

Konstitutive Abwehr und induzierte Wundreaktion von Fichten nach Blattwespenbefall im Revier Heubach (Waldviertel)



Masterarbeit zur Erlangung des wissenschaftlichen Grades Diplomingenieur der Universität für Bodenkultur Wien im Studiengang Forstwissenschaften

Eingereicht von Bernhard Schmieder, B.Eng

Betreuerinnen: PD Dr. C. Schafellner, DI Dr. S. Netherer

Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz

Department für Wald- und Bodenforschung

Glaube mir, denn ich habe es erfahren, du wirst mehr in den Wäldern finden als in den Büchern; Bäume und Steine werden dich lehren, was du von keinem Lehrmeister hörst.
Bernhard von Clairvaux
1

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich diese Masterarbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Falls ich direkt oder indirekt fremde Quellen verwendet habe, sind diese als solche gekennzeichnet. Zudem lege ich diese Arbeit erstmalig zu einer Prüfung vor.

Wien, im November 2017		
	Bernhard Schmieder	

Danksagung

Ein paar Zeilen möchte ich nutzen um mich bei all denjenigen zu bedanken, die mich bei der Erstellung der Masterarbeit liebevoll unterstützt haben und damit einen großen Beitrag zum Gelingen des Studiums leisten konnten.

In erster Linie gilt der Dank dem gesamten Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz, die mich familiär aufgenommen haben und mir über das Jahr der Masterarbeit eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre ermöglicht haben. Diese war sicherlich ein Grund, dass mir die Arbeit einigermaßen leichtgefallen ist und viel Freude bereitet hat.

Mein größter Respekt gilt den Betreuerinnen Dr. Sigrid Netherer und Dr. Christa Schafellner, die die Arbeit vom Anfang bis zum Ende kompetent und geduldig betreut haben. Beispielsweise ohne deren Vorbereitung und Unterstützung bei den Außenarbeiten oder ihren Verbesserungsvorschlägen wäre die Arbeit nicht in dem Maße gelungen.

Wichtige Beiträge leisteten auch Gabi Motlik, die die Erhebung des Energiestatus der Nymphen über einige Wochen betreute, Petr Zabranski bei der Messung des Unterkühlungspunkts der Nymphen, Dr. Thomas Kirisits mit der Anzucht der Bläuepilze für die Inokulation oder Waltraud Pleyl, die den Überblick über die Literatursammlung des Instituts bewahrt!

Erwähnen möchte ich auch Giulia Sbrizza, die während ihres Praktikums die Nymphen aus dem Freiland auf deren Energiebudgets untersuchte. Ohne sie hätte die Arbeit um Wochen länger gedauert, da zu der Zeit noch einige Prüfungen zu bestreiten waren. Auch die Praktikantin Astrid Koehl aus Frankreich und die Kolleginnen Ina Henneböhle, Laura Steinbach und Anna Antonitsch haben die Außenarbeiten begleitet, Bernhard Trinko hat über den Sommer 2017 die Fallen gelehrt – danke dafür!

Ohne die Bereitschaft von Ing. Rudolf Duhan und dem Stift Zwettl wäre das Wichtigste nicht vorhanden gewesen- die Befallsfläche! Danke für das Bereitstellen zu unseren Forschungszwecken.

Und zu guter letzt- aber umso wichtiger- ein herzliches Dankeschön meinen Eltern! Ohne deren Zuspruch und deren finanzielle Unterstützung, hätte ich mich nicht so motivieren und auf das Studium konzentrieren können!

