Zuge eines Freilandexperiments in Sedrun (CH) Faktoren, die das Auftreten von *H. juniperi* an jungen Fichtenpflanzen in subalpinen Wäldern beeinflussen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Länge der Schneebedeckung eine wesentliche Rolle für das Auftreten des Schneesimmels darstellt. Weiters konnte festgestellt werden, dass sich Verbiss, geringe Bodentemperaturen und Beschattung durch die Bodenvegetation positiv auf die Präsenz von *H. juniperi* auswirken.

Cunningham et al. (2006) konnten eine deutliche Reduktion des Wachstums von mit *H. juniperi* infizierten Pflanzen feststellen. Abb. 5 zeigt den Unterschied im Wachstum der Pflanzen bei unterschiedlicher Befallsintensität. Zwischen nicht befallenen Pflanzen (1) und jenen mit einem durchschnittlichen Befall der Krone von 22% wurde ein Wachstumsunterschied von 11 cm beobachtet. Völlig mit Myzel überwachsene Bäume (3) wiesen einen rund 85% geringeren Zuwachs als die Gruppe der symptomatisch

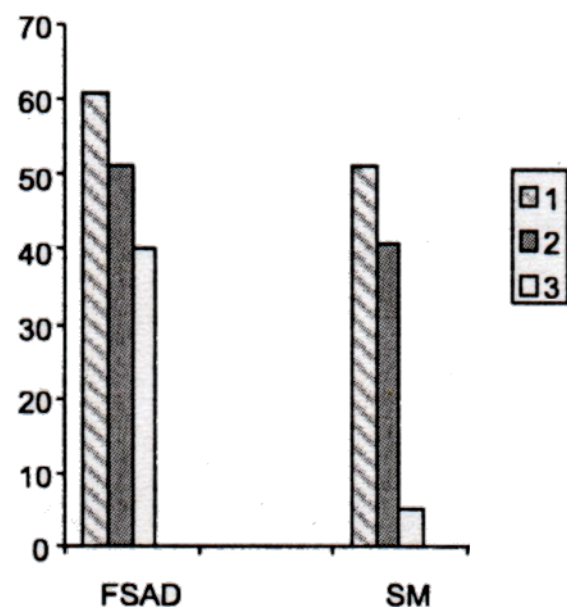


Abbildung 5: Erwartetes Pflanzenwachstum (cm) bei minimalem (Level 1), durchschnittlichem (Level 2) und maximalem Auftreten von Schneebedeckung (FSAD) und Schneesimmel (SM) (verändert nach Cunningham et al., 2006)

unauffälligen Fichtenpflanzen auf. Fichten, deren Kronen mehr als 45% von Myzel bedeckt waren, wiesen ein deutlich geringeres Wachstum auf. Auch die Länge der Schneebedeckung (FSAD) wirkte sich auf das Höhenwachstum der Pflanzen aus. Einerseits reduziert eine langandauernde Schneebedeckung die Vegetationszeit der Pflanzen, andererseits ist der in Abb. 5 abgebildete Trend auf die vermehrte Präsenz von Schneeschimmelerkrankungen bei späteren Ausaperungszeitpunkten zurückzuführen (Cunningham et al., 2006).

Ein Rückgang im Höhenwachstum kann große Folgen für das langfristige Überleben bereits befallener junger Bäume haben. Durch den Wachstumsrückgang benötigt die Pflanze länger um dem Gefahrenbereich zu entfliehen, welcher durch die lokal auftretenden Schneehöhen induziert wird.

Sobald *H. juniperi* geeignete Wuchsbedingungen vorfindet, wächst sie vorwiegend in den Hohlräumen der Schneedecke (Butin, 2011). Das dabei frisch gebildete Myzelium erscheint dabei als hyaliner bis gräulicher, rauer Filz, der die befallenen Triebe und Nadeln umhüllt. Sobald dieses Hyphengeflecht im Frühjahr der Sonne ausgesetzt ist, werden die Wachstumshyphen innerhalb weniger Tage zu Dauerformen umgebildet (Bazzigher, 1976).

Dabei stellen die Hyphen das Wachstum ein, werden dickwandig und verfärben sich braunschwärzlich (Simms, 1967). Bazziger (1976) fand heraus, dass allein die Einwirkung des Lichts auf das Myzel eine wichtige Rolle für die Einleitung dieses Prozesses darstellt. Die Dauerform ist äußerst widerstandsfähig und verleiht dem Pilz die Fähigkeit, auch unter für ihn ungünstigen Witterungsbedingungen wie extremen Temperaturen, intensiver Sonnenbestrahlung oder ausgeprägter Trockenheit zu überdauern (Bazzigher, 1976). Weiters gelang es Bazzigher (1962) die obere letale Temperaturgrenze für die Dauermyzelien experimentell zu bestimmen. Diese ist abhängig vom Reifezustand der Hyphen, von deren Wassergehalt und der Einwirkungsdauer der Temperatur (Abb. 6).

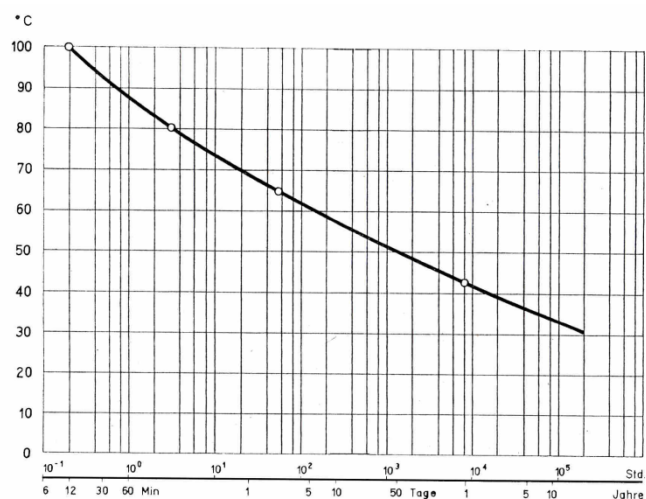


Abbildung 6: Letale Temperatur für das Dauermyzel von *H. juniperi* in Abhängigkeit der Einwirkungsdauer der Temperatur (Bazzigher, 1962)

Entscheidend, ob ein befallener Zweig abstirbt oder nicht ist die Tatsache, ob die Triebspitze vom Myzel überwachsen ist. Simms (1967) konnte mehrfach beobachten, dass der Ast meist in der Lage ist weiterzuwachsen, wenn die Triebspitze nicht befallen ist.

Eine Besonderheit der Lebensweise von *H. juniperi* stellt die Tatsache dar, dass sie in der ersten Lebensphase unter der Schneedecke als Saprophyt auftritt, also nur oberflächlich auf den Nadeln wächst. In den nächsten Entwicklungsphasen (Abb. 3/b) geht der Pilz zu einer ektoparasitischen und schlussendlich zu einer endoparasitischen Lebensweise über (Butin, 2011).

Gäumann et al. (1934) konnten mit Hilfe von Infektionsversuchen unter Glasglocken die einzelnen Phasen schrittweise verfolgen: Sobald die Nadeln von Lufthyphen erreicht werden, werden diese locker mit Myzel umwickelt. Die Hyphen wachsen weiter auf der Oberfläche der Nadeln und verflechten sich immer mehr. Besonders im Bereich der Stomata kommt es zu einer Anhäufung von Hyphen, welche als dicke Myzelknäuel in Erscheinung treten. Gäumann et al. (1934) vermuten, dass die aus den Stomata

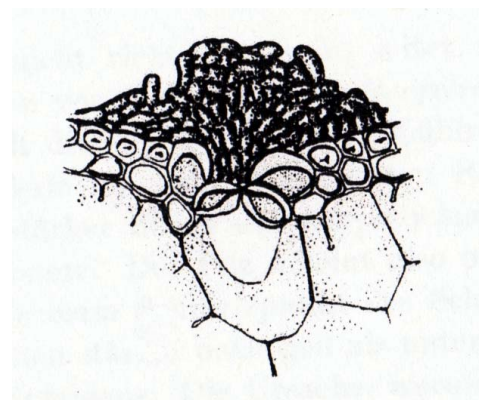


Abbildung 7: Schnitt durch eine von *H. juniperi* befallene Spaltöffnung (Gäumann et al., 1934)

ausgestoßenen Gase das intensive Wachstum der Hyphen in diesem Bereich fördert. Die Anordnung dieser Knäuel erscheinen als regelmäßig angeordnete, schwarze Punkte auf den Nadeln (Raimann, 1890). Von diesen Knäueln ausgehend dringen Hyphen in die Vorhöfe der Spaltöffnungen ein (Abb. 7), wobei bereits benachbarte Zellen absterben können. Bis zu diesem Zeitpunkt lebt der Pilz vorwiegend saprophytisch. Es wird vermutet, dass er seine Nahrung in dieser Entwicklungsphase hauptsächlich über Blattlaussekrete, welche häufig auf den Nadeloberflächen vorzufinden sind, aufnimmt (Gäumann et al., 1934).

Weiters konnte beobachtet werden, dass *H. juniperi* Haustorien ausbildet. Dabei dringt der Parasit auf der Suche nach Nährstoffen mit einem spezialisierten Saugorgan in die Epidermiszellen ein. Dieser Prozess kennzeichnet die ektoparasitische Entwicklungsphase des Pilzes (Gäumann et al., 1934).

Weder während der saprophytischen noch in der ektoparasitischen Phase werden die Nadeln dermaßen geschädigt, dass es zu einem Absterben dieser kommt. Lediglich die von Haustorien befallenen Epidermiszellen weisen eine bräunliche Zellverfärbung auf (Gäumann et al., 1934).

Die darauf folgende endoparasitische Phase ist dadurch geprägt, dass die Hyphen in das Nadelinnere vordringen (Butin, 2011). Hartig (1888) konnte eine direkte Infektion von der Nadeloberfläche durch die Epidermiszellen hindurch beobachten. Gäumann et al. (1934) konnten diese Art der Infektion in ihren Versuchen nicht beobachten. Vielmehr ging die Infektion von den Hyphen aus, welche in der ektoparasitischen Phase in die Vorhöfe der Stomata eingewachsen sind. Die Hyphen dringen jedoch nicht durch diese Atemhöhlen hindurch sondern erobern die subepidermalen Zellen, etwas seltener die epidermalen Zellen. Gäumann et al. (1934) konnten nur bei stark erkrankten Nadeln feststellen, dass eine Infektion durch die Atemhöhle hindurch stattfindet. Sobald die Hyphen in das Wirtsgewebe eingedrungen sind, wachsen sie in die Faszikel ein (Abb. 8). Gäumann et al. (1934) konnten eine starke Reaktion des Wirtsgewebes auf die eindringenden Hyphen beobachten: Es kommt im Bereich der Hyphenspitzen zu einer Entfärbung der Chloroplasten und zu einer Bräunung der Zellmembran. Diese heftigen Reaktionen auf das systemische Ausbreiten von *H. juniperi* führen, so Butin (2011) zum Absterben der infizierten Nadeln.

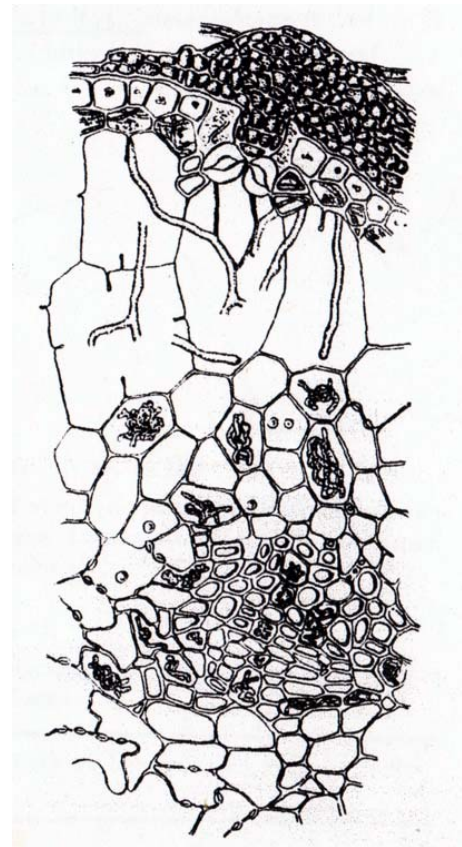


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Infektion der Leitbündel über subepidermale Zellen (Gäumann et al. 1934)

Es kommt jedoch nicht sofort zur Bildung von Fruchtkörpern. *H. juniperi* benötigt ein zweites Entwicklungsjahr um Fruchtkörper auszubilden. Auch in diesem Jahr ist es notwendig, dass der Pilz geeignete Bedingungen unter der Schneedecke vorfindet, um Fruchtkörper in der Form von Pseudothecien zu bilden (Simms, 1967).

Bei genauer Betrachtung der Fruchtkörper fällt auf, dass sie oft linear auf den Nadeln angeordnet sind (Abb. 9). Dies veranlasste Simms (1967) zu der Annahme, dass es in den ebenfalls linear angeordneten Stomata zu einer Verschmelzung der Hyphen und zur Karyogamie innerhalb der stomatären Vorhöfe kommt. Solange die Nadeln an der Wirtspflanze haften, bleiben die Pseudothecien, welche lange Zeit als eine

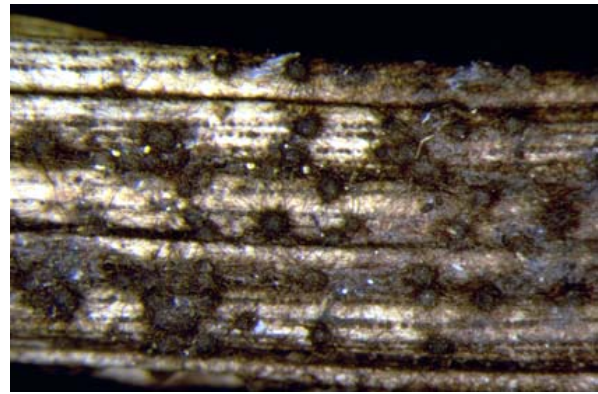


Abbildung 9: Lineare Anordnung der Pseudothecien auf Nadeln (Wasern et al., 2002)

morphologische Form der Perithezien angesehen wurden, unreif. Simms (1967) vermutet, dass die Hyphen von *H. juniperi* durch die Aufnahme von Nährstoffen Prozesse in der Pflanze auslösen, die zu einer Abtrennung der befallenen Nadeln führen. Eine weitere Erklärung für den Abwurf infizierter Blattorgane ist, dass neben der Blattzerstörung auch Licht- und Luftmangel Auslöser sein könnten (Nierhaus-Wunderwald, 1996). Erst nach Abwurf der von Myzel umwickelten Nadelbüschel kommt es am Boden zur Reife der Pseudothecien. Der Reifegrad der Fruchtkörper kann durch eine makroskopische, exogene Beobachtung nicht festgestellt werden. Für genaue Diagnosen ist es notwendig den Fruchtkörper zu öffnen. Simms (1967) konnte auf diese Weise den Reifezeitpunkt von *H. juniperi* auf Fichte in Boulder County (Colorado, USA) im Jahr 1965 bestimmen: Während am 26. Juli nur die Hälfte der Pseudothecien als reif angesprochen wurden, waren am 9. August alle beobachteten Fruchtkörper reif. Laut meinem Wissen ist dies die einzige Untersuchung zum Reifezeitpunkt der Ascocarpien von *H. juniperi*. Es ist daher fraglich, ob es saisonale oder regionale Unterschiede in der Reifegeschwindigkeit gibt und welche Faktoren diese beeinflussen.

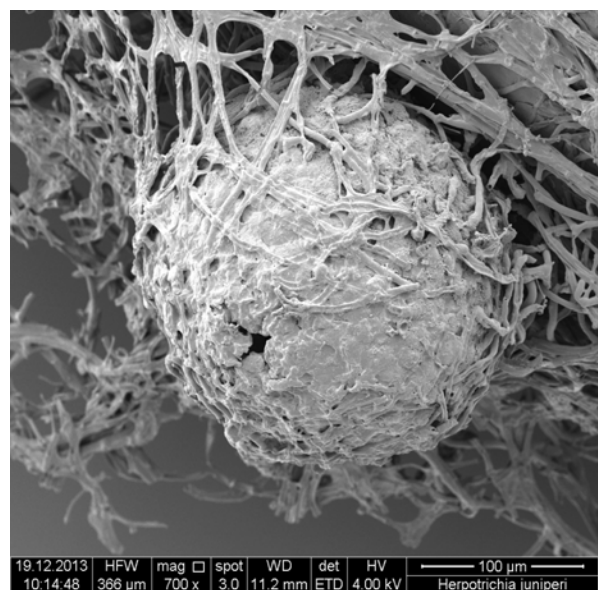


Abbildung 10: Pseudothecium von *H. juniperi* eingebettet in Myzel (Foto: Karr U., Boku Wien)

Die Pseudothecien von *H. juniperi* (Abb. 10) sind kugelförmig und befinden sich meist oberflächlich auf abgestorbenen

Nadeln. Auf *J. communis* findet man die Fruchtkörper oft eingesenkt in die Epidermis (Butin, 2011). Bezüglich der Größe der Ascocarpien gibt es in der Literatur zum Teil sehr unterschiedliche Angaben wie Tabelle 2 veranschaulicht.

Tabelle 2: Maße der Pseudothecien von *H. juniperi*

Autoren	Durchmesser des Pseudotheciums
Bose (1961)	200 bis 300 µm
Ellis & Ellis (1985)	200 bis 500 µm
Sivanesan (1984)	bis 450 µm
Nierhaus-Wunderwald (1996)	200 bis 500 µm
Butin (2011)	240 bis 360 µm

Die Pseudothecien von *H. juniperi* besitzen im Verhältnis zu ihrer Größe relativ dicke Wände von 20 bis 40 µm (Abb. 11). Diese bestehen aus dünnwandigen Zellen von 2 bis 12 µm. Die innenliegenden Zellen sind in der Regel länglich und hyalin während die äußeren dicker, dunkler und von vielen langen, braunen, septierten Hyphen umgeben sind, welche manchmal miteinander verwachsen (Bose, 1961).

Im Inneren der Pseudothecien werden 75-115 x 12-16 µm große Asci gebildet (Abb. 3/e). Diese Schläuche sind zylindrisch, an der Basis kurz gestielt und besitzen eine doppelte Membran, welche sich zum Ende hin verdickt (Bose, 1961).

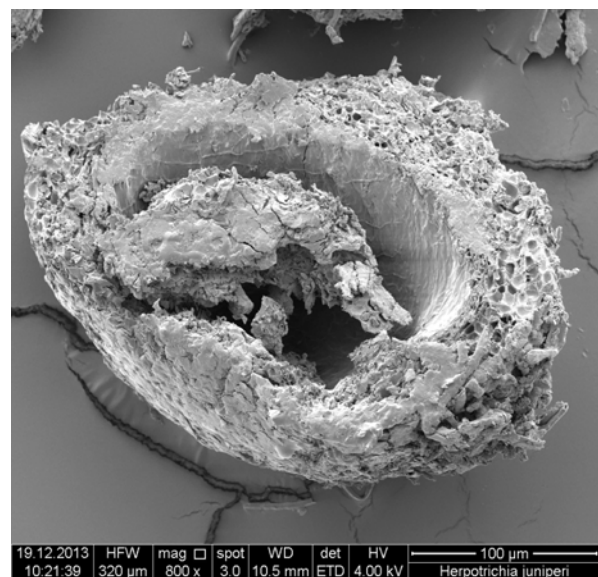


Abbildung 11: Aufgebrochenes Pseudothecium, aufgenommen im Rasterelektronenmikroskop (Foto: Karr U., Boku Wien)

Die bitunicaten Asci von *H. juniperi* bestehen aus einem Exo- und einem Endoascus. Bei der Sporenreife bleibt der Exoascus in der Länge unverändert während der Endoascus den Exoascus durchbricht und sich anschließend weiter ausdehnt (Dörfelt, 1989). Im Anschluss werden die in den Schläuchen gebildeten, reifen Ascosporen über eine präformierte Öffnung, dem Ostiolum (Abb. 10 & 12), entlassen.

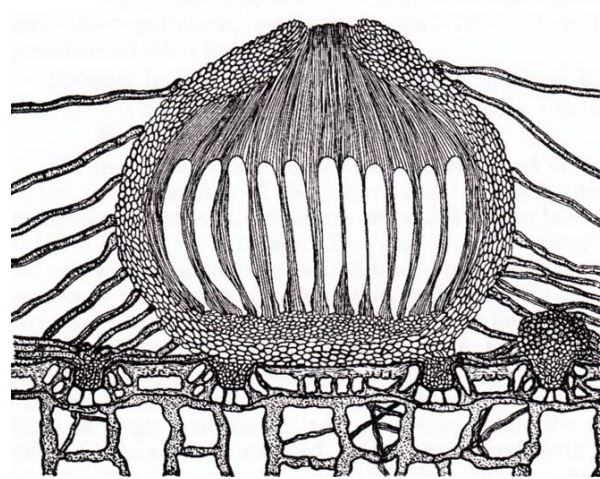


Abbildung 12: Schnitt durch ein Pseudothecium von *H. juniperi*. Gut erkennbar ist die Anordnung der Asci und deren Einbettung in die Paraphysen (Bose, 1961)

Die Asci sind umgeben von zahlreichen fadenförmigen, hyalinen Paraphysoiden, die vor der Reife des Fruchtkörpers meist an beiden Enden mit diesem verwachsen sind. Später löst sich die Verbindung an der Spitze der Paraphysoide (Bose, 1961).

In den Schläuchen werden in der Regel meist 8 Ascosporen (Abb. 13) gebildet. Diese sind anfangs zweizellig, hyalin und umgeben von einer Schleimhülle (Abb. 14/A). Später weisen die Asci 3 Septen auf und werden mit zunehmendem Reifegrad immer bräunlicher und verlieren ihre Schleimhülle (Bose, 1961). Butin (2011) berichtet sogar, dass bis zu sechszellige Ascosporen von *H. juniperi* gebildet werden können. Sowohl bei den unreifen als auch bei den reifen Sporen kann eine deutliche Einschnürung im Bereich der Septen beobachtet werden (Abb. 13). Die Ascosporen sind längsgestreckt oder leicht gekrümmt.

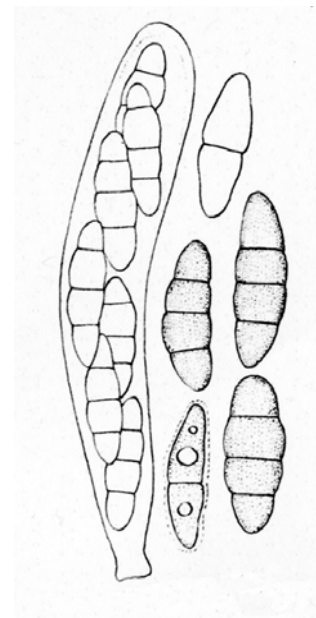


Abbildung 13: Ascosporen unterschiedlicher Formen und Reifestadien (Ellis & Ellis, 1985)

Bazzigher (1976) fand während der gesamten Vegetationszeit Ascosporen unterschiedlichster Reifestadien vor. Er schließt daraus, dass während der gesamten schneefreien Zeit Sporen ausgeschleudert werden und es dadurch permanent zur Übertragung dieser auf neue Wirtspflanzen kommen kann. Zur Verbreitung dient vor allem der Wind (Nierhaus-Wunderwald, 1996). Da vor allem hyaline Sporen (Abb. 14/B) ausgeschleudert werden, geht Bazzigher (1976) davon aus, dass in diesen Fällen eine

„Nachreifung“ außerhalb der Asci stattfindet. Ähnlich wie die Hyphen nehmen auch die Meiosporen eine braune Farbe an und werden dickwandig (Abb. 14/C), wodurch sie vor ungünstigen Umweltbedingungen geschützt werden.

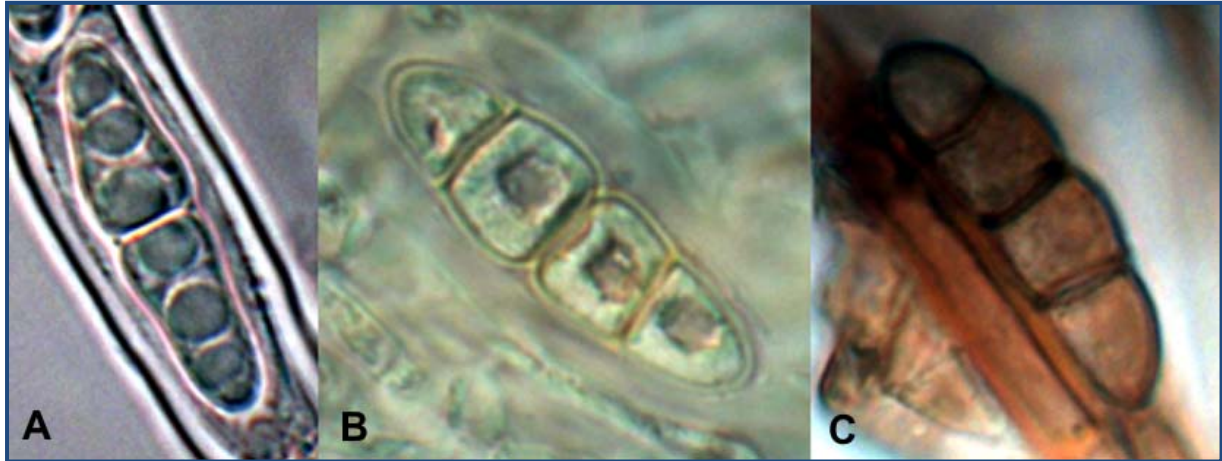


Abbildung 14: Ascosporen unterschiedlicher Reifegrade: 2-zellige, hyaline, unreife Spore in einem Ascus (A); 4-zellige, hyaline, reife Spore (B); dickwandige, reife, bräunliche Dauerform-Spore (C)

Erst bei Eintritt geeigneter Bedingungen beginnen die Sporen zu keimen. Ein wesentlicher Faktor für die Keimung scheint die Temperatur zu sein (Abb. 15). *H. juniperi* vermag zwar unter dem Gefrierpunkt zu wachsen, die Ascosporen benötigen aber Temperaturen über 0°C um zu keimen. Geeignete Keimbedingungen finden die Sporen des Pilzes, ähnlich dem Wachstumsoptimum seiner Hyphen, zwischen Temperaturen von 15°C und 20°C vor. Unter diesen Temperaturen keimen nach 3 Stunden knapp 50% der Sporen aus. Über 30°C scheinen die Ascosporen von *H. juniperi* jedoch nicht mehr keimen zu können (Lazarević, 2003). Auf Grund der Ergebnisse aus Abb. 15 ist anzunehmen, dass neben dem

Hyphenwachstum wohl auch die Keimung nur unter einer ausreichend dicken Schneedecke möglich ist: Während der Vegetationsperiode würden die frisch gekeimten, hyalinen Hyphen nicht ausreichend vor dem Sonnenlicht geschützt sein und ohne der isolierenden Schneedecke würde es im Winter meist zu kalt sein. Ob es, ähnlich wie beim Wachstum der

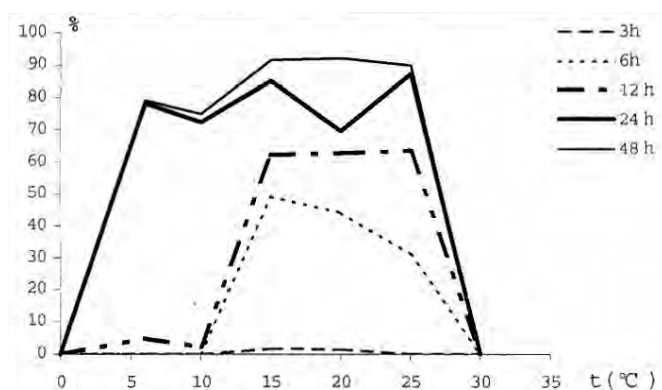


Abbildung 15: Einfluss der Temperatur auf das Keimverhalten der Ascosporen bei unterschiedlich langer Einwirkungszeit (Lazarević, 2003)

Hyphen, einen Zusammenhang zwischen der Luftfeuchtigkeit und der Keimfähigkeit gibt, wurde meines Wissens bisher nicht untersucht.

Neben der Verbreitung des Pilzes durch Ascosporen stellt die Infektion über Myzelteile eine weitere Infektionsquelle dar (Abb. 3/c, h). Bereits Raimann (1890) schrieb, dass Pflanzen, welche mit Schnee bedeckt sind und von dessen Last zu Boden gedrückt werden, besonderer Infektionsgefahr ausgesetzt sind. Simms (1967) konnte beobachten, dass die Nadelstreu unter Bäumen meist sehr stark von Myzelien und Ascosporen von *H. juniperi* befallen ist. Infizierte Nadelstreu, vermutlich über den Wind verbreitet, konnte auch unter nicht befallenen Bäumen beobachtet werden. Werden nun gesunde Zweige einer Wirtsbaumart durch den Schneedruck auf die Bodenoberfläche gedrückt, ist es sehr wahrscheinlich, dass diese befallen werden. Vor allem in höher gelegenen Forstgärten und Baumschulen dürften junge Fichten auf diese Weise erkranken (Simms, 1967).

Diese Theorie belegt zwar Neuinfektionen im Bereich der untersten Äste, kann aber einen Neubefall höherer Äste nicht erklären. Hierzu lieferte Simms (1967) einen Erklärungsversuch: Er konnte beobachten, dass Nadeln und Zweige vermehrt auf Schneebänken unter Bäumen abgelagert werden. Mit Einsetzen der Schneeschmelze lagern sich die angesammelten, mit Myzel und Sporen übersäten Nadeln und Zweige auf den Ästen der Wirtspflanze ab und bleiben an den Zweigen dieser hängen. Simms (1967) konnte weiters beobachten, dass kurz darauf die angrenzenden, unbefallenen Nadeln der Wirtspflanze von einem dunkelgrauen Myzel besiedelt werden. Diese Hypothese erklärt nicht nur Infektionen höher wachsender Äste, sondern auch die jährlichen Schwankungen der Höhe der Neuinfektionen an Bäumen, welche stark mit der Schneehöhe zusammenhängen (Simms, 1967).

Neben der Verbreitung des Pilzmyzels durch den Wind betrachten Schneider et al. (2009) eine Übertragung von infiziertem Material durch vertikale Schneebewegungen ebenfalls als wahrscheinlich. Voraussetzung für das Schneegleiten sind ein ausreichend steiles Gefälle von mehr als 15°, geeignete Temperaturen in der Grenzschicht von über 0°C sowie eine ausreichende Schneehöhe. Schneider et al. (2009) konnten keine genetisch identen Individuen entlang eines vertikalen Transsektes finden wodurch sie ihre These nicht beweisen konnten. Dennoch schließen sie eine Verbreitung des Pilzes auf diese Weise nicht aus.

Neuinfektionen von *H. juniperi* an Wirtspflanzen müssen nicht sofort makroskopisch feststellbar sein: Cunningham et al. (2006) konnten beobachten, dass inokulierte Fichtenjungpflanzen ohne makroskopische Anzeichen von Symptomen ein deutlich geringeres Wachstum aufweisen als nichtinokulierte Pflanzen. Sie vermuten, dass bisher noch unbekannte, chemisch herbeigeführte Prozesse oder eine latente Infektion diese Wachstumshemmung verursacht haben könnten. Eine Verzögerung der Ausbildung makroskopischer Symptome (= latente Infektion) wurde bei *H. juniperi* bisher noch nicht beschrieben, wurde aber bei anderen Pilzen wie *Gremmeniella abietina* und *Heterobasidion parviporum* bereits beobachtet (Cunningham et al., 2006).

1.5 Anamorphes Stadium von *Herpotrichia juniperi*

Das Anamorph von *Herpotrichia juniperi* wurde erstmals von Bose (1961) beschrieben. Er konnte das asexuelle Stadium auf älteren Kulturen auf Malzextrakt-Agar beobachten. In den Petrischalen bilden sich runde bis birnenförmige Pyknidien mit einem Durchmesser von 80 bis 200 µm. Die Fruchtkörper werden auf der Oberfläche des Pilzmyzels gebildet und sind umgeben von kurzen, hellbraunen Anhängseln. Die Pyknidienwand besteht aus 2 bis 3 Lagen vielgestaltiger Zellen, welche einen Durchmesser von 4 bis 12 µm

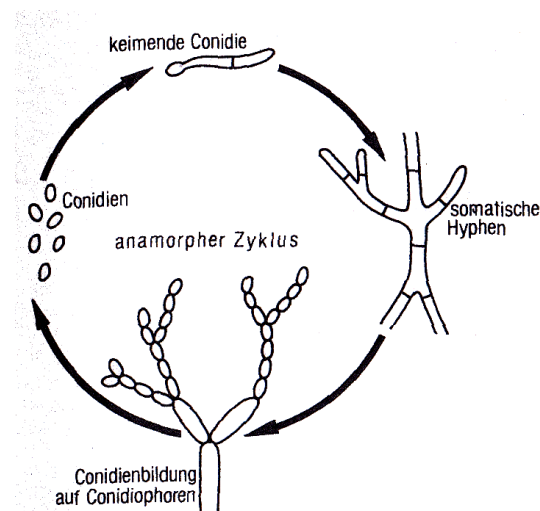


Abbildung 16: Entwicklungszyklus der Anamorphen von Ascomyceten (Dörfelt, 1989).

aufweisen. Mit der Bildung der Pyknidien beginnt die Bildung der asexuellen Verbreitungsorgane (Abb. 16). Die innere Oberfläche des Pyknidiums ist mit verzweigten und unverzweigten, 4-10 x 1,5-2 µm großen Konidiophoren bedeckt (Bose, 1961). Sie stellen funktionelle, somatische Hyphen dar, die sich von normalen Hyphen morphologisch deutlich unterscheiden. Auf den Konidiophoren werden die Konidien gebildet. Dieser Prozess läuft grundsätzlich in 4 Teilschritten ab: Der Formierung, der Abgrenzung, der Reifung und schlussendlich der Abtrennung. Im letzten Prozessschritt kommt es zur Trennung der Sporen von den Konidiophoren. Die Pyknosporen verlassen daraufhin den Fruchtkörper über eine präformierte Öffnung, dem Ostiolum (Dörfelt, 1989). Ob die 1,5-2,5 x 1-2 µm großen,

hyalinen, einzelligen Pykno-sporen von *H. juniperi* (Bose, 1961) nur eine Befruchtungsfunktion besitzen oder auch eine Bedeutung bei der Verbreitung von *H. juniperi* haben ist noch weitgehend ungeklärt, zumal die Bildung des anamorphen Stadiums des Pilzes bisher nur in Kulturen beobachtet werden konnte.

Bose (1961) konnte das anamorphe Stadium von *H. juniperi* der Gattung *Pyrenochaeta* de Notaris zuordnen. Er konnte in weiteren Kulturversuchen die Anamorphe weiterer 3 Arten (*Neopeckia coulteri*, *Herpotrichia diffusa* und *Herpotrichia parasitica*) beschreiben, welche ebenfalls der Gattung *Pyrenochaeta* angehören. Ein paar Jahre später fanden Samuels & Müller (1978) *Pyrenochaeta*-Formen an weiteren 3 Arten der Gattung *Herpotrichia* (*H. villosa*, *H. schiedermayeriana* und *H. rhodosticta*). Freyer & van der Aa (1975) beschrieben die Konidienform von *H. parasitica* als eigene Art: *Pyrenochaeta parasitica*.

Neben Pykno-sporen bildet der Pilz in Kultur auch Chlamydosporen aus: Bose (1961) konnte auf Malzextrakt-Agar-Petrischalen zahlreiche interkalar oder terminal gebildete Chlamydosporen beobachten. Letztere besitzen eine sporenähnliche Form, variieren jedoch stark in ihrer Größe (Bose, 1961). Chlamydosporen dienen hauptsächlich der Überdauerung. Sie werden aus Hyphenabschnitten gebildet, welche durch Nährstoffeinlagerung anschwellen und dickwandig werden (Dörfelt, 1989).

1.6 Abgrenzung zu morphologisch ähnlichen Pilzen

Neopeckia coulteri weist beinahe dieselben Symptome auf wie *Herpotrichia juniperi*. Da diese beiden Pilze anhand makroskopischer Merkmale nur sehr schwer voneinander zu unterscheiden sind, gab es lange Zeit Zweifel unter den Mykologen, ob beide Pilze tatsächlich zwei unterschiedliche Arten darstellen (Weir, 1915). Auf Grund der großen Ähnlichkeit wurde *N. coulteri* noch bis vor wenigen Jahren unter der Gattung *Herpotrichia* geführt. Schon früh versuchte man beide Arten anhand des Myzels zu unterscheiden:

Gäumann et al. (1934) beschreiben das Myzel von *N. coulteri* als einen „kompakten, seidenartigen, glatten Überzug“ während *H. juniperi* die Pflanzenteile locker mit Hyphen umspinnt. Weiters weisen Myzelien von *N. coulteri* eine hellere Farbe auf (Weir, 1915). Beide Autoren kommen jedoch zum Schluss, dass diese Unterscheidungsmerkmale nur

bedingt geeignet sind, um zwischen den Arten zu unterscheiden zumal beide Arten bezüglich dieser Merkmale sehr stark variieren können. Für eine eindeutige Abgrenzung dieser beiden Arten ist es daher notwendig, mikroskopische Merkmale heranzuziehen:

Gäumann et al. (1934) berichten, dass die Hyphen von *N. coulteri* im Vergleich zu jenen von *H. juniperi* deutlich mehr Anastomosen aufweisen. Die Einzelzellen einer Hyphe von *N. coulteri* sind deutlich länger und weisen einen geringeren Durchmesser auf als jene von *H. juniperi*. Während die Hyphen von *H. juniperi* nach der Besiedelung der stomatären Vorhöfe in tiefer gelegene Gewebe einwachsen (siehe Kapitel 1.4), weist *N. coulteri* keine derartige endoparasitische Lebensweise auf (Gäumann et al., 1934). Untersuchungen von Bazzigher (1976) zeigten jedoch, dass eine derartige mikroskopische Betrachtung des Myzels alleine zu ungenau für eine eindeutige Abgrenzung der beiden Arten ist.