Inhalt

1.		Einle	eitun	g	7
2.		Die l	Fichte	engespinstblattwespe Cephalcia abietis (L.)	8
	2.	1.	Verb	preitung	8
	2.:	2.	Biolo	ogie	8
	2.	3.	Pop	ulationsregulierende Faktoren1	L1
	2.	4.	Fors	tliche Bedeutung1	L3
3.		Abw	ehrm	nechanismen der Fichte gegenüber Borkenkäfern	L4
	3.	1.	Kons	stitutive und induzierte Abwehr	L4
	3.:	2.	Verg	gesellschaftung von Borkenkäfern mit Bläuepilzen	L7
4.		Mate	erial	und Methoden	L8
	4.	1.	Befa	ıllsfläche	L8
	4.	2.	Vers	suchsaufbau2	20
	4.	3.	Einte	eilung der Fichten in Befallsklassen	20
	4.	4.	Bauı	mphysiologische Parameter	21
		4.4.1	1.	Harzflussmessungen	21
		4.4.2	2.	Inokulation mit Bläuepilzen	22
	4.	5.	Erhe	ebung der Belagsdichte der Nymphen im Boden2	24
	4.	6.	Erhe	ebung des Energiestatus der Nymphen2	25
		4.6.1	1.	Protein	26
		4.6.2	2.	Lösliche Kohlenhydrate	28
		4.6.3	3.	Glykogen	29
		4.6.4	1.	Lipide	30
	4.	7.	Mes	sung des Unterkühlungspunkts	31
	4.	8.	Erm	ittlung der Klimadaten im Bestand	33
	4.9	9.	Stati	istische Auswertung	34
5.		Erge	bniss	se	34
	5.	1.	Mes	sung der baumphysiologischen Parameter	34
		5.1.1	1.	Harzflussmessungen	34
		5.1.2	2.	Nekrosebildung nach Pilzinokulation	39
		5.1.3	3.	Zusammenhänge zwischen Harzfluss und Nekrosebildung	18
	5.:	2.	Bela	gsdichte an Nymphen im Boden5	57
	5.	3.	Ener	rgiestatus der Nymphen5	59
		5.3.1	1.	Gewichtsverteilung, Wassergehalte, Farbpolymorphismus	59
		5 2 3) [Energiehaushalt	52

	5.3.3.	Unterkühlungspunkt	. 66
	5.4. Luft	und Bodentemperaturen im Bestand	. 67
6.	Diskussio	n	. 69
7.	Zusamme	enfassung	. 83
8.	Anhang		. 87
	8.1. Literatu	ırverzeichnis	. 87
	8.2. Abbildu	ingsverzeichnis	. 90
	8.3. Tabelle	nverzeichnis	. 92

<u>Abstract</u>

The spruce web-spinning sawfly Cephalcia abietis (L.) is a primary pest of Norway spruce. The insect attacks mature spruce, mass outbreaks are common at altitudes of 600-1000 m. Larvae live gregariously in webs and feed old spruce needles. Trees that suffer repeated defoliation are potentially less defensive and become susceptible to secondary pests like bark beetles. The present study addressed the question of constitutive and induced defences of trees that suffered various attack levels by the sawfly during the outbreak in 2013. The study area was located in a 10 ha pure spruce stand near Zwettl, Lower Austria, where the sawfly population has a 3-year generation cycle. In summer 2016, 36 trees were selected and grouped according to the previous feeding damage (heavily, lightly, control). For constitutive defenses, resin flows were measured in mid-August and repeated in late September and mid-October. To challenge the tree defenses each stem was inoculated with the mycelium of three blue-stain fungi commonly associated with bark beetles: Grosmannia penicillata, Endoconidiophora polonica and Leptographium sp.. Sterile agar was used as a control. Six and nine weeks post inoculation, i.e. late September and mid-October, the wound necroses were measured. Additionally, the energy status of the overwintering nymphs was determined. In mid-August, resin flows were highest in the heavily attacked trees; in all tree groups, resin flows increased after fungus inoculation. G. penicillata inoculations induced the largest lesions, followed by Leptographium sp., E. polonica and agar. In heavily attacked trees, wound reactions induced by G. penicullata correlated negatively with resin flows before and after inoculations; in control trees they correlated positively. No correlations were observed with other tree classes or fungi. Before overwintering, fat and glycogen reserves of nymphs were high; reserves decreased significantly when insects were kept at 15°C.

Keywords: constitutive and induced tree defense, resin flow, blue-stain fungi, inoculations, *Cephalcia abietis*, nymphs

1. Einleitung

Die Diplomarbeit befasst sich mit einem Fichtenaltbestand im Revier Heubach des Stifts Zwettl (Waldviertel, Niederösterreich), der in den 1960er Jahren bereits vom Fraß der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis (L.)* betroffen war. Eine neuerliche Massenvermehrung wurde 2013 beobachtet. Im Frühjahr 2014 wurde vom Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz der Universität für Bodenkultur eine Dauerbeobachtungsfläche eingerichtet, um die Generationsentwicklung in den Folgejahren zu dokumentieren. Im Jahr 2016 wurde ein weiteres Hauptschwärmjahr beobachtet, das jedoch wesentlich geringer ausfiel als 2013 (Gober 2017, Zelinka 2017, Antonitsch 2017). Diese Arbeiten untersuchten die Populationsdynamik im Jahr 2015, das Überwinterungsverhalten sowie die Populationsstruktur und -dynamik im Jahr 2016.

Außer Acht gelassen war damit der Einfluss des Fraßes von *C. abietis*, des Primärschädlings, auf die Wirtspflanzen, der ein wichtiger Faktor bei der Befallsdisposition von Fichten für Sekundärschädlinge sein kann. Dieser Aspekt war aber unbedingt zu diskutieren als 2015 einige Bäume, auch Probebäume der Dauerbeobachtungsfläche, aufgrund von Stehendbefall durch *Ips typographus*, den Buchdrucker, gefällt werden mussten. Starker Nadelverlust bedeutet auch Einschränkungen für den Baum bei der Photosynthese und lässt die Vermutung zu, dass solche Fichten ihren Feinden, wie zum Beispiel Borkenkäfern nur noch eine geschwächte Abwehr entgegensetzen können (u.a. Lieutier et al., 2009). Schwach geschädigte Bäume sollten hingegen sensibilisiert sein und aufgrund noch hoher Kohlenstoffvorräte kräftig in ihre Abwehr investiert haben.

Aus diesen Überlegungen heraus wurde ein besonderer Fokus der Arbeit auf die Abwehrmechanismen der Fichte gelegt und dafür der Harzfluss und die Wundreaktionen der Bäume getestet: Welche der drei häufig mit europäischen Fichtenborkenkäfern vergesellschafteten Pilzarten *Grosmannia penicillata, Endoconidiophora polonica und Leptographium sp.* zeigt die markantesten Symptome? Hat die Schädigung durch den Blattwespenfraß Einfluss auf durch Pilzinokulate hervorgerufene Nekrosen? Um festzustellen wie gut konstitutive und induzierte Abwehrmechanismen funktionieren, wurde vor und nach der Inokulation mit Bläuepilzen der Harzfluss der Bäume in Abhängigkeit von verschiedenen Befallsklassen erhoben.

Auch die Entwicklung der Nymphen wird untersucht: Wie hat sich die Belagsdichte im Boden bis zum Frühjahr 2017 entwickelt? Haben Tiere, die direkt nach der Entnahme aus Waldboden untersucht wurden und dort Temperaturschwankungen unterlegen haben, andere biochemische Eigenschaften als solche, die nach der Entnahme unter kontrollierten Bedingungen im Labor aufgewachsen sind?

2. Die Fichtengespinstblattwespe Cephalcia abietis (L.)

2.1. Verbreitung

Die Fichtengespinstblattwespe *C. abietis L.* besitzt ein Verbreitungsgebiet, das sich von Mitteleuropa bis Skandinavien und Sibirien erstreckt. Da die Larven monophag an der Fichte *Picea abies (L.)* fressen, sind gleichaltrige Reinbestände besonders für Befall prädisponiert (Nopp und Führer, 2001). Meistens werden Bäume in einem Bestandesalter zwischen 60 und 120 Jahren befallen, im Falle von Massenvermehrungen sind selten auch Stangenhölzer und Kulturen betroffen (Pausch, 1987). Bevorzugt werden submontane bis mittelmontane Lagen, also Seehöhen zwischen 600 und 1000 m (Pausch, 1987; Nopp und Führer, 2001). Massenvermehrungen werden vor allem in europäischen Mittelgebirgen beobachtet. Die Arbeiten von Eichhorn (1986, 1990) führen als Beispiele Erz- und Riesengebirge und das Waldviertel in Niederösterreich in den 50er und 60er Jahren des letzten Jahrhunderts an. In ebendiesen Arbeiten werden auch schwere Schäden im Oberpfälzer und Bayerischen Wald in den 1970er Jahren erwähnt.

2.2. Biologie

Morphologie

Die Pflanzenwespe *C. abietis L.* ist im Deutschen unter den Namen Große oder Gemeine Fichtengespinstblattwespe bekannt. Sie zählt zur Familie der Gespinstblattwespen (Pamphiliidae), die wiederum der Ordnung der Hautflügler (Hymenoptera) unterstellt ist. Der Kopf der adulten Tiere ist schwarz gefärbt ist und weist im Antennen- und Wangenbereich rötliche Flecken auf. Auf dem ebenso schwarzen Thorax findet sich ein gelbes Scutellum. Neben einem rötlichbraunen Abdomen sind noch verschiedene Brauntöne bei Flügelgeäder und Stigmen bekannt. Die Körpergrößen liegen zwischen 11-14 mm (Eichhorn et al., 1982).