Eine weitere, sicherere Methode zur Unterscheidung beider Schneeschimmelpilze stellt die Analyse der Ascosporen dar. Die reifen Sporen von *H. juniperi* sind in der Regel 4-zellig während *N. coulteri* 2-zellige Ascosporen bildet (Weir, 1915). Die Fortpflanzungseinheiten beider Pilze unterscheiden sich in ihrer Größe hingegen nur wenig: Die Sporen von *N. coulteri* scheinen in der Regel etwas kürzer zu sein als jene von *H. juniperi* (Bazzigher, 1976). Die Ascosporen-

größe eignet sich auf Grund der großen Variabilität der Sporen somit nicht zur Differenzierung beider Arten, wogegen die Sporenfärbung sehr wohl Hinweise auf die jeweilige Art liefert: Während die reifen Ascosporen von *N. coulteri* stets dunkelbraun gefärbt sind, können reife Sporen von *H. juniperi* sowohl hyalin als auch schwach bräunlich gefärbt sein. Bräunliche Dauerform-Sporen von *H. juniperi* sind meist etwas länger und breiter als die reifen, hyalinen Sporen (Bazzigher, 1976).

Eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit ergibt sich bei der Betrachtung des Wirtskreises. Die Verbreitung von *Neopeckia coulteri* beschränkt sich auf die Gattung *Pinus*. Es ist somit (fast) auszuschließen, dass dieser Pilz als Krankheitserreger auf anderen

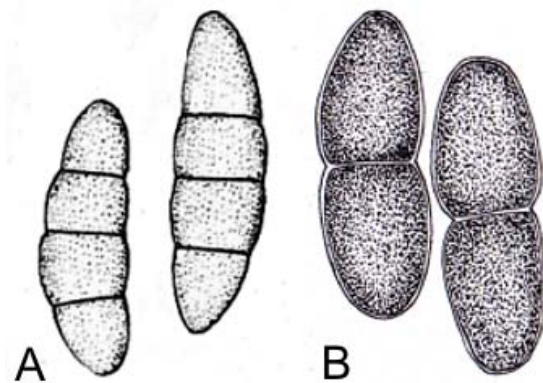


Abbildung 17: A: Reife Ascosporen von *H. juniperi* (Ellis & Ellis, 1985); B: Ascosporen von *N. coulteri* (Müller et al., 1962)

Gattungen vorkommt. *H. juniperi* weist hingegen ein breites Wirtsspektrum auf und tritt in Mitteleuropa an beinahe allen heimischen Koniferen, und somit auch auf *Pinus*-Arten auf (Bazzigher, 1976).

Weiters beobachtete Bazzigher (1976), dass *N. coulteri* im Alpenraum vor allem in Gebirgsregionen über 1.900 m Seehöhe anzutreffen ist während *H. juniperi* ein weiteres Verbreitungsgebiet aufweist (Abb. 18): Dieses reicht von etwa 1.400 bis über 2.000 m Seehöhe. Bazzigher (1976) berichtet, dass *H. juniperi* sogar auf 400 m Seehöhe nachgewiesen werden konnte.

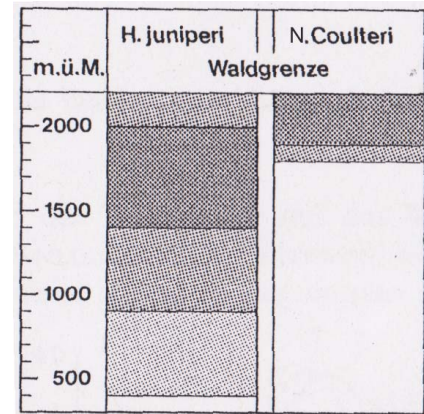


Abbildung 18: Höhenverbreitung von *H. juniperi* und *N. coulteri*. Je dichter die Rasterpunkte desto häufiger und virulenter tritt der Pilz in Erscheinung (verändert nach Bazzigher, 1976)

Vor allem bei der Bestimmung von Herbarmaterial, das oft keine Fruchtkörper mit Ascosporen aufweist, oder frisch befallenen Bäumen (Anm.: Die Fruchtkörper von *H. juniperi* werden erst im zweiten Entwicklungsjahr gebildet) ist es daher oft nicht möglich, zwischen den beiden Arten anhand der oben beschriebenen Methoden eindeutig zu differenzieren.

Bazzigher (1976) konnte jedoch in Wachstumsversuchen zeigen, dass *N. coulteri* in Kultur auf Malxextraktagar bei Temperaturen zwischen 5 und 15 °C ein deutlich geringeres Wachstum aufweist als Isolate von *H. juniperi*. Die Versuche zeigten außerdem, dass das Wachstumsoptimum von *N. coulteri* in Kultur bei etwa 10°C, und somit etwa 5°C unter jenem von *H. juniperi*, liegt.

1.7 Vorbeugung und Bekämpfung

Eine epidemieartige Ausbreitung des „Schwarzen Schneesimmels“ zu verhindern oder einzudämmen ist besonders in Gebieten, in denen der Wald eine Funktion als Standorts- oder Objektschutzwald zu erfüllen hat, von besonderer Bedeutung. Gerade in höheren, oft schwer zugänglichen Lagen ist die Prophylaxe bzw. die Bekämpfung der Schneesimmelpilze auf Grund der schlechten Zugänglichkeit der Flächen jedoch oft sehr zeitintensiv. Zudem kommt, dass sich das Hauptverbreitungsgebiet von *Herpotrichia juniperi* auf höhere Lagen beschränkt, wo ein geringes Höhenwachstum der Pflanzen bei gleichzeitig

hohen Schneeeauflagen zu erwarten ist. Diese Konstellation bedingt, dass die jeweiligen prophylaktischen und kurativen Maßnahmen oft über mehrere Jahre hinweg anzuwenden sind. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, sich schon vor Aufforstungsmaßnahmen Gedanken über geeignete Pflanzstandorte zu machen. Die Wahl geeigneter Standorte ist deshalb so wichtig, da neben der geringeren Disposition gegen Pilzerkrankungen auch die Ansteckungsgefahr vermindert wird.

Bei der Wahl der Kleinstandorte kann man sich Topographiekarten mit einem Maßstab von mindestens 1:2.000 bedienen. Die darauf abgebildete Geländegliederung stellt die Basis zur Auswahl geeigneter Pflanzstandorte dar. Auf diesen Karten sind sowohl ungünstige als auch geeignete Kleinstandorte auszuscheiden. Günstige Standorte bilden meist Geländeerhebungen, Rippen, Vorsprünge und Hangkanten, da in diesen Bereichen mit wenig Schneemassen, wenig Schneebewegung und einer lockeren Vegetation gerechnet werden kann. Ungünstige Standorte stellen schneereiche, spät ausapernde Stellen, Bereiche mit starker Schneebewegung, dichter Vegetation sowie stark bewindete, kühle und vernässte Standorte dar. Unterstützend zu den Topographiekarten können auch Vegetationskarten zur Standortsbeurteilung herangezogen werden. Anhand der Pflanzengesellschaften können Rückschlüsse auf die vorherrschenden kleinflächigen Bedingungen geschlossen werden. Ein weiteres Hilfsmittel stellen Ausaperungskartierungen dar. In ihnen werden Stellen mit langer Schneebedeckung protokolliert. Die zuletzt ausapernden Stellen sind in der Regel als problematisch zu beurteilen (Schönenberger et al., 1990)

Diese Vorarbeiten stellen die Basis der Feinausscheidung der Aufforstungsplätze im Gelände dar: Vor Ort werden innerhalb der zuvor als günstig ausgeschiedenen Standorte wiederum die bestgeeignetsten Kleinstandorte für die Pflanzung ausgeschieden. Hierbei wird auf noch feinere Geländeunterschiede, wie Baumstöcke und Steine, Rücksicht genommen (Schönenberger et al., 1990).

Häufig wurde den standörtlichen Unterschieden in der Vergangenheit zu wenig Aufmerksamkeit gewidmet. In diesen Fällen kann es notwendig sein, geeignete Bekämpfungsstrategien anzuwenden:

Um eine Weiterverbreitung des Pathogens einzudämmen, kann infiziertes Material während der ganzen Vegetationsperiode abgeschnitten und anschließend verbrannt werden (Nierhaus-Wunderwald, 1996). Diese Maßnahme erfordert jedoch eine ausreichende

Begehrbarkeit der Flächen und ist sehr zeitintensiv. Es besteht die Gefahr, dass befallene Pflanzenteile übersehen werden, wodurch der Erfolg dieser kurativen Maßnahme geschmälert wird. Des Weiteren liegt noch wenig Erfahrung über die Wirksamkeit dieser Bekämpfungsart vor (Schönenberger et al., 1990).

Eine weitere Möglichkeit zur Bekämpfung von *H. juniperi* stellt der Einsatz von Fungiziden dar. Eine erfolgreiche Bekämpfung von bereits etabliertem Schneeschimmelbefall ist jedoch nur in Ausnahmefällen möglich, da sich die älteren, dickwandigen Hyphen als äußerst resistent gegenüber Fungiziden erweisen. Eine chemische Behandlung ist daher eher als prophylaktische Maßnahme anzusehen, die eine Ausbreitung der Krankheit verhindern soll. Die Wirkung von Fungiziden bei bereits von *H. juniperi* befallenen Pflanzen ist als gering einzustufen. Zudem umspinnen die Hyphen ganze Nadelbüschel mit Myzel, sodass eine oberflächliche Benetzung mit dem Bekämpfungsmittel die inneren Hyphen kaum beeinträchtigt (Bazzigher, 1976).

Vor allem bei der Produktion von Containerpflanzen in Gewächshäusern finden Pilze auf Grund der intensiven Bewässerung und Düngung ideale Verbreitungsbedingungen vor. In Baumschulen und Forstgärten ist daher der Einsatz von Fungiziden vielfach Stand der Technik (Lilja et al., 2010).

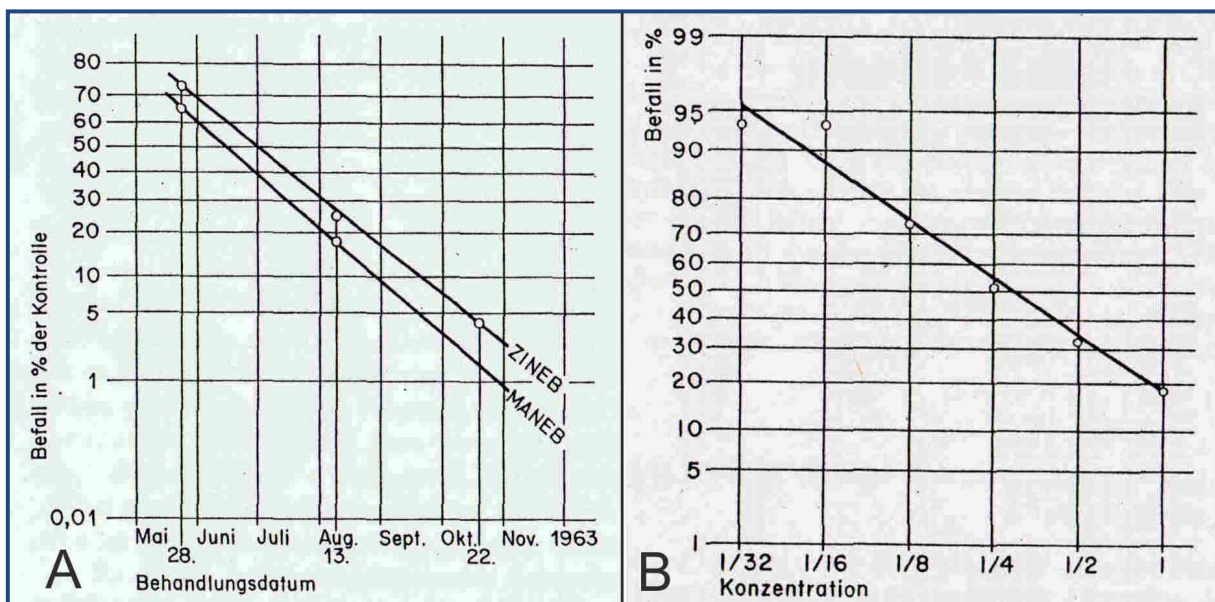


Abbildung 19: Wirksamkeit zweier Fungizide (Zineb, Maneb) auf Schneeschimmelbefall von Fichtenpflanzen bei 5 %iger Konzentration in Abhängigkeit vom Behandlungsdatum (A); Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen (I= 5 %) von ZINEB auf den Befall von Fichtenpflanzen (B) (Bazzigher, 1976)

Bazzigher (1976) überprüfte die Wirksamkeit mehrerer Fungizide. Er konnte zeigen, dass der Erfolg einer Fungizidbehandlung wesentlich vom Anwendungszeitpunkt abhängt (Abb. 19 A). Während im Frühjahr nach der Schneeschmelze nur eine geringe Wirkung der chemischen Behandlung erkennbar ist, kann eine Fungizidausbringung im Herbst gute Ergebnisse erzielen. Neben dem Behandlungszeitpunkt spielt die richtige Konzentration der Fungizide eine weitere bedeutende Rolle bei der Bekämpfung von *H. juniperi* (Abb. 19 B). Bazzigher (1976) fand heraus, dass für eine erfolversprechende Anwendung eine entsprechend hohe Konzentration (bei Zineb etwa 5%) erforderlich ist.

Die oben beschriebenen Ergebnisse von Bazzigher (1976) zeigen, dass eine hochkonzentrierte Ausbringung von Fungiziden im Herbst am wirkungsvollsten ist. Je weiter die Behandlung zum Winter hin verzögert werden kann, desto höher ist der Behandlungserfolg. Man sollte jedoch nicht zu lange zuwarten, da vorzeitige Wintereinbrüche auf Grund der Schneelage eine Behandlung unmöglich machen können (Bazzigher, 1976). Ökologisch betrachtet sind langjährige, großflächige Ausbringungen von Fungiziden jedoch als bedenklich einzustufen. Vor allem hohe Konzentrationen könnten das Ökosystem nachhaltig beeinträchtigen. Vor der Ausbringung ist jeweils die aktuelle Liste der AGES, welche die in Österreich zugelassenen Pflanzenschutzmittel enthält, zu prüfen.

1.8 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Anlass für die vorliegende Arbeit ist die Beschreibung zweier morphologisch unterscheidbarer Gruppen von *H. juniperi* durch Butin (2011). Er beschreibt, dass der Pilz in höheren Lagen vorwiegend vierzellige Ascosporen ausbildet während in tieferen Lagen vor allem fünfzellige Sporen anzutreffen sind. Die fünfzelligen Sporen der „Mittelgebirgsform“ sind 26-32 x 6-7 µm groß und somit länger und schmaler als die in höheren Lagen vorkommenden, vierzelligen Sporen der „Subalpinen Form“ (Abb. 20). Butin (2011) vermutete, dass zwischen diesen beiden Gruppen neben morphologischen Unterschieden (Ascosporengröße) möglicherweise auch Unterschiede in den physiologischen

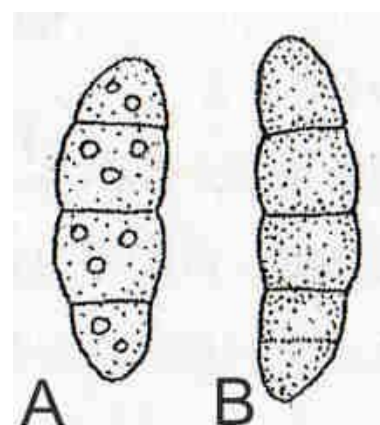


Abbildung 20: Reife Ascosporen der „Subalpinen Form“ (A) und der „Mittelgebirgsform“ (B) (Butin, 2011)

Eigenschaften bestehen. Das primäre Ziel dieser Arbeit war es, anhand von Wachstumstests zu prüfen, ob sich das Wachstum beider Gruppen bei unterschiedlichen Temperaturen voneinander unterscheidet.

Wie bereits in Kapitel 1.2 erwähnt, konnte Bazzigher (1976) in Wachstumsversuchen auf Malzextraktagar zeigen, dass *Herpotrichia*-Isolate von *Juniperus communis* im Temperaturbereich zwischen 5 und 20°C ein deutlich geringeres Wachstum aufweisen als jene von *Picea abies* und *Pinus mugo*. Schneider et al. (2009) konnten wiederum mit Hilfe von molekularbiologischer Methoden an *Picea abies* eine eigene kryptische Art von *H. juniperi* nachweisen. Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte im Zuge dieser Arbeit anhand von Wachstumsversuchen zudem festgestellt werden, ob sich das Wachstum der Isolate von den oben genannten Wirtsbaumarten bei verschiedenen Temperaturstufen unterscheidet.

2 Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden Proben aus dem institutseigenem Herbar aus Österreich und Deutschland herangezogen. Diese wurden bereits vor Beginn der Arbeit morphologisch untersucht und konnten allesamt der Spezies *Herpotrichia juniperi* zugeordnet werden. Von einigen Proben existierten bereits Bilder reifer Ascosporen, anhand derer eine Zuordnung in eine der 2 Gruppen (Mittelgebirgsform oder Hochgebirgsform) möglich war. Jene Proben, von denen vorab keine Sporenbilder und -messungen vorhanden waren, wurden - soweit möglich - anhand reifer Ascosporen zugeordnet. Dies war jedoch nicht bei allen Proben möglich, da einige Proben keine reifen Sporen aufweisen, sodass diese anhand ihrer vertikalen Verbreitung (Seehöhe des Fundorts) klassifiziert werden mussten.

Tabelle 3: Anzahl der verwendeten Schneeschimmel-Isolate getrennt nach Baumarten und Sporenform

		Baumart		
		<i>Picea abies</i>	<i>Pinus mugo</i>	<i>Juniperus communis</i>
		Anzahl Isolate	Anzahl Isolate	Anzahl Isolate
Sporenform	subalpine Form	26	10	8
	Mittelgebirgsform	14	1	0

Insgesamt wurde der Wachstumsversuch mit 59 unterschiedlichen Isolaten durchgeführt. Davon gehörten 44 Isolate der „subalpinen Form“ und 15 Isolate der „Mittelgebirgsform“ an (Tab. 3). Letztere beschränkten sich auf die Baumarten *Picea abies* (N=14) und *Pinus mugo* (N=1). Die Stichprobe der „subalpine Form“ umfasste 26 Isolate von *Picea abies*, 10 Isolate von *Pinus mugo* und 8 Isolate von *Juniperus communis*.

2.1 Vorbereitung des Wachstumstests

Um die Individuen zu kultivieren wurde für jede Probe eine mit Myzel bedeckte Nadel auf eine Petrischale mit Wasseragar (siehe Anhang) überimpft. Hierbei wurden - wenn möglich - Nadeln ausgewählt, auf denen sich auch Fruchtkörper von *H. juniperi* befanden, um Mischkulturen mit anderen, morphologisch kaum unterscheidbaren Pilzen wie z.B. *Neopeckia coulteri* möglichst auszuschließen. Die Inkubation der Petrischalen erfolgte in Klimaschränken bei einer Temperatur von ca. 1°C. Es zeigte sich, dass derart tiefe Inkubationstemperaturen für eine erfolgreiche Etablierung von *H. juniperi* notwendig sind (Abb. 21). Bei höheren Temperaturen wachsen andere

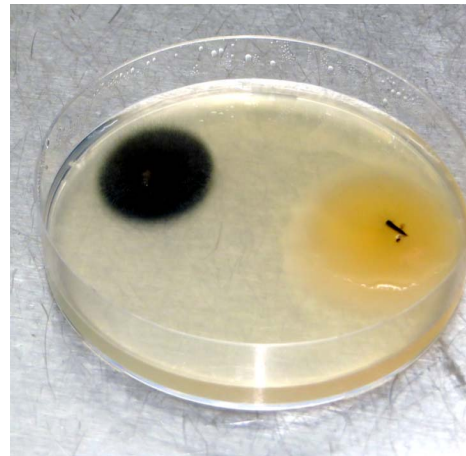


Abbildung 21: Auf Wasseragar aufgelegte, befallene Wacholdernadeln. Links: *H. juniperi* konnte sich erfolgreich etablieren. Rechts: Ein anderer, nadelbesiedelnder Pilz hindert *H. juniperi* am Wachstum

Pilze oft schneller und hindern das Myzel von *H. juniperi* am Wachstum. Nach etwa 2 bis 3 Wochen wurden einzelne, vorausgewachsene Hyphenspitzen mit einem Skalpell unter einem Stereomikroskop abgeschnitten und auf eine Petrischale mit 2%-igem Malzextraktagar (siehe Anhang) überimpft. Dadurch wird sichergestellt, dass die erhaltene Reinkultur immer nur ein Individuum von *H. juniperi* umfasst. Die überimpften Kulturen wuchsen anschließend mehrere Wochen in Klimaschränken bei ca. 5°C an. Anschließend wurden aus dem Randbereich jeder Kultur mit einem Skalpell Inokuli herausgeschnitten und auf weitere Petrischalen mit 2%-igem Malzextraktagar überimpft. Die beimpften Schalen wurden nun zwei Wochen bei einer Temperatur von ca. 20°C gelagert.

2.2 Wachstumstest

Der Wachstumsversuch wurde im Dezember 2013 angelegt. Er sollte Hinweise liefern, ob sich einerseits die Wachstumsgeschwindigkeit der Mittelgebirgsform von jener der subalpinen Form unterscheidet. Andererseits sollte mit Hilfe dieses Versuches getestet werden, ob es Wachstumsunterschiede zwischen Isolaten unterschiedlicher Wirtsbaumarten gibt.

Der Wachstumstest wurde auf Petrischalen mit einem Durchmesser von 90 mm durchgeführt. Als Nährmedium diente 2%-iger Malzextraktagar (siehe Anhang), dem 0,1 g Streptomycinsulfat hinzugegeben wurde, um eine Kontaminationsgefahr durch Bakterien zu verringern. Dazu wurden je 0,1 g dieses Antibakteriums in 10 ml *Aqua deion.* gelöst und diese Menge anschließend mittels Sterilfiltration einem Liter Malzextraktagar hinzugegeben.

Der Wachstumsversuch wurde mit allen Isolaten aus Tab. 3 durchgeführt. Pro Isolat und Temperaturstufe wurden 2 Platten wie folgt angefertigt: Auf dem Boden jeder Petrischale wurden 2 zueinander normal stehende Linien aufgezeichnet, welche sich in der Mitte der Petrischale schneiden (Abb. 22). Als Inokulum für jede dieser Schalen diente jeweils ein mit Myzel bewachsenes Stück Malzextraktagar, welches mit einem Korkbohrer (Durchmesser 4 mm) aus dem Randbereich der Ausgangskultur ausgestantzt wurde. Dieses wurde anschließend mit der myzelbewachsenen Seite nach oben mittig auf dem vorbereiteten Medium platziert.

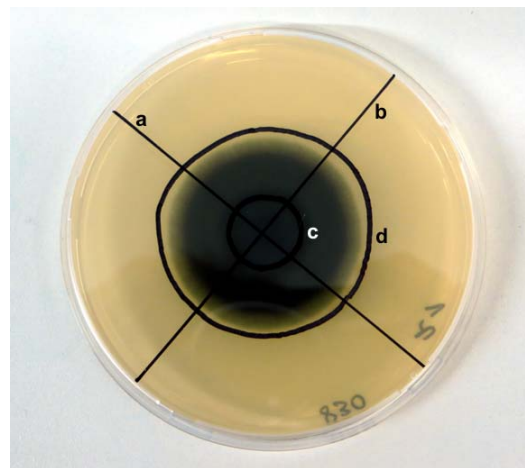


Abbildung 22: Durchführung der Wachstums-messungen: Vor Versuchsbeginn werden zwei orthogonale Linien (a, b) aufgezeichnet. „c“ und „d“ stellen anschließende Wachstums-messungen dar

Die Anwachsphase erfolgte in einem Klimaschrank bei einer Temperatur von ca. 5°C. Während diesem Zeitraum wächst das Myzel von der Oberfläche des Inokulums nach unten und beginnt das Nährmedium der Petrischale zu besiedeln. Dieser Prozess dauerte in etwa 8 Tage. Nachdem alle Isolate auf den frischen Nährmedien angewachsen waren, wurde die Wachstumsfront des Myzels auf der Unterseite jeder Platte gekennzeichnet (Abb. 22 „c“). Für den eigentlichen Wachstumsversuch wurden die Schalen danach bei Dunkelheit und bei Temperaturen von jeweils -3, 1, 5, 9, 13, 17, 21 und 25°C in Klimaschränken inkubiert. Pro Isolat und Temperaturstufe wurden 2 Wiederholungen durchgeführt. Zusätzlich wurden in allen Klimaschränken Datalogger installiert, um die genauen Temperaturverläufe zu dokumentieren. Die Inkubationsdauer in den Klimaschränken dauerte vom 26.12.2013 bis 16.01.2014 und betrug somit 21 Tage. Auf Grund der geringen Wachstumsgeschwindigkeit

der Isolate bei -3 und 25°C wurde der Wachstumsversuch für diese Temperaturstufen um 18 Tage, bis zum 03.02.2014, verlängert.

Vorausgegangene Vorversuche mit *H. juniperi* (nicht publiziert) zeigten, dass sich das tägliche Wachstum der Kultur verringert, sobald eine Agarplatte zu ca. 2/3 mit Myzel bewachsen ist. Aus diesem Grund wurde der Wachstumsversuch gestoppt, bevor ein Großteil der Schalen innerhalb einer Temperaturstufe über diesen kritischen Punkt hinaus wachsen konnte. Dabei wurde die Wachstumsfront des Myzels an der Schalenunterseite ein weiteres Mal mit einem Stift markiert (Abb. 22 „d“). Je Petrischale ergaben sich somit 4 Radial-Messungen, indem die Differenz (Δr) zwischen den beiden Wachstumsfronten (Abb. 22 „c“ & „d“) entlang der radialen Linien gebildet wurde. Mit Hilfe dieser Messwerte wurde die radiale Wachstumsrate (mm/Tag) für jedes Isolat anhand folgender Formel bestimmt:

$$i_{\text{radial}} = \frac{\sum_{i=1}^4 \Delta r_i}{t}$$

Δr_i = Radialwachstum [mm] nach t Tagen

2.3 Datenauswertung

Für die statistischen Analysen wurden das Statistik-Programm PASW Statistics 18 (SPSS) sowie das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel (Versionen 2007 und 2010) für Microsoft Windows verwendet. Die Überprüfung auf Normalverteilung der Daten erfolgte sowohl objektiv als auch mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Auf Grund der Tatsache, dass fast nie signifikante Abweichungen von der Normalverteilung bestehen, wurden für die Vergleiche der Wachstumsraten univariate Varianzanalysen nach der Methode des „Allgemeinen linearen Modells“ gerechnet. Da die Wiederholungen pro Isolat statistisch berücksichtigt werden sollten, wurden in den betreffenden Fällen die Wiederholungen bei den statistischen Tests berücksichtigt. Im Zuge der Varianzanalysen wurde auch die Gleichheit der Varianzen mit dem Levene-Test überprüft. Unterschiede zwischen den Wachstumsraten innerhalb einer Temperaturstufe wurden durch

Mittelwertvergleiche von unabhängigen Stichproben berechnet. Für die Auswertung wurden, abhängig vom Ergebnis des Levene-Tests und der Anzahl der Stichproben, unterschiedliche parametrische Tests, wie der Games-Howell-Test oder der Tukey-Test, verwendet. Nähere Details zu den statistischen Analysen werden in den einzelnen Subkapiteln beschrieben.

2.4 Morphologische Untersuchungen der Ascosporen

Im Zuge der Untersuchung des Herbarmaterials wurden an mehreren Proben die sexuell gebildeten Fruchtkörper näher untersucht. Dabei wurden auf Objektträgern Quetschpräparate der Pseudothecien angefertigt, wodurch Ascosporen, oft auch mitsamt der Asci, zum Vorschein kamen. In einem Durchlichtmikroskop wurden die Längen und Breiten der Sporen bei 1.000-facher Vergrößerung gemessen. Die Schleimhülle, welche die Sporen umgibt und vor allem bei den unreifen Sporen besonders deutlich ausgeprägt ist, wurde bei den Messungen nicht berücksichtigt. Diese Untersuchungen beschränkten sich auf Isolate der „subalpinen Form“ da nur von dieser Gruppe eine ausreichende Anzahl von Proben mit reifen Fruchtkörpern zur Verfügung stand.

3 Ergebnisse

3.1 Morphologische Untersuchung der Ascosporen

3.1.1 Ascosporenlänge und -breite der „subalpinen Form“ in Abhängigkeit vom Reifegrad

Die gemessenen Ascosporen, welche von *Picea abies*-Proben stammten, wurden anhand morphologischer Merkmale in 3 Gruppen unterteilt: Die Gruppe der noch unreifen, zweizelligen, hyalinen Sporen umfasst 91 Messwerte, jene mit reifen, hyalinen, vierzelligen Sporen 24 Messwerte. Die letzte Gruppe besteht aus reifen, bräunlichen, vierzelligen, in Dauerformen umgewandelte Sporen und beinhaltet insgesamt 27 Messwerte.

Sowohl Abbildung 23 als auch Abbildung 24 zeigen, dass unreife Sporen noch durchaus in der Lage sind, in Länge und Breite zu wachsen. Weiters ist zu erkennen, dass die zu Dauerformen umgewandelten Sporen die hyalinen, reifen Sporen in ihrer Breite, nicht jedoch in ihrer Länge, übertreffen (Abb. 23 und 24).

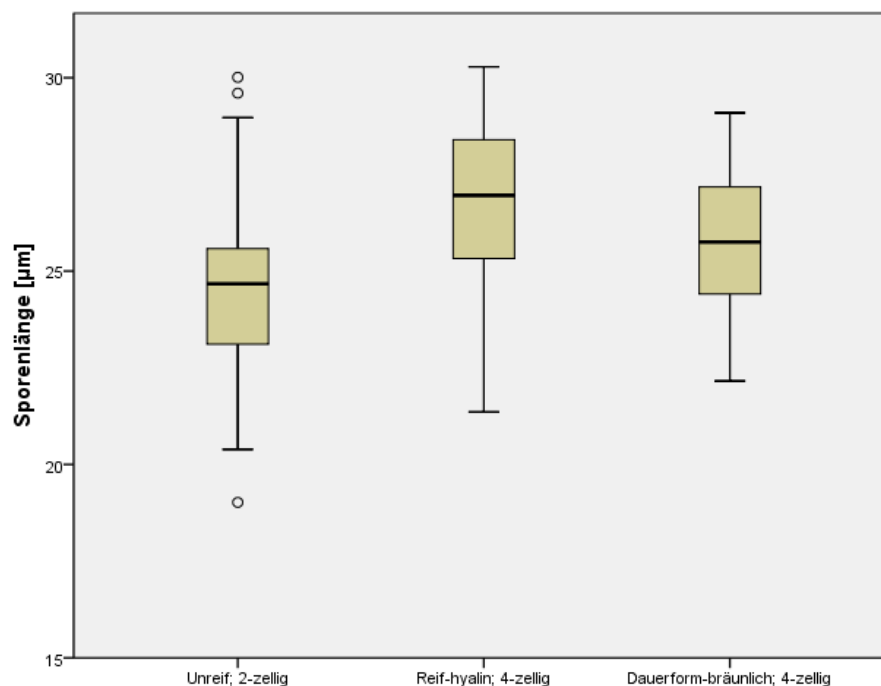


Abbildung 23: Länge der Ascosporen von *H. juniperi* auf Proben von *Picea abies* in Abhängigkeit von ihrer Morphologie bzw. ihrem Reifegrad

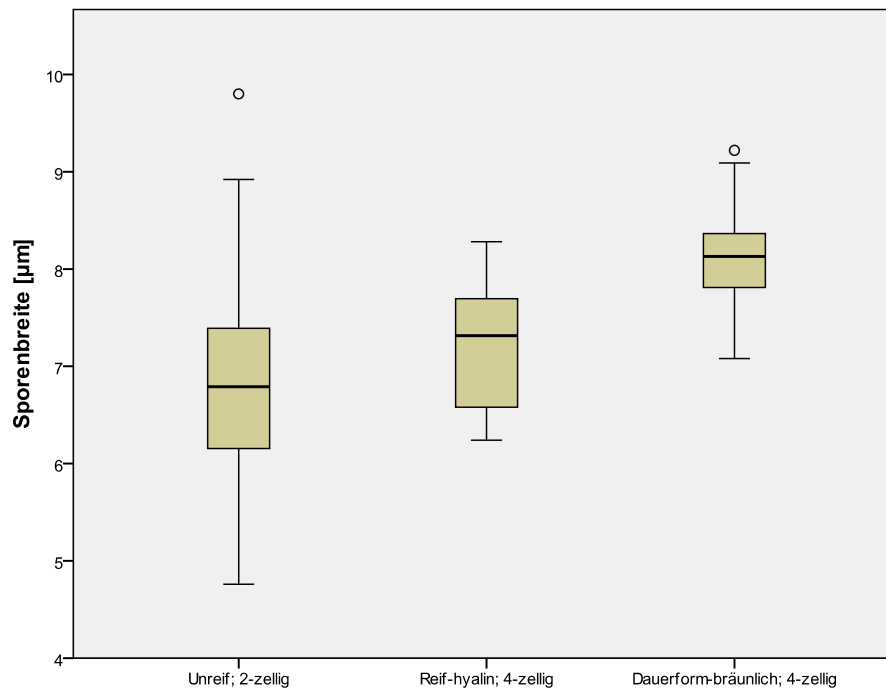


Abbildung 24: Breite der Sporen auf *Picea abies* Proben in Abhängigkeit von ihrer Morphologie

Der Kolmogorov-Smirnov-Test zeigte, dass die Längen und Breiten der Sporen in allen 3 Gruppen normalverteilt sind. Varianzhomogenität besteht jedoch nur für die Längenmessungen der Sporen. Aus diesem Grund wurde für die statistische Analyse der Sporenlängen der Tukey-Test und für jene der Sporenbreiten der Games-Howell-Test herangezogen.

Die Durchführung des Tukey-Tests ergab zum Teil signifikante Unterschiede zwischen den Längen der Sporen der unterschiedlichen Gruppen (Tab. 4). Die auf *Picea abies* gebildeten unreifen, hyalinen Ascosporen unterscheiden sich in ihrer Länge höchst signifikant ($p < 0,001$) von den reifen, hyalinen Sporen. Zwischen den hyalinen, reifen Sporen und den Dauerformsporen konnten hingegen keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,107$) festgestellt werden. Auch zwischen den unreifen Sporen und den bräunlichen Dauerformsporen besteht kein signifikanter Unterschied ($p = 0,070$).

Tabelle 4: Ergebnis des Post-Hoc Mehrfachvergleichs nach Tukey

Mehrfachvergleiche						
Länge Spore Tukey-HSD						
(I) Reifegrad	(J) Reifegrad	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Unreif; 2-zellig	Reif-hyalin; 4-zellig	-2,2689194*	,4916201	,000	-3,433610	-1,104229
	Dauerform-bräunlich; 4-zellig	-1,0450305	,4695107	,070	-2,157342	,067281
Reif-hyalin; 4-zellig	Unreif; 2-zellig	2,2689194*	,4916201	,000	1,104229	3,433610
	Dauerform-bräunlich; 4-zellig	1,2238889	,6010417	,107	-,200031	2,647809
Dauerform-bräunlich; 4-zellig	Unreif; 2-zellig	1,0450305	,4695107	,070	-,067281	2,157342
	Reif-hyalin; 4-zellig	-1,2238889	,6010417	,107	-2,647809	,200031

*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

Im Gegensatz zur Analyse der Sporenlänge lieferte die Varianzanalyse bei der Prüfung der Sporenbreiten zwischen allen Gruppen ein signifikantes Ergebnis ($p < 0,05$). Der Games-Howell-Test zeigt zudem, dass die Unterschiede in der Sporenbreite zwischen den bräunlichen Dauerformsporen und den beiden übrigen Reifegraden sogar höchst signifikant ($p < 0,001$) sind (Tab. 5).

Tabelle 5: Ergebnisse des Post-Hoc Mehrfachvergleichs nach Games-Howell

Mehrfachvergleiche						
Breite Spore Games-Howell						
(I) Reifegrad	(J) Reifegrad	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Unreif; 2-zellig	Reif-hyalin; 4-zellig	-,4318819*	,1599945	,025	-,817244	-,046519
	Dauerform-bräunlich; 4-zellig	-1,3285022*	,1379196	,000	-1,657596	-,999409
Reif-hyalin; 4-zellig	Unreif; 2-zellig	,4318819*	,1599945	,025	,046519	,817244
	Dauerform-bräunlich; 4-zellig	-,8966204*	,1580023	,000	-1,279759	-,513482
Dauerform-bräunlich; 4-zellig	Unreif; 2-zellig	1,3285022*	,1379196	,000	,999409	1,657596
	Reif-hyalin; 4-zellig	,8966204*	,1580023	,000	,513482	1,279759

*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

3.1.2 Ascosporenlänge und -breite in Abhängigkeit von der Wirtsbaumart

Neben der Analyse unterschiedlich reifer Ascosporen wurde auch untersucht, ob es Unterschiede bei den reifen, hyalinen Sporen der „subalpinen Form“ zwischen Isolat von *Picea abies* und *Pinus mugo* gibt. Bereits während der Untersuchungen unter dem Mikroskop konnte beobachtet werden, dass auf Fichtennadeln gebildete Ascosporen meist

länger und schmaler waren als jene auf Bergkiefernadeln. Diese Beobachtung wurde durch die Messungen bestätigt: Bei einem Mittelwert von 26,8 μm Länge liegen 95% der gemessenen Ascosporen ($N = 24$) von *Picea abies* zwischen 26 und 27,5 μm . Die Breite dieser Sporen beträgt im Mittel 7,2 μm und die Messwerte schwanken zwischen 7,0 und 7,5 μm . Die Sporen von *Pinus mugo* ($N = 63$) wiesen mit einer durchschnittlichen Länge von 24,0 μm und einer Breite von 7,6 μm kürzere und breitere Ascosporen auf. 95% der Sporen hatten eine Länge zwischen 23,5 und 24,5 μm und eine Breite zwischen 7,4 und 7,8 μm . Auf Grund dieser Beobachtungen wurde für weitere statistische Analysen der Quotient zwischen Länge und Breite für jede gemessene Ascospore ermittelt. Abbildung 25 zeigt, dass *Herpotrichia juniperi*-Ascosporen von *Picea abies* ($N = 24$) ein deutlich höheres Länge/Breite-Verhältnis aufweisen als jene von *Pinus mugo* ($N = 63$). Weiters ist zu erkennen, dass auf *Pinus mugo* gebildete Ascosporen eine größere Variabilität in ihren Abmessungen besitzen, was nicht nur mit dem höheren Stichprobenumfang erklärt werden kann.

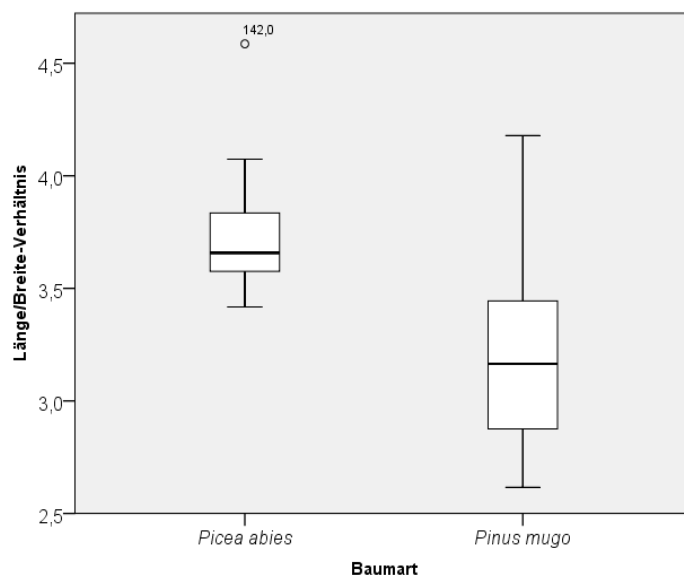


Abbildung 25: Länge:Breite-Verhältnis reifer, hyaliner Ascosporen der „subalpinen Form“ von *H. juniperi*, gebildet in Pseudothecien auf *Picea abies* und *Pinus mugo*

Um zu überprüfen, ob sich das Länge/Breite Verhältnis der Sporen beider Baumarten signifikant voneinander unterscheidet, wurden die normalverteilten Mittelwerte der Stichproben mit einem T-Test bei zwei unabhängigen Stichproben analysiert. Da nur 4 Sporenmessungen von *Juniperus communis* vorliegen, wurde diese Baumart nicht in die Analysen mit einbezogen. Das Ergebnis des T-Tests (Tab. 6) zeigt einen höchst signifikanten Unterschied ($p < 0,001$) zwischen dem Länge/Breite Verhältnis der Ascosporen von *Picea abies* und *Pinus mugo*.

Tabelle 6: Ergebnis des T-Tests zur Überprüfung der Unterschiede des Länge /Breite - Verhältnisses von *Herpotrichia juniperi*-Ascosporen von Proben der Baumarten *Picea abies* und *Pinus mugo*

Test bei unabhängigen Stichproben						
		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)
Länge/Breite	Varianzen sind gleich	6,897	,010	6,661	85	,000
	Varianzen sind nicht gleich			7,946	62,404	,000

3.2 Morphologische Untersuchung des Anamorphs von *H. juniperi*

3.2.1 Größe der Pyknidien

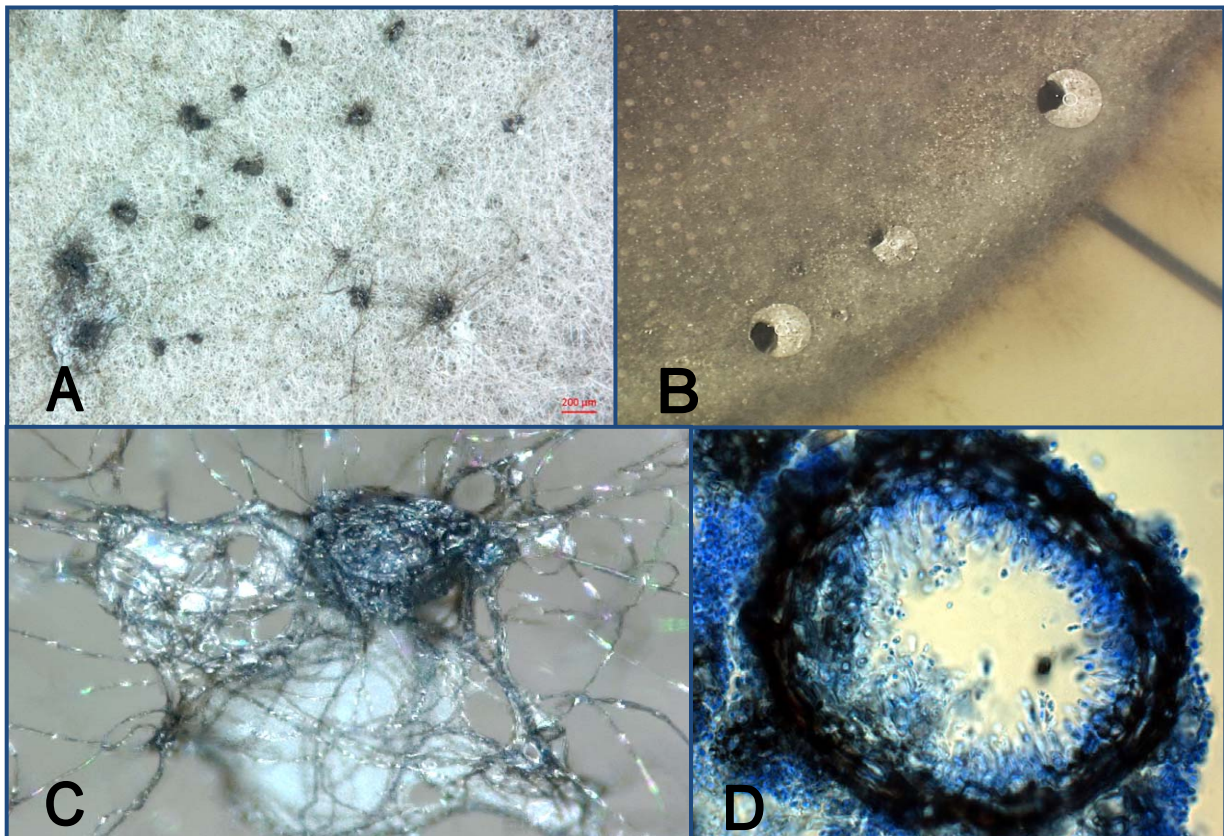


Abbildung 26: Oberflächlich gebildete, schwarze Pyknidien auf bewachsener Malzextraktagar-Schale (A), Vermehrtes Auftreten von Pyknidien im Bereich von Kondenswassertropfen (B), Detailansicht eines Pyknidiums (C); Mit Anilinblau eingefärbter Querschnitt durch einen asexuell gebildeten Fruchtkörper (D)

Nach Abschluss des Wachstumsversuchs wurden die mit Myzel bewachsenen Petrischalen bei Zimmertemperatur (ca. 23°C) in Stapeln gelagert. Die Schalen waren dabei einem Tag-Nacht Rhythmus ausgesetzt. Etwa 2 Monate nach Beginn des Wachstumsversuchs wiesen bereits einige Malzagarplatten schwarze Pyknidien auf (Abb. 26 A). Ein Einfluss der unterschiedlichen Inkubationstemperaturen während des Wachstumsversuchs konnte dabei nicht festgestellt werden.

Die Fruchtkörper sind vor allem auf Kolonien mit gräulichem Myzel gut erkennbar, kommen jedoch auch auf dunklen und schwarzen Myzelkolonien vor, obwohl sie in diesen auf Grund des geringen Kontrastes wesentlich schwerer erkennbar sind. Die Pyknidien werden zumeist oberflächlich, seltener auch innerhalb des Myzels gebildet. Alle untersuchten Fruchtkörper waren von mehreren Hyphen umgeben (Abb. 26 C). Die kugeligen Pyknidien bildeten sich vor allem im Bereich von oberflächlich am Myzel anhaftenden Kondenswassertropfen (Abb. 26 B). Dieser Umstand erleichterte es, asexuelle Fruchtkörper auch auf schwarzen Pilzkolonien zielsicher zu lokalisieren.

Querschnitte durch den Fruchtkörper zeigten, dass die Wände der Pyknidien aus 2 bis 4 Reihen dickwandiger, bräunlich erscheinender Zellen bestehen (Abb. 26 D). Die Innenseite der Pyknidienwände ist überzogen von einer Vielzahl an Konidiophoren von unterschiedlicher Form und Größe. Diese Konidienträger schnüren Pycnosporen ab, welche die Lumina der noch geschlossenen Fruchtkörper oft gänzlich füllen.

Im Zuge der Untersuchungen wurden die Durchmesser von 17 Fruchtkörpern bestimmt. Hierbei wurden der längste und der kürzeste Durchmesser jedes Fruchtkörpers gemessen und anschließend der Mittelwert gebildet. Abbildung 27 zeigt, dass die Größe der Pyknidien einer großen Streuung unterliegt. Die Fruchtkörper wiesen im Durchschnitt einen Durchmesser von 154 µm auf, wobei 95% der Messwerte in einem Bereich zwischen 130 und 179 µm lagen.

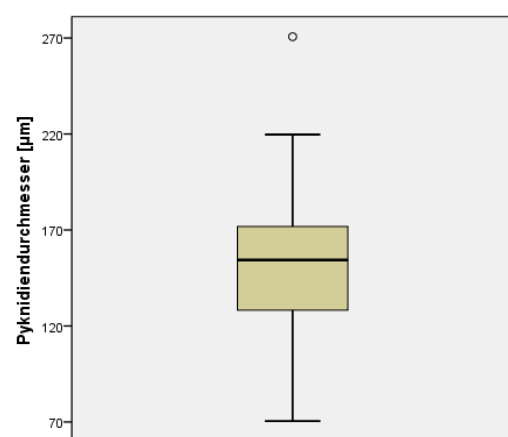


Abbildung 27: Verteilung der Pykniiddurchmesser von *H. juniperi*

3.2.2 Maße der Pykno-sporen

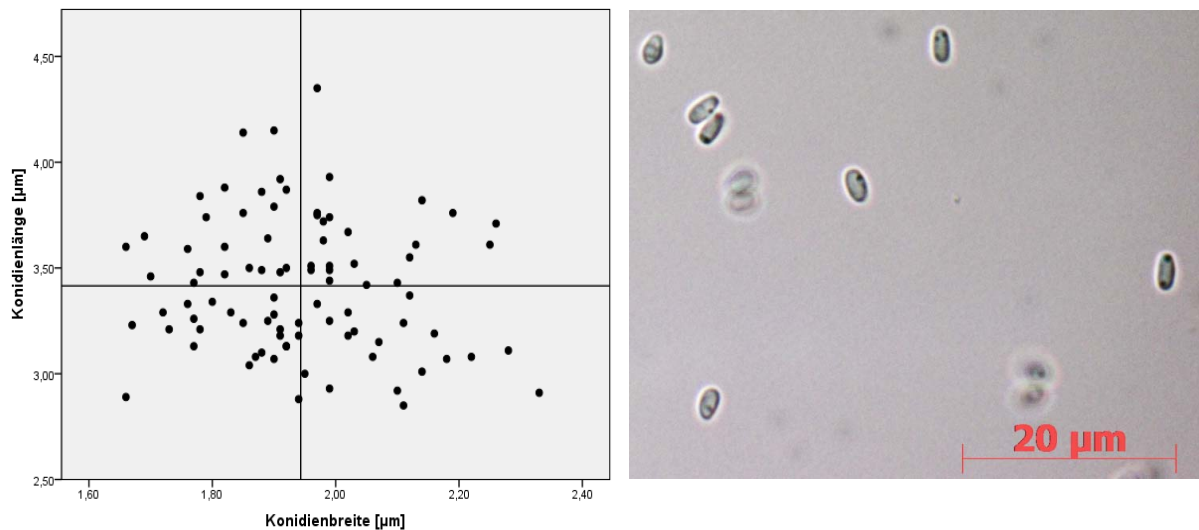


Abbildung 28: Links: Längen- und Breitenmaße der Pykno-sporen von *H. juniperi*. Die Linien des Fadenkreuzes stellen die Mittelwerte der Längen und Breiten der Sporen dar. Rechts: Bildaufnahmen von Pykno-sporen im Lichtmikroskop bei 1.000-facher Vergrößerung.

Neben den Pyknidien wurden in der vorliegenden Arbeit auch die innerhalb dieser Fruchtkörper gebildeten Konidien (Pykno-sporen) näher untersucht. Für die Analyse wurden die Fruchtkörper unter einem Auflichtmikroskop auf einen Objektträger übertragen, anschließend gequetscht und die vom Pyknidium entlassenen Sporen unter einem Durchlichtmikroskop betrachtet. Diese erscheinen hyalin, unseptiert und oval und besitzen keine umgebende Schleimhülle (Abb. 28/rechts). Abbildung 28 (links) zeigt die Maße der 89 untersuchten Pykno-sporen, welche von 8 unterschiedlichen Isolaten stammen. Die Sporen wiesen im Mittel eine Länge von 3,4 µm und eine Breite von 1,9 µm auf. 95% der gemessenen Konidien lagen in einem Bereich zwischen 3,3 und 3,5 µm in der Länge und zwischen 1,9 und 2,0 µm in der Breite. Das Ergebnis zeigt, dass sich die Sporen sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Form nur sehr wenig voneinander unterscheiden.

3.3 Physiologische Unterschiede zwischen *Herpotrichia juniperi* - Isolaten verschiedener Wirtsbaumarten

Die Frage, ob sich *Herpotrichia juniperi*-Isolate unterschiedlicher Wirtsbaumarten in ihrem Myzelwachstum *in vitro* voneinander unterscheiden, wurde nur an Isolaten der „subalpinen Form“ untersucht, da nur in dieser Höhenstufe Isolate von *Juniperus communis*

verfügbar waren. Tabelle 7 gibt einen Überblick über den Stichprobenumfang dieses Versuches.

Tabelle 7: Stichprobenumfang des Wachstumsversuchs mit *Herpotrichia juniperi*-Isolaten von verschiedenen Wirtsbaumarten getrennt nach Temperaturstufen

	Temperaturstufen [°C]							
	-3,5	1,4	4,4	7,4	12,5	18,6	21,2	25,6
	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl
<i>Picea abies</i>	26	25	26	26	24	26	26	26
<i>Pinus mugo</i>	10	10	10	10	10	9	10	10
<i>Juniperus communis</i>	8	8	8	8	8	8	8	8

Abbildung 29 zeigt, dass sich die Wachstumskurve von Isolaten von *Picea abies* nur gering von jener von *Pinus mugo* unterscheidet. Dennoch ist erkennbar, dass *Herpotrichia*-Isolate von *Picea abies* im Bereich zwischen 1 und 16°C den Isolatn von *Pinus mugo* in

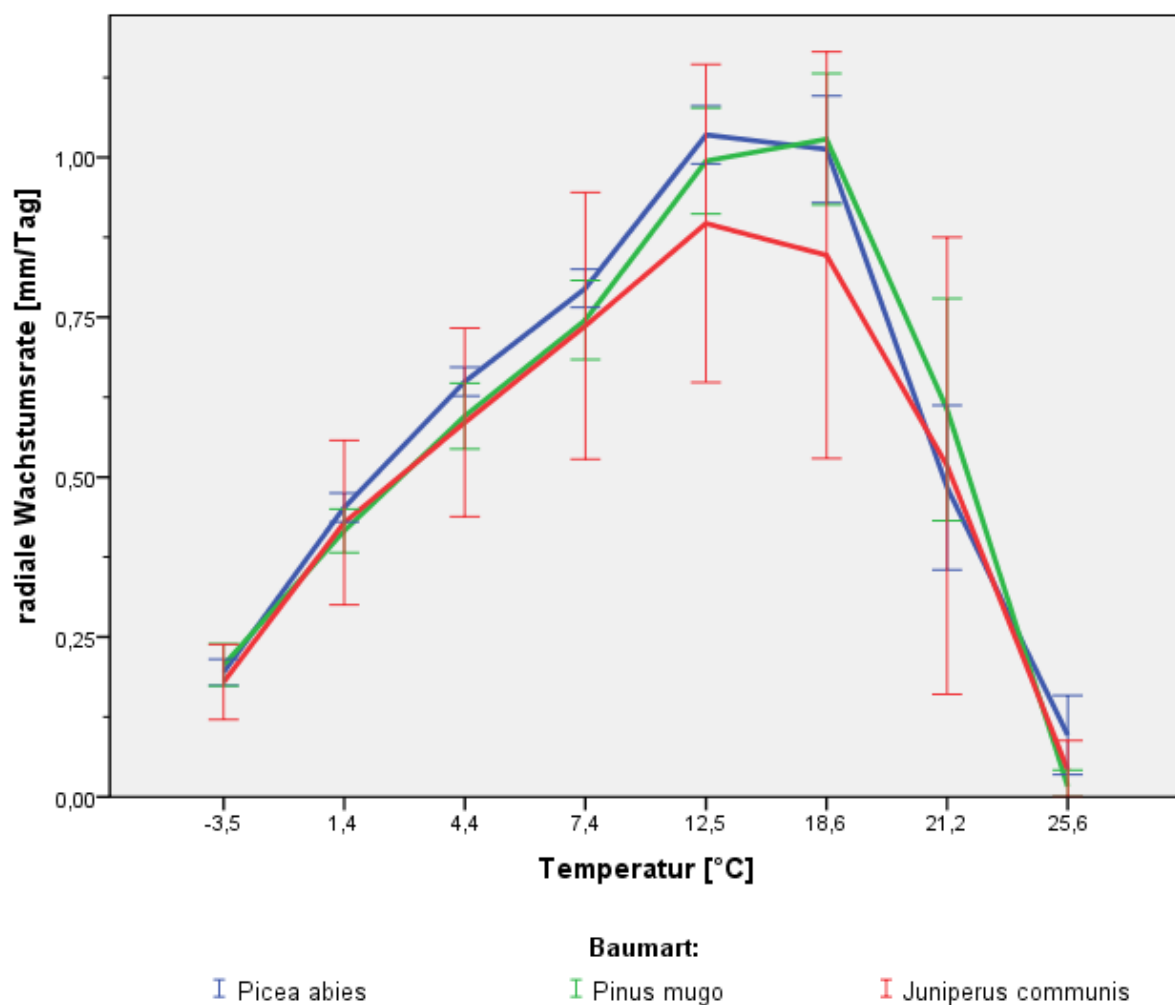


Abbildung 29: Radiale Wachstumsraten (mm/Tag) von *H. juniperi* – Isolatn von *Picea abies*, *Pinus mugo* und *Juniperus communis* in Abhängigkeit von der Temperatur. Die Fehlerbalken entsprechen einem Konfidenzintervall von 95%

ihrem Wachstum leicht überlegen sind (Abb. 29: blaue Kurve). Geringe Unterschiede zwischen den Isolaten beider Baumarten lassen sich auch in ihren Wachstumsoptima feststellen. Während *Herpotrichia juniperi* auf *Pinus mugo* ihr maximales Wachstum ($1,02 \pm 0,13$ mm/Tag) bei der Temperaturstufe von $18,6^{\circ}\text{C}$ aufweist, besitzt die Wachstumskurve der Isolate von *Picea abies* ihr Optimum ($1,03 \pm 0,11$ mm/Tag) bei $12,5^{\circ}\text{C}$. Die Wachstumskurve von *Juniperus communis*-Isolaten unterscheidet sich deutlich von den beiden anderen Wachstumskurven: Im Gegensatz zu den beiden anderen Gruppen weist sie ein deutlich geringeres Wachstumsoptimum von $0,90 \pm 0,30$ mm/Tag bei einer Temperatur von $12,5^{\circ}\text{C}$ auf und besitzt im Bereich zwischen 8 und 19°C auch deutlich geringere Wachstumsraten.

Die Wachstumsraten aller Baumarten und Temperaturstufen wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet und sind - mit Ausnahme von *Picea abies* und *Pinus mugo* bei $25,5^{\circ}\text{C}$ - allesamt hinreichend normalverteilt. Der Levene Test zur Überprüfung der Varianzhomogenität lieferte stets ein signifikantes Ergebnis ($p < 0,05$). Trotz dieses Ergebnisses wurde eine univariate Varianzanalyse, unter Berücksichtigung der Wiederholungen (Petrischalen), für die Analyse herangezogen. Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse dieses statistischen Tests. Bei einem gegebenen Signifikanzniveau von $p = 0,05$ konnte knapp kein signifikanter Unterschied ($p = 0,052$) zwischen *Juniperus communis*-Isolaten und *Picea abies*-Isolaten festgestellt werden. Unterschiede zwischen *Pinus mugo* und *Juniperus communis*-Isolaten sind zwar erkennbar ($p = 0,328$), es konnten bei gegebenem Signifikanzniveau jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Isolate von *Picea abies* und *Pinus mugo* zeigen hingegen in ihrem Wachstum kaum Unterschiede ($p = 0,756$).

Tabelle 8: Ergebnis des Tukey-Mehrfachvergleichs

Multiple Comparisons						
Wachstumsrate Tukey-HSD						
(I) Baumart	(J) Baumart	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
<i>Picea abies</i>	<i>Pinus mugo</i>	,01631	,02286	,756	-0,03751	0,07013
	<i>Juniperus communis</i>	,05772	,02472	,052	-0,00048	0,11591
<i>Pinus mugo</i>	<i>Picea abies</i>	-,01631	,02286	,756	-0,07013	0,03751
	<i>Juniperus communis</i>	,04141	,02903	,328	-0,02694	0,10976
<i>Juniperus communis</i>	<i>Picea abies</i>	-,05772	,02472	,052	-0,11591	0,00048
	<i>Pinus mugo</i>	-,04141	,02903	,328	-0,10976	0,02694

Grundlage: beobachtete Mittelwerte.
Der Fehlerterm ist Mittel der Quadrate(Fehler) = ,030

3.4 Wachstumsunterschiede zwischen der „Mittelgebirgsform“ und der „Subalpinen Form“ *in vitro*

Für die statistischen Analysen zur Klärung der Frage, ob sich die „subalpine Form“ von der „Mittelgebirgsform“ in ihrem Wachstum unterscheidet, wurden ausschließlich *Herpotrichia*-Isolate von *Picea abies* herangezogen. Diese Auswahl erfolgte einerseits auf Grund der Tatsache, dass beinahe alle vorhandenen Isolate der „Mittelgebirgsform“ (92 %) von *Picea abies* stammten, andererseits haben die Untersuchungen aus Kapitel 3.3 gezeigt, dass sich die Isolate unterschiedlicher Wirtsbaumarten deutlich (wenn auch nicht signifikant) unterscheiden, womit eine Überlagerung der beiden Einflussfaktoren eingetreten wäre, was wiederum die Interpretation der Ergebnisse wesentlich erschwert hätte.

Im Zuge der Datenanalyse wurden die Daten des Wachstumsversuchs durch die Auflistung von Extremwerten auf Eingabe- und Messfehler überprüft. Dabei stellte sich heraus, dass sich das Isolat 817, welches der „Mittelgebirgsform“ angehört, in seinem Wachstumsverhalten bei mehreren Temperaturstufen deutlich von den anderen Isolaten unterschied. Im Gegensatz zu den übrigen untersuchten Isolaten wies es einen deutlich thermophileren Wachstumsverlauf auf. Da auch das morphologische Erscheinungsbild der Kultur von jenem der übrigen *Herpotrichia*-Isolate abwich, wurde dieses Isolat bei den Untersuchungen nicht weiter berücksichtigt.

Tabelle 9: Stichprobenumfang des Wachstumsversuchs mit *Herpotrichia juniperi*-Isolaten der subalpinen Form sowie der Mittelgebirgsform in Abhängigkeit von der Temperatur

	Temperatur [°C]							
	-3,5	1,4	4,4	7,4	12,5	18,6	21,2	25,6
	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl
subalpine Form	26	25	26	26	24	26	26	26
Mittelgebirgsform	13	13	13	13	13	13	13	13

Insgesamt flossen je Temperaturstufe 39 Isolate in die Analysen mit ein, wobei je 26 Isolate (25 bei 1,4°C und 24 bei 12,5°C) der „subalpinen Form“ und jeweils 13 Isolate der „Mittelgebirgsform“ angehörten. Tabelle 9 gibt einen Überblick über den Stichprobenumfang, getrennt nach den gewählten Temperaturstufen. Erwartungsgemäß stammen die der „Mittelgebirgsform“ zugeordneten *Herpotrichia*-Isolate aus tieferen Lagen (die mittlere

Seehöhe beträgt 1.109 m) als jene der „subalpinen Form“ (Tabelle 10). Anhand dieser Tabelle ist aber auch erkennbar, dass zwischen diesen beiden Gruppen keine scharfe Abgrenzung in der vertikalen Verbreitung (Seehöhe der Fundorte) besteht.

Tabelle 10: Seehöhe der Fundorte der verwendeten Isolate getrennt nach ihrer morphologischen Sporenform

		Seehöhe [m]					
		Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	5% Perzentile	95% Perzentile
Sporenform	subalpine Form	26	1598	171	34	1200	1848
	Mittelgebirgsform	13	1109	290	80	727	1750
	Summe	39	1435	316	51	730	1848

Tabelle 11: Ergebnis der univariaten Varianzanalyse zur Überprüfung des Einflusses der Sporenform (subalpine Form versus Mittelgebirgsform) und der Temperatur auf die radiale Wachstumsrate von *Herpotrichia juniperi* *in vitro*

Tests der Zwischensubjekteffekte

Maß: Wachstumsrate
Transformierte Variable: Mittel

Quelle	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.	Partielles Eta-Quadrat
Konstanter Term	200,307	1	200,307	4639,481	,000	,941
Sporenform	,085	1	,085	1,957	,163	,007
Temp	59,582	7	8,512	197,146	,000	,825
Sporenform * Temp	,170	7	,024	,561	,787	,013
Fehler	12,650	293	,043			

Zu Beginn der statistischen Datenanalyse wurde mittels mehrerer Kolmogorov-Smirnov-Tests überprüft, ob sich die Verteilungsform der Wachstumsraten, unter anderem auch getrennt nach Temperaturstufen und Sporenform, signifikant von der Normalverteilung unterscheiden. Da sich sämtliche Werte als hinreichend normalverteilt erwiesen, wurde der Einfluss der Sporenformen auf die radiale Wachstumsrate mittels Varianzanalyse unter Berücksichtigung von Messwiederholungen untersucht. Es zeigte sich (Tab. 11), dass die Sporenform (subalpine Form versus Mittelgebirgsform) keinen signifikanten Einfluss ($p = 0,163$) auf die radiale Wachstumsrate hat. Die Temperaturstufen besitzen hingegen einen höchst signifikanten Einfluss ($p < 0,001$) auf das Myzelwachstum von *H. juniperi*. Dieser Einfluss, der sich auch bei Isolaten anderer Wirtsbaumarten als signifikant erwies, ist an den abgebildeten Isolaten in Abbildung 30 gut erkennbar.

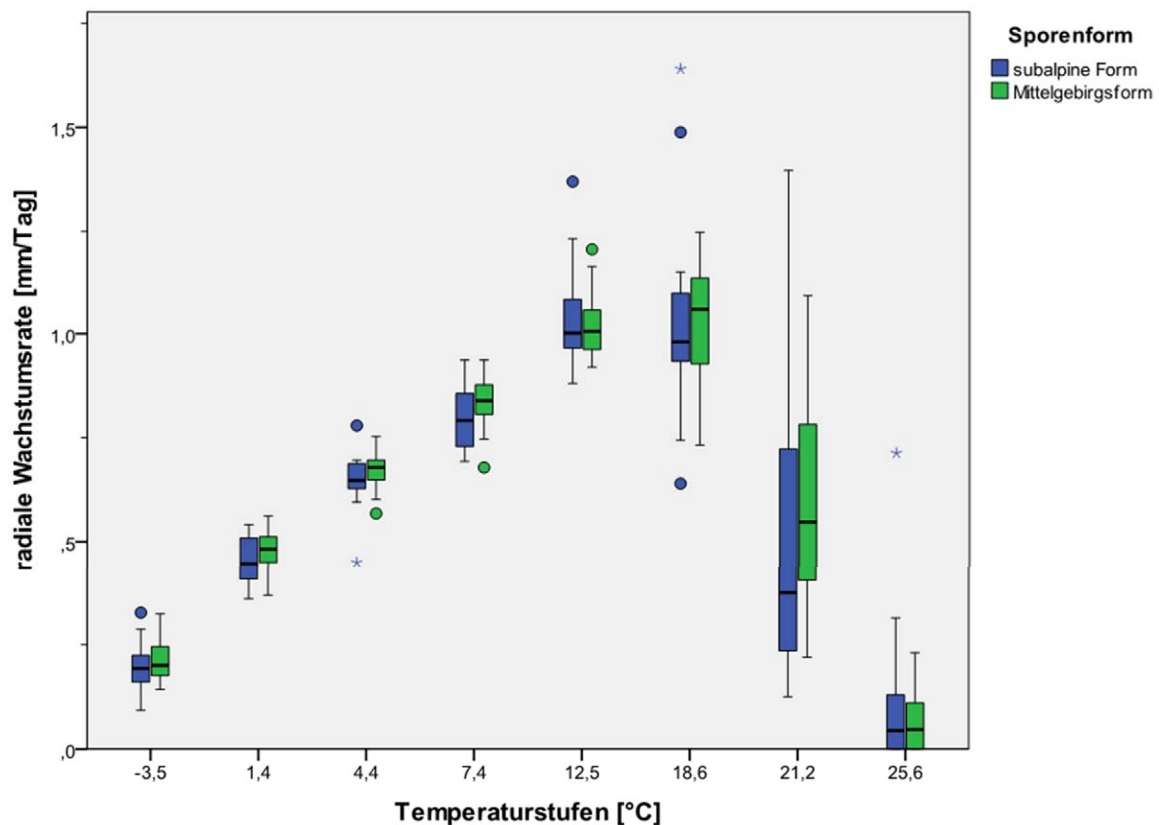


Abbildung 30: Gegenüberstellung der radialen Wachstumsraten (mm/Tag) von Isolaten der „subalpinen Form“ und der „Mittelgebirgsform“ bei unterschiedlichen Temperaturstufen (°C)

Um zu prüfen, wie stark sich die radialen Wachstumsraten bei unterschiedlichen Temperaturstufen unterscheiden, wurden für jede Temperaturstufe die Mittelwerte beider Sporenformen mit Hilfe eines T-Tests bei unabhängigen Stichproben näher analysiert (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisse des T-Tests zur Überprüfung der Unterschiede zwischen der „subalpinen Form“ und der „Mittelgebirgsform“ getrennt nach Temperaturstufen

	Temperaturstufen [°C]							
	-3,5	1,4	4,4	7,4	12,5	18,6	21,2	25,6
Signifikanz	0,308	0,119	0,315	0,098	0,933	0,748	0,331	0,526

Die Tabelle zeigt, dass sich die Mittelwerte der „subalpinen Form“ von jenen der „Mittelgebirgsform“ bei Temperaturen von 1,4 und 7,4°C am deutlichsten - wenn auch nicht statistisch abgesichert - unterscheiden. Bringt man Tabelle 12 in Bezug zu Abbildung 30, so erkennt man, dass die Streuung um die Mittelwerte ab einer Temperatur von 18,6 °C

sprunghaft ansteigt. Vergleicht man die Streuung der Wachstumsraten bei 25,6°C mit jener der Temperaturstufen 18,6 und 21,2 °C, so fällt auf, dass die Werte bei 25,6 °C weniger um den Mittelwert streuen. Dies lässt sich vor allem dadurch erklären, dass bei 25,6°C viele Individuen nicht mehr in der Lage waren, auf dem Nährboden zu wachsen.

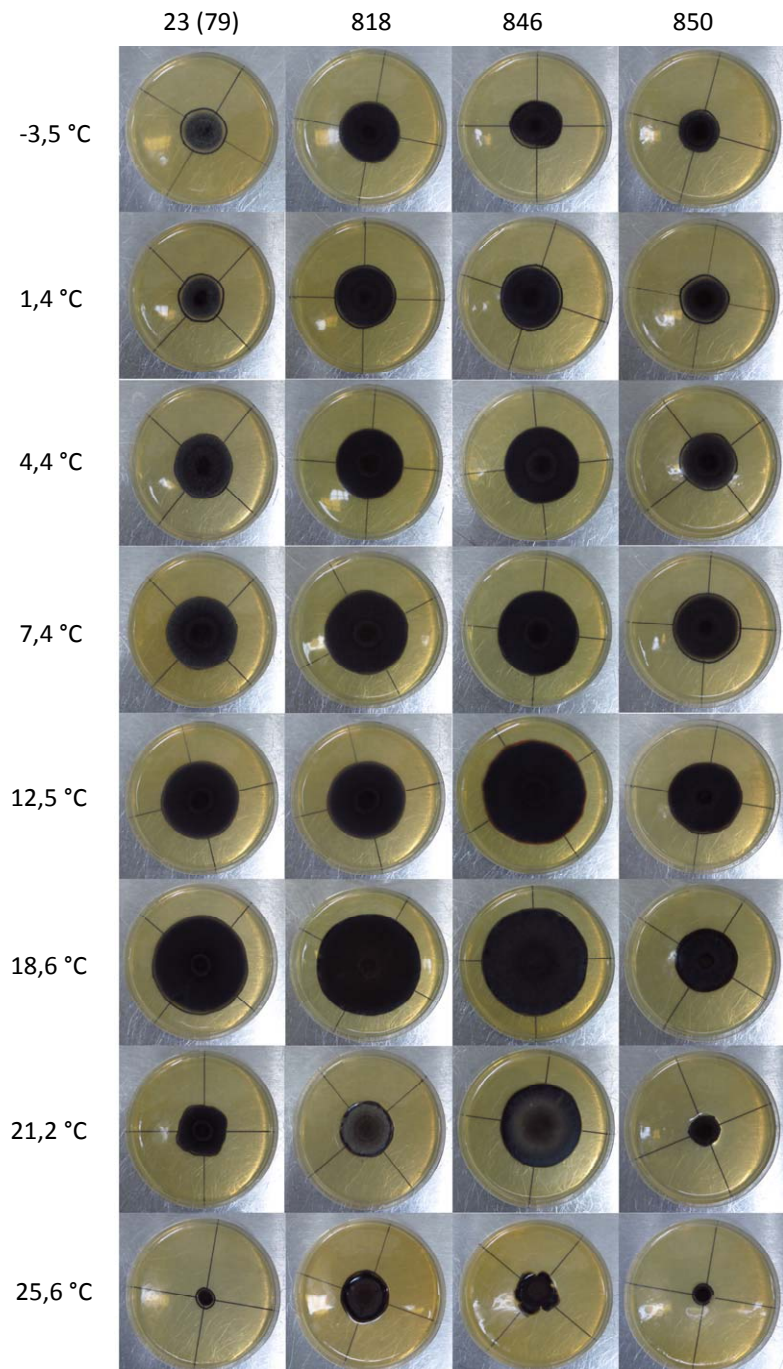


Abbildung 31: Überblick über die Wachstumsgeschwindigkeit von 4 repräsentativen *Herpotrichia juniperi* – Isolaten bei unterschiedlichen Temperaturstufen.

3.5 Weitere Beobachtungen im Zuge des Wachstumsversuchs

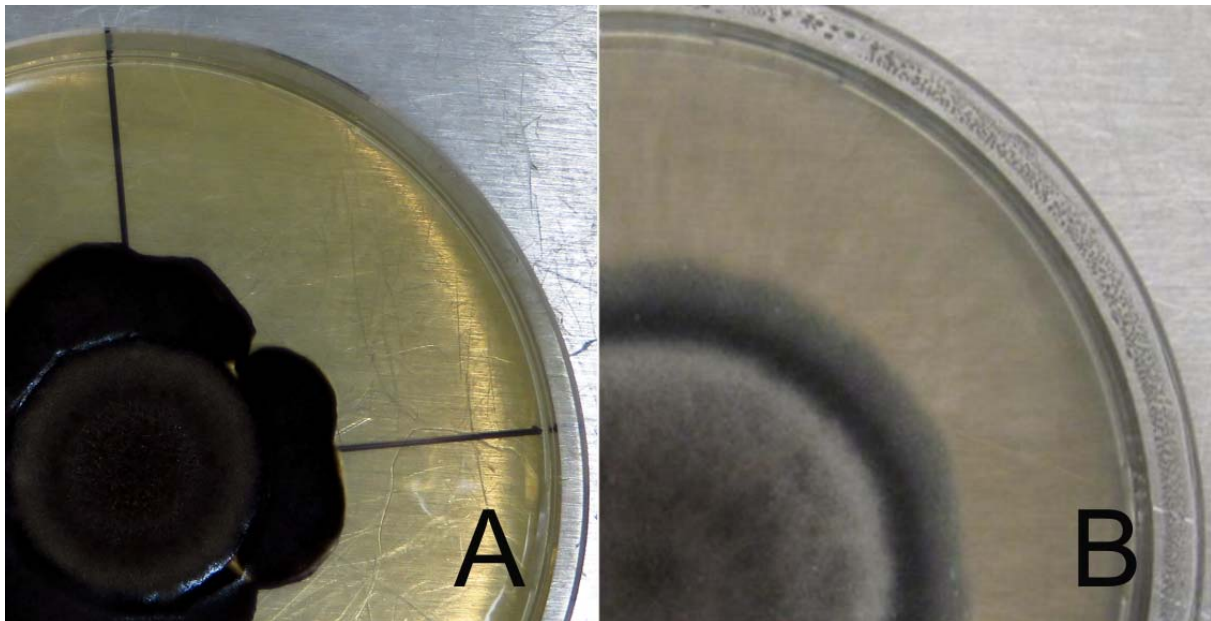


Abbildung 32: Sekundäres Wachstum eines Isolats bei 25,5 °C nach einem mehrtägigen Wachstumsstop (A); Spontaner Wechsel von einem gräulich wachsendem zu einem hyalin wachsendem Myzel, welches bis zum Rand der Petrischale vorgedrungen ist (B)

Während des Wachstumsversuchs konnte bei manchen Kulturen vor allem bei Temperaturen von 25,5 °C festgestellt werden, dass sie ihr Wachstum weitgehend einstellen. Manche dieser Kulturen begannen jedoch nach etwa einer Woche an manchen Stellen ihr Wachstum fortzusetzen (Abb. 32/A). Dieser kurzzeitige Wachstumsstop dieser Myzelkulturen war noch lange Zeit später durch eine scharfe Abgrenzung zum später neu gebildeten Myzel gut erkennbar.

Andere Kulturen änderten bei Temperaturen über 20 °C die Erscheinungsform ihres Myzels. Die anfänglich schwarzgrauen Hyphen nahmen meist spontan eine weißliche, hyaline Gestalt an (Abb. 32/B). Um auszuschließen, dass die später auftretenden hyalinen Hyphen einer anderen Art angehören oder eine Kontamination durch einen anderen Pilz darstellten, wurden Teile dieser Hyphen auf Malzextrakt-Agarschalen überimpft und diese bei ca. 5 °C inkubiert. Auf diesen Schalen entwickelte sich ein für *Herpotrichia juniperi* typisches, schwärzliches Myzel. Um zu überprüfen, welchen Einfluss die Faktoren Temperatur und Licht auf die Ausbildung der hyalinen Hyphen *in vitro* aufweisen, wurden daraufhin Agarstücke mit hyalinem Myzel auf frische Malzextrakt-Agarplatten überimpft und anschließend bei 0°C und bei 20 °C in Klimaschränken gelagert. Die Versuche wurden sowohl

mit als auch ohne Licht durchgeführt. In allen Fällen bildeten die Isolate sofort ein schwärzliches Myzel aus. Ab etwa 20 Tagen färbte sich jedoch das Myzel einzelner, bei 20°C gelagerter Isolate, wiederum weißlich bis hyalin. Ein Einfluss des Lichts konnte deshalb nicht festgestellt werden.

4 Diskussion

4.1 Morphologische Untersuchungen an Ascosporen

In den Ergebnissen ist ersichtlich, dass es ein stetiges Wachstum von den unreifen, hyalinen Ascosporen über die reifen, hyalinen Sporen hin zu den dunkel gefärbten Dauerformsporen (hier jedoch nur in der Breite) zu beobachten ist (Abb. 23 & 24). Die Ascosporen nehmen sowohl in der Länge als auch in ihrer Breite zu, wobei das Breitenwachstum vergleichsweise stärker ausgeprägt ist. Der Wachstumsunterschied zwischen den zweizelligen, hyalinen Sporen und den reifen, vierzelligen, hyalinen Sporen lässt sich weitgehend durch den Reifungsprozess dieser Sporen erklären. Der Wachstumsunterschied zwischen den reifen, hyalinen Sporen und den ebenfalls reifen Dauerformsporen lässt sich jedoch nicht mehr auf Grund des Reifungsprozesses begründen, da beide Formen bereits in der Lage sind, Keimhyphen auszubilden. Die Bräunung der Dauerformsporen ist vielmehr eine Reaktion auf eine längere Lichtexposition (Bazzigher, 1976). Dennoch zeigen die Ergebnisse, dass während dieser Metamorphose auch das Wachstum der Sporen beeinflusst wird. Vermutlich kommt es neben einer Verfärbung der Sporenoberfläche auch zu einer Verdickung der Sporenwände als zusätzlichen Schutz gegen die in den Hochlagen herrschende starke UV-Strahlung. Auch Bazzigher (1976) konnte in seinen Untersuchungen beobachten, dass die bräunlichen Sporen von *Herpotrichia juniperi* breiter sind als die hyalinen. Eine Zunahme der Sporenlänge, wie Bazzigher (1976) berichtet, konnte jedoch in den eigenen Versuchen nicht beobachtet werden. Er berichtet zudem, dass Dauerformsporen häufiger an *Pinus cembrae* und *Juniperus communis* – Proben anzutreffen sind als auf *Picea abies* – Proben. Diese Beobachtungen konnten im Zuge dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Vielmehr wurden die bräunlichen Dauerformsporen meist einzeln zwischen den Hyphen gefunden. Eine eindeutige Zuordnung der Sporen zu einer Wirtspflanze ist zu diesem Zeitpunkt aber nur mehr eingeschränkt möglich, da sich die Dauerformsporen stets außerhalb der Fruchtkörper befinden. Eine eindeutige Zuordnung der Dauerformsporen zu einer Wirtsbaumart nur auf Grund ihres Fundortes an einer bestimmten Baumart, wie sie von Bazzigher (1976) durchgeführt wurde, ist somit kritisch zu hinterfragen.

Literaturquelle	Länge	Breite
Bose (1961)	22,0-35,0	5,0-7,5
Savulescu & Rayss (1929)	22,0-33,0	8,5-9,0
Silvanesan (1984)	23,0-34,0	8,0-12,0
Ellis & Ellis (1985)	25,0-33,0	7,0-11,0
Von Arx (1987)	21,0-26,0	5,0-8,0
Bazzigher (1976)	19,0-29,0	5,5-8,5
eigene Messungen	20,5-29,0	6,5-9,0

Tabelle 13: Maße der Ascosporen von *H. juniperi* unterschiedlicher Autoren in μm (95% Konfidenzintervall)

Ein Vergleich der im Zuge dieser Arbeit durchgeführten Ascosporenmessungen mit jenen anderer Autoren (Tab. 13) zeigt zum Teil erhebliche Abweichungen zu den Angaben aus der Literatur. Diese Unterschiede lassen sich zum Teil dadurch erklären, dass viele Autoren nicht zwischen den längeren, schmälere Sporen der „Mittelgebirgsform“ und den kürzeren, breiteren Sporen der „subalpinen Form“ unterschieden, da der Vorschlag einer entsprechenden Differenzierung erst viel später durch Butin (2011) erfolgte. In die eigenen Messungen (letzte Zeile in Tab. 13) flossen nur Messwerte von Sporen der „subalpinen Form“ ein. Auch die Untersuchungen von Bazzigher (1976) und von Arx (1987) dürften sich fast ausschließlich auf Proben der höher vorkommenden „subalpinen Form“ stützen. Alle anderen in Tabelle 13 angeführten Autoren dürften auch die 26-32 x 6-7 μm großen Sporen der „Mittelgebirgsform“ (Butin, 2011) in ihren Messungen inkludiert haben. Dennoch vermag diese Theorie noch immer nicht die großen Sporenbreiten von über 10 μm von Silvanesan (1984) und Ellis & Ellis (1985) erklären. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Angaben um selten auftretende Extremwerte.

Weiters konnte festgestellt werden, dass die reifen, hyalinen Ascosporen von *Picea abies* deutlich länger und schmaler sind als jene von *Pinus mugo* (Abb. 25). Da sich die reifen Ascosporen zum Zeitpunkt der Untersuchung noch innerhalb der Asci der Pseudothecien befanden, konnten die reifen Ascosporen, anders als die Dauerformsporen, direkt einer Wirtsbaumart zugeordnet werden. Der Unterschied zwischen den unterschiedlichen Größen der Ascosporen lässt möglicherweise auf eine Untergliederung in Unterarten bzw. kryptische Arten schließen. Auch Schneider et al. (2009) konnten in ihren molekularbiologischen

Untersuchungen nachweisen, dass *H. juniperi*-Isolate von *Picea abies* sehr wahrscheinlich eine eigene kryptische Art von *H. juniperi* bilden. Möglicherweise stellt die Ascosporengröße einen Indikator für die Ausscheidung zwischen den genetisch festgestellten kryptischen Arten dar.

4.2 Morphologische Untersuchungen des Anamorphs

Das asexuelle Stadium von *Herpotrichia juniperi* wurde erstmals durch Bose (1961) beschrieben. Die Fruktifikation des Anamorphs der Gattung *Pyrenochaeta* konnte damals nur an alten Kulturen beobachtet werden. Seit deren erstmaligen Entdeckung wurden keine nennenswerten weiteren Untersuchungen am Anamorph durchgeführt. Im Zuge dieser Arbeit konnte jedoch beobachtet werden, dass sich bereits nach 2 Monaten in einzelnen Kulturen Fruchtkörper des Anamorphs bildeten. Diese Pyknidien traten nicht nur, wie von Bose (1961) beschrieben, oberflächlich auf, sondern konnten auch innerhalb des dichten Myzelfilzes der Kultur gefunden werden. Nach etwa 3 Monaten konnten an etwa jedem dritten Isolat Fruchtkörper der Gattung *Pyrenochaeta* beobachtet werden. Vermutlich treten die Pyknidien noch häufiger als beobachtet in Kultur auf, da der geringe Kontrast zu dem meist schwarzen Myzel das Auffinden der Fruchtkörper wesentlich erschwert.

Sollten die innerhalb der Fruchtkörper gebildeten Sporen auch eine Verbreitungsfunktion besitzen, so ist der Pilz auch in der Lage, sich bereits im ersten Befallsjahr mit Hilfe von Sporen über längere Distanzen zu verbreiten. Bisher ging man davon aus, dass eine Langstreckenverbreitung erst im zweiten Befallsjahr durch die Ascosporen erfolgt. In den im Zuge dieser Arbeit durchgeführten Keimungsversuchen konnte jedoch keine Keimung der Pyknosporen beobachtet werden. Somit dürften diese lediglich als Spermatien fungieren.

Die Fruchtkörper der Kulturen waren meist von einem Wassertropfen umgeben. Dies könnte darauf hinweisen, dass zur Bildung des asexuellen Stadiums des Pilzes ausreichend feuchte Bedingungen über einen längeren Zeitraum hinweg notwendig sind. Es verwundert somit nicht, dass die Fruchtkörper erstmals in den Kulturen geschlossener Petrischalen, in denen sich oft viel Kondenswasser bildet, entdeckt wurden. Die Fruchtkörper bilden sich nicht nur auf Kulturen, sondern wurden auch im Myzel befallener Zweige gefunden (H. Butin, BBA-Braunschweig, persönliche Mitteilung, 2014). Eigene Untersuchungen zeigten,

dass sich das Auffinden der Fruchtkörper an Zweigen deutlich schwieriger gestaltet als in Kulturen, da auch die Hyphen häufig zu Pyknidien-ähnlichen Knäueln verwachsen sind.

4.3 Wachstum von *Herpotrichia*-Isolaten unterschiedlicher Wirtsbaumarten in Abhängigkeit von der Temperatur

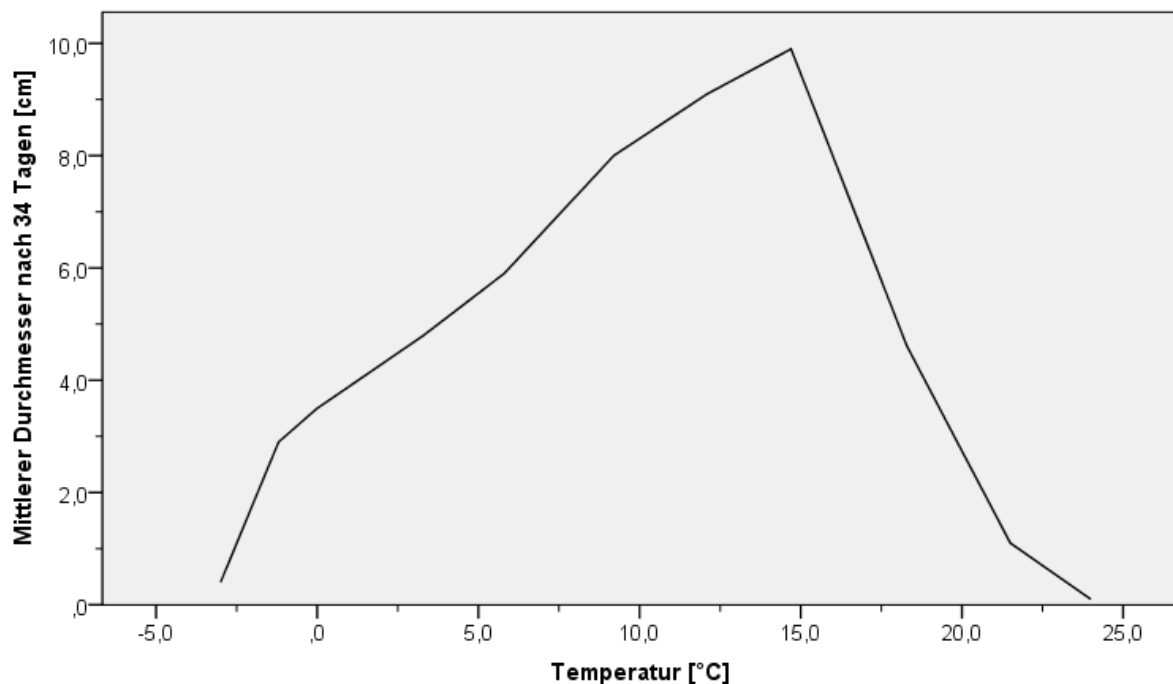


Abbildung 33: Wachstum von *Herpotrichia juniperi*-Isolaten von *Picea abies* in Abhängigkeit von der Temperatur (verändert, nach Gäumann et al., 1934)

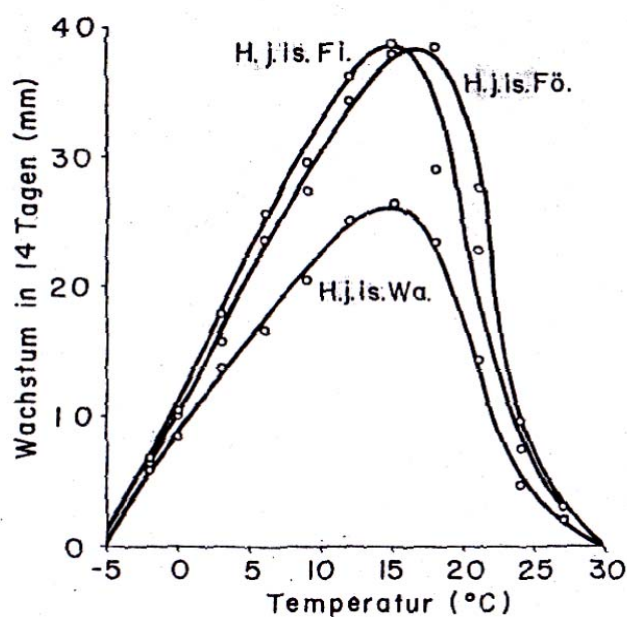


Abbildung 34: Durchmesserwachstum von *H. juniperi*-Isolaten unterschiedlicher Wirtsbaumarten in Abhängigkeit von der Temperatur.

is. Fi.; is. Fö.; is. Wa. = Isolierungen von *Picea abies*, *Pinus mugo* und *Juniperus communis* (Bazzigher, 1976)

Sowohl in den Ergebnissen dieser Arbeit (Abb. 29) als auch in den Untersuchungen von Bazzigher (1976) ist gut erkennbar, dass *H. juniperi*-Isolate von *J. communis* ein deutlich geringeres Wachstum aufweisen als jene von *P. abies* und *P. mugo*. Es ist zu erwarten, dass eine geringfügige Erhöhung des Stichprobenumfangs von *J. communis*-Isolaten zu einem signifikanten Ergebnis führen würde. Obwohl Schneider et al. (2009) mit Hilfe von ISSR-PCR Daten nicht nachweisen konnten, dass Isolate von *J. communis* eine eigene kryptische Art darstellen, liegt auf Grund dieser Ergebnisse dennoch die Vermutung nahe, dass diese Isolate einen eigenen Komplex innerhalb von *H. juniperi* bilden.

Der Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsrate von *H. juniperi* wurde bereits von Gäumann et al. (1934) (Abb. 33), Bazzigher (1976) (Abb. 34) und Lazarević (2003) untersucht. Alle Autoren verwendeten als Nährmedium für ihre Temperaturversuche unter anderem Malzextraktagar, jedoch mit unterschiedlichen Konzentrationen. Aus diesem Grund sind direkte Vergleiche der Wachstumsgeschwindigkeiten nur mit Vorbehalt möglich. Während Gäumann et al. (1934) ausschließlich Isolate von *P. abies* (N=10) für ihre Untersuchungen verwendeten, benutzte Bazzigher (1976) für seinen Versuch Isolate von *P. abies* (N=33), *P. mugo* (N=18) und *J. communis* (N=8). Sowohl die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit (Abb. 29) als auch jene von Gäumann et al. (1934), Bazzigher (1976) und Lazarević (2003) zeigen, dass das Wachstumsoptimum von *H. juniperi* innerhalb eines Temperaturbereichs zwischen 13 und 17°C liegt. Während Bazzigher (1976) noch bei Temperaturen knapp unter 30°C ein schwaches Wachstum des Pilzes messen konnte, geben Gäumann et al. (1934) an, dass der Pilz über 24°C nicht mehr zu gedeihen vermag. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass einige Isolate bei einer Temperatur von 25,6°C ihr Myzelwachstum bereits einstellen, andere jedoch noch durchaus in der Lage waren, bei dieser Temperatur zu wachsen. Mit ein Grund für diese individuellen Unterschiede könnte die Tatsache sein, dass *H. juniperi* eine Art darstellt, die zahlreiche kryptische Arten mit unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften enthält, wie die Ergebnisse von Schneider et al. (2009) vermuten lassen.

Sowohl die eigenen Ergebnisse (Abb. 29) als auch jene von Bazzigher (1976) (Abb. 34) lassen erkennen, dass sich *H. juniperi*-Isolate von *P. abies* und *P. mugo* nur geringfügig in ihrem Wachstumsverhalten *in vitro* unterscheiden. Dennoch ist erkennbar, dass Isolate von *P. mugo* hinsichtlich des Wachstumsoptimums einen schwach thermophileren Wachstumsverlauf aufweisen als *Herpotrichia*-Isolate von *P. abies*.

4.4 Unterschiede zwischen dem Wachstum der „subalpinen Form“ und der „Mittelgebirgsform“ *in vitro*

Vergleicht man die Wachstumskurve der „subalpinen Form“ mit jener der „Mittelgebirgsform“ (Abb. 30), so lässt sich erkennen, dass bei Temperaturen von 18,6 und 21,2°C die Isolate der „Mittelgebirgsform“ höhere Wachstumsraten aufweisen als jene der „subalpinen Form“. Möglicherweise lässt sich dieser Unterschied durch eine Anpassung der „Mittelgebirgsform“ an das meist mildere Klima der Mittelgebirgslagen erklären. Dennoch ist zu beachten, dass die Wachstumsraten im Wachstumsversuch, speziell bei 18,6 und 21,2°C, sehr stark um die Mittelwerte streuen. Ein rein zufälliger Effekt kann somit nicht ausgeschlossen werden.

Weiters ist in Abbildung 30 zu erkennen, dass die „Mittelgebirgsform“ im Versuch ihr Optimum bei 18,6°C aufweist, während die Wachstumskurve der „subalpinen Form“ bereits bei 12,5°C kulminiert. Auch dieses Ergebnis könnte eine Anpassung der Mittelgebirgsform an höhere Temperaturen darstellen. Um jedoch zuverlässigere Aussagen zum Kulminationspunkt der Wachstumskurven treffen zu können, ist es notwendig, den Versuch um mindestens eine weitere Temperaturstufe im Bereich der Wachstumsoptima zwischen 12,5 und 18,6°C zu ergänzen.

Da die Unterschiede zwischen den beiden Formen von *H. juniperi* gering und nicht statistisch gesichert sind, ist ein Wachstumsversuch auf Malzextrakt-Agar kein geeignetes Mittel, die beiden Formen anhand ihres Wachstums *in vitro* zu unterscheiden. Vielmehr ist davon auszugehen, dass zwischen der „Mittelgebirgsform“ und der „subalpinen Form“ keine großen physiologischen Unterschiede bestehen, zumal sich die Wachstumskurven beider Formen, unter anderem auch in ihren Kardinalpunkten, sehr stark ähneln.

5 Schlussfolgerung

Da der Wachstumstest nur geringe Unterschiede zwischen der „Mittelgebirgsform“ und der „subalpinen Form“ zeigte und auch im Zuge von ITS-Sequenzierungen keine Unterschiede zwischen den beiden Formen nachgewiesen werden konnten (O. Holdenrieder, ETH-Zürich, persönliche Mitteilung, 2011) liegt die Vermutung nahe, dass die kürzlich gefundenen morphologischen Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen die natürliche Variation innerhalb der Art *H. juniperi* widerspiegeln. Um diese Hypothese zu verifizieren oder zu falsifizieren, sollten jedoch noch weitere genetische Marker getestet werden, um zu prüfen, ob diese nicht doch eine Differenzierung der beiden morphologischen „Gruppen“ ermöglichen.

Literaturverzeichnis

BACHOFER, M. & MAYER J. (2006): Der neue Kosmos Baumführer. 370 Bäume und Sträucher Mitteleuropas. Stuttgart: Kosmos.

BAZZIGHER, G. (1962): Ein vereinfachtes Gefriertrockungsverfahren zur Konservierung von Pilzkulturen. Phytopathologische Z. 45: 53-56.

BAZZIGHER, G. (1976): Der Schwarze Schneeschimmel der Koniferen [*Herpotrichia juniperi* (Duby) Petrak und *Herpotrichia coulteri* (Peck) Bose]. European Journal of Forest Pathology 6: 109-122.

BOSE, S. K. (1961): Studies on *Massarina Sacc.* and Related Genera. Phytopathologische Zeitschrift 41 (2): 151-213.

BOYCE, J. S. (1916): Spore variation in *Neopeckia coulteri*. Phytopathology 6: 357-359.

BUTIN, H. (2011): Krankheiten der Wald- und Parkbäume. Diagnose – Biologie – Bekämpfung. 4., neubarb. Aufl. Stuttgart: Ulmer.

CUNNINGHAM, C., ZIMMERMANN, N. E., STOECKLI V. & BUGMANN H. (2006): Growth response of Norway spruce saplings in two forest gaps in the Swiss Alps to artificial browsing, infection with black snow mold, and competition by ground vegetation. Canadian Journal of Forest Research 36: 2782-2793.

DÖRFELT, H. (1989): Lexikon der Mykologie. Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag.

ELLIS, M. B. & ELLIS J. P. (1985): Microfungi on Land Plants. An Identification Handbook. London-Sydney: Croom Helm.

FARR, D. F., & ROSSMAN, A. Y. (2014): Fungal Databases. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory (USDA, Hrsg.) Online unter: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (28.01.2014).

- FREYER K. & VAN DER AA, H. A. (1975): Über *Pyrenochaeta parasitica* spec. Nov., die Nebenfruchtform von *Herpotrichia parasitica* (Hartig) E. Rostrup (= *Trichosphaeria parasitica* Hartig). European Journal of Forest Pathology 5: 171-182.
- GÄUMANN, E., ROTH, C., & ANLIKER, J. (1934): Über die Biologie der *Herpotrichia nigra* Hartig. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten (Pflanzenpathologie) und Pflanzenschutz 44 (3): 97-116.
- HARTIG, R. (1888): *Herpotrichia nigra* n. sp. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung 6: 15-17.
- KOBAYASHI, T. (2007): Index of fungi inhabiting woody plants in Japan. Host, Distribution and Literature. Zenkoku-Noson-Kyoiku Kyokai Publishing Co.
- LAZAREVIĆ, J. (2003): Contribution to the study of the physiological characteristics of the pathogenic fungus *Herpotrichia juniperi*. Poljoprivreda I šumarstvo 49 (3-4): 95-109.
- LILJA, A., POTERI, M., PETÄISTÖ, R.-L., RIKALA, R., KURKELA, T., & KASANEN, R. (2010): Fungal Diseases in Forest Nurseries in Finland. Silva Fennica 44 (3): 525-545.
- MÜLLER, E. & VON ARX, J. A. (1962): Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyceten. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11 (2).
- NIERHAUS-WUNDERWALD, D. (1996): Pilzkrankheiten in Hochlagen. Biologie und Befallsmerkmale. Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft (Hrsg.): Merkblatt für die Praxis 27.
- OSKAY F., LEHTIJARVI, A., DOGMUS-LEHTIJAVI, H. T. & HALMSCHLAGER, E. (2011): First report of brown felt blight caused by *Herpotrichia juniperi* on *Cedrus libani* in Turkey. Plant Disease 95 (2): 222-223.
- RAIMANN R. (1890): Botanischer Discussionsabend am 17. Jänner 1890. Verhandlungen der kaiserlich-königlichen zoologisch- botanischen Gesellschaft in Wien: 10-11.
- SAMUELS, G. J. & MÜLLER, E. (1978): Life-History Studies of Brazilian Ascomycetes 4. Three species of *Herpotrichia* and their *Pyrenochaeta*-like anamorphs. Sydowia 31: 157-168.

- SCHARPF, R. F. (1986): Dwarf Misteltoe as a Host for Brown Felt Blight in California. *Plant Disease* 70 (8): 798-799.
- SCHNEIDER, M., GRÜNIG, C. R., HOLDENRIEDER, O. & SIEBER, T. N. (2009): Cryptic speciation and community structure of *Herpotrichia juniperi*, the causal agent of brown felt blight of conifers. *Mycological Research* 113: 887-896.
- SCHÖNENBERGER, W., FREY, W., & LEUENBERGER, F. (1990): Ökologie und Technik der Aufforstung im Gebirge. Anregungen für die Praxis. (Eidgenössische Anstalt für forstl. Versuchswesen, Hrsg.), 325.
- SIMMS, H. R. (1967): On the Ecology of *Herpotrichia nigra*. *Mycologia* 59 (5): 902-909.
- SIVANESAN, A. (1984): The Bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. Vaduz: J. Cramer.
- STURGIS, W. C. (1913): *Herpotrichia* and *Neopeckia* on conifers. *Phytopathology* 3: 152-158.
- TU-MÜNCHEN (2014): Der Schwarze Schneeschimmel. Online unter: <http://www.forst.tu-muenchen.de/EXT/LST/BOTAN/LEHRE/PATHO/PICEA/herpotri.htm> (08.01.2014).
- VON ARX, J. A. (1987): Plant Pathogenic Fungi. Beihefte zur Nova Hedwigia 87. Berlin-Stuttgart: J. Cramer.
- WASERN, U., & ENGESSER, R. (2002): Der schwarze Schneeschimmel (*Herpotrichia juniperi*). (WSL, Hrsg.) Online unter: www.wsl.ch/dienstleistungen/waldschutz/pilze/schneeschimmel.pdf (15.08.2013).
- WEIR, J. R. (1915): A new leaf and twig disease of *Picea engelmannii*. *Journal of Agricultural Research* 4 (3): 251-255.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Starker Befall durch <i>H. juniperi</i> an den unteren Ästen einer Fichte (Wasern & Engesser, 2002).....	1
Abbildung 2:	Von <i>Herpotrichia juniperi</i> befallene Zwergmistel (Scharpf, 1986).....	4
Abbildung 3:	Lebenszyklus von <i>Herpotrichia juniperi</i>	5
Abbildung 4:	Verlauf von Boden-, Schnee- und Lufttemperatur in Davos (CH) bei einer Schneemächtigkeit von 60 bis 80 cm (Gäumann et al., 1934).....	6
Abbildung 5:	Erwartetes Pflanzenwachstum (cm) bei minimalem (Level 1), durchschnittlichem (Level 2) und maximalem Auftreten von Schneebedeckung (FSAD) und Schneeschimmel (SM) (verändert nach Cunningham et al., 2006).....	7
Abbildung 6:	Letale Temperatur für das Dauermyzel von <i>H. juniperi</i> in Abhängigkeit der Einwirkungsdauer der Temperatur (Bazzigher, 1962)	8
Abbildung 7:	Schnitt durch eine von <i>H. juniperi</i> befallene Spaltöffnung (Gäumann et al., 1934)	9
Abbildung 8:	Schematische Darstellung der Infektion der Leitbündel über subepidermale Zellen (Gäumann et al. 1934).....	10
Abbildung 9:	Lineare Anordnung der Pseudothecien auf Nadeln (Wasern et al., 2002)	11
Abbildung 10:	Pseudothecium von <i>H. juniperi</i> eingebettet in Myzel (Foto: Karr U., Boku Wien)	11
Abbildung 11:	Aufgebrochenes Pseudothecium, aufgenommen im Rasterelektronenmikroskop (Foto: Karr U., Boku Wien).....	12
Abbildung 12:	Schnitt durch ein Pseudothecium von <i>H. juniperi</i> . Gut erkennbar ist die Anordnung der Asci und deren Einbettung in die Paraphysen (Bose, 1961)	13
Abbildung 13:	Ascosporen unterschiedlicher Formen und Reifestadien (Ellis & Ellis, 1985).....	13
Abbildung 14:	Ascosporen unterschiedlicher Reifegrade: 2-zellige, hyaline, unreife Spore in einem Ascus (A); 4-zellige, hyaline, reife Spore (B); dickwandige, reife, bräunliche Dauerform-Spore (C).....	14
Abbildung 15:	Einfluss der Temperatur auf das Keimverhalten der Ascosporen bei unterschiedlich langer Einwirkungszeit (Lazarević, 2003)	14
Abbildung 16:	Entwicklungszyklus der Anamorphen von Ascomyceten (Dörfelt, 1989).....	16
Abbildung 17:	A: Reife Ascosporen von <i>H. juniperi</i> (Ellis et al., 1985); B: Ascosporen von <i>N. coulteri</i> (Müller et al., 1962)	18
Abbildung 18:	Höhenverbreitung von <i>H. juniperi</i> und <i>N. coulteri</i> . Je dichter die Rasterpunkte desto häufiger und virulenter tritt der Pilz in Erscheinung (verändert nach Bazzigher, 1976).....	19

Abbildung 19:	Wirksamkeit zweier Fungizide (Zineb, Maneb) auf Schneeschimmelbefall von Fichtenpflanzen bei 5 %iger Konzentration in Abhängigkeit vom Behandlungsdatum (A); Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen (I= 5 %) von ZINEB auf den Befall von Fichtenpflanzen (B) (Bazzigher, 1976)	21
Abbildung 20:	Reife Ascosporen der „Subalpinen Form“ (A) und der „Mittelgebirgsform (B) (Butin, 2011).....	22
Abbildung 21:	Auf Wasseragar aufgelegte, befallene Wacholdernadeln. Links: <i>H. juniperi</i> konnte sich erfolgreich etablieren. Rechts: Ein anderer, nadelbesiedelnder Pilz hindert <i>H. juniperi</i> am Wachstum.....	25
Abbildung 22:	Durchführung der Wachstumsmessungen: Vor Versuchsbeginn werden zwei orthogonale Linien (a, b) aufgezeichnet. „c“ und „d“ stellen anschließende Wachstumsmessungen dar.....	26
Abbildung 23:	Länge der Ascosporen von <i>H. juniperi</i> auf Proben von <i>Picea abies</i> in Abhängigkeit von ihrer Morphologie bzw. ihrem Reifegrad.....	29
Abbildung 24:	Breite der Sporen auf <i>Picea abies</i> Proben in Abhängigkeit von ihrer Morphologie....	30
Abbildung 25:	Länge:Breite-Verhältnis reifer, hyaliner Ascosporen der „subalpinen Form“ von <i>H. juniperi</i> , gebildet in Pseudothecien auf <i>Picea abies</i> und <i>Pinus mugo</i>	32
Abbildung 26:	Oberflächlich gebildete, schwarze Pyknidien auf bewachsener Malzextraktagar-Schale (A), Vermehrtes Auftreten von Pyknidien im Bereich von Kondenswassertropfen (B), Detailansicht eines Pyknidiums (C); Mit Anilinblau eingefärbter Querschnitt durch einen asexuell gebildeten Fruchtkörper (D).....	33
Abbildung 27:	Verteilung der Pykniendurchmesser von <i>H. juniperi</i>	34
Abbildung 28:	Links: Längen- und Breitenmaße der Pycnosporen von <i>H. juniperi</i> . Die Linien des Fadenkreuzes stellen die Mittelwerte der Längen und Breiten der Sporen dar. Rechts: Bildaufnahmen von Pycnosporen im Lichtmikroskop bei 1.000-facher Vergrößerung.	35
Abbildung 29:	Radiale Wachstumsraten (mm/Tag) von <i>H. juniperi</i> – Isolat von <i>Picea abies</i> , <i>Pinus mugo</i> und <i>Juniperus communis</i> in Abhängigkeit von der Temperatur. Die Fehlerbalken entsprechen einem Konfidenzintervall von 95%.....	36
Abbildung 30:	Gegenüberstellung der radialen Wachstumsraten (mm/Tag) von Isolat der „subalpinen Form“ und der „Mittelgebirgsform“ bei unterschiedlichen Temperaturstufen (°C).....	40
Abbildung 31:	Überblick über die Wachstumsgeschwindigkeit von 4 repräsentativen <i>Herpotrichia juniperi</i> – Isolat bei unterschiedlichen Temperaturstufen.	41

- Abbildung 32: Sekundäres Wachstum eines Isolats bei 25,5 °C nach einem mehrtägigen Wachstumsstop (A); Spontaner Wechsel von einem gräulich wachsendem zu einem hyalin wachsendem Myzel, welches bis zum Rand der Petrischale vorgedrungen ist (B)..... 42
- Abbildung 33: Wachstum von *Herpotrichia juniperi*-Isolaten von *Picea abies* in Abhängigkeit von der Temperatur (verändert, nach Gäumann et al., 1934) 47
- Abbildung 34: Wachstumsabhängigkeit von *Herpotrichia juniperi* - Isolaten von unterschiedlichen Wirtsbaumarten. is. Fi.; is. Fö; is. Wa. = Isolierungen von *Picea abies*, *Pinus mugo* und *Juniperus communis* (Bazzigher, 1976)..... 47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Systematik von <i>Herpotrichia juniperi</i>	2
Tabelle 2: Maße der Pseudothecien von <i>H. juniperi</i>	12
Tabelle 3: Anzahl der verwendeten Schneeschnitz-Isolate getrennt nach Baumarten und Sporenform.....	24
Tabelle 4: Ergebnis des Post-Hoc Mehrfachvergleichs nach Tukey	31
Tabelle 5: Ergebnisse des Post-Hoc Mehrfachvergleichs nach Games-Howell	31
Tabelle 6: Ergebnis des T-Tests zur Überprüfung der Unterschiede des Länge /Breite Verhältnisses von <i>Herpotrichia juniperi</i> -Ascosporen von Proben der Baumarten <i>Picea abies</i> und <i>Pinus mugo</i>	33
Tabelle 7: Stichprobenumfang des Wachstumsversuchs mit <i>Herpotrichia juniperi</i> -Isolaten von verschiedenen Wirtsbaumarten getrennt nach Temperaturstufen	36
Tabelle 8: Ergebnis des Tukey-Mehrfachvergleichs	37
Tabelle 9: Stichprobenumfang des Wachstumsversuchs mit <i>Herpotrichia juniperi</i> -Isolaten der subalpinen Form sowie der Mittelgebirgsform in Abhängigkeit von der Temperatur.....	38
Tabelle 10: Seehöhe der Fundorte der verwendeten Isolate getrennt nach ihrer morphologischen Sporenform.....	39
Tabelle 11: Ergebnis der univariaten Varianzanalyse zur Überprüfung des Einflusses der Sporenform (subalpine Form versus Mittelgebirgsform) und der Temperatur auf die radiale Wachstumsrate von <i>Herpotrichia juniperi</i> in vitro	39
Tabelle 12: Ergebnisse des T-Tests zur Überprüfung der Unterschiede zwischen der „subalpinen Form“ und der „Mittelgebirgsform“ getrennt nach Temperaturstufen	40
Tabelle 13: Maße der Ascosporen von <i>H. juniperi</i> unterschiedlicher Autoren in μm (95% Konfidenzintervall)	45

Anhang

Malzextrakt-Agar 2% (MEA)

20g	Malzextrakt (getrocknet und pulverisiert)
16g	Agar-Agar
1.000ml	Leitungswasser
100ml	Streptomycinsulfat (Antibiotikum)

Malzextrakt und Agar-Agar werden in Leitungswasser in einer hitzebeständigen Glasflasche gelöst und anschließend 20 Minuten bei 121°C im Autoklaven sterilisiert. Nach dem Abkühlen des Mediums auf etwa 50°C werden 0,1g Streptomycinsulfat, gelöst in 10ml Aqua deion., mit einer Spritze über Sterilfilter zugegeben. Anschließend wird das Medium mit einem Magnetrührer durchmischt und in Petrischalen ausgegossen.

Wasser-Agar (TWA)

20g	Agar-Agar
1.000 ml	Leitungswasser

Agar-Agar wird in Leitungswasser gelöst 20 Minuten bei 121°C im Autoklaven sterilisiert. Anschließend wird das Medium mit einem Magnetrührer durchmischt und in Petrischalen ausgegossen.