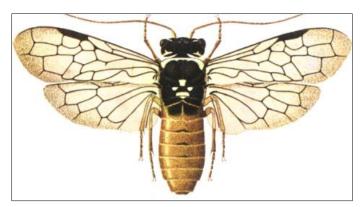




Abbildung 1: Adulte weibliche C.abietis-Wespe (oben) im Vergleich zur adulten männlichen C.abietis- Wespe (unten)

Da die adulten Männchen bis zu zwei Wochen vor den Weibchen aus dem Boden schlüpfen, spricht man von einer ausgeprägten Protandrie bei C. abietis. Bei adulten Weibchen ist der Kopf sehr groß und der Hinterleib in der Schwärmzeit prall mit Eiern gefüllt, wodurch sie nicht fliegen können, sondern zur Eiablage am Fichtenstamm entlang in die Krone klettern müssen. Die Männchen können deutlich besser fliegen (Eichhorn et al., 1982). Weibchen können an Hängen lediglich die Luftströmung nutzen, um zur nächsten Krone zu gelangen (Gober, 2017).

Schwärmflug, Paarung und Eiablage

Sehr rasch nach dem Schlupf, oftmals noch in Bodennähe, erfolgt die Paarung, bei der ein Weibchen von mehreren Männchen begattet wird. Der Schwärmflug ist mehr an das Wetter als an den Tagesrhythmus gebunden. Bei warm-trockener Witterung fällt er entsprechend lebhaft aus, während sich die adulten Tiere bei feucht kühler Witterung eher verkriechen oder träge herumsitzen. Bei Weibchen ist mit einer Lebensdauer von bis zu 4 Wochen, bei Männchen maximal mit 15 Tagen zu rechnen. Der Schwärmflug dauert somit etwa zwischen 2 und 4 Wochen (Eichhorn et al., 1982) und findet bei rauen Witterungsbedingungen im Juni seinen Höhepunkt (Nopp und Führer, 2001).

Als durchschnittliche Zahl werden 100 Eier pro Weibchen angegeben (Nopp und Führer, 2001; Petercord und Lemme, 2010). Diese sind walzenförmig mit runden Enden, grünlich gefärbt, mit einer Größe von ca. 2,3 x 1,1 mm. In Abhängigkeit von den Witterungsbedingungen und dem Einfluss von Gegenspielern werden 30-50 Eier abgelegt. Die unbefruchteten Eier entwickeln sich zu Männchen, befruchtete Eier zu Weibchen (Nopp und Führer, 2001). Dieser Vorgang wird arrhenotoke Parthenogenese bezeichnet. Die Eier werden von den Weibchen an einen wärmebegünstigten Ort (oberer Kronenbereich, südlicher Bestandesrand) vorwiegend an alten Nadeln abgelegt (vgl. Abb. 2). Das Weibchen sägt dabei Schlitze in die Nadel und klemmt die Eier hinein (Eichhorn et al., 1982). Grundsätzlich kommen alle vier Nadelseiten in Frage, bevorzugt wird jedoch die wärmebegünstigte

Nadeloberseite. Die Nadeln werden mit 1-12 Eiern belegt, aus denen nach 2-4 Wochen die Larven schlüpfen. Durch das Belegen in Reihen bilden die Eier in ihren unterschiedlichen Entwicklungsstadien mehr oder weniger vollständige Ringe um die Nadel (Eichhorn, 1982).



Abbildung 2: Mit Eiern von C. abietis belegte Nadel

Fraß der Larven

Die Larven legen in der nächsten Zweiggabel sogenannte Wohnröhren an oder bei hoher Dichte an der Zweigunterseite das namensgebende Gespinst, das ballen- bis wurstförmig ausfallen kann (vgl. Abb. 3).



Abbildung 3: Fraßschaden an einem Fichtenzweig mit Gespinsten

Von dort spinnen sie Fäden, die zur Fortbewegung genutzt werden und dazu dienen die Nadeln in das Gespinst zu ziehen. Geschützt und gesellig werden dort von den Larven bis zu 8 bevorzugt alte Nadeln gefressen. Da die Nadeln nicht zur Gänze gefressen werden, vergilben bzw. verbräunen die Reste und bilden zusammen mit dem Kot der Larven die typisch graubraune Farbe der Gespinste. Eichhorn et al. (1982) schätzen die Verluste auf 20%. Der Fraß der Larven dauert 6-8 Wochen und wird von mehreren Häutungen begleitet. Die Männchen durchlaufen 4, die Weibchen 5 Stadien. Eine warm-trockene Witterung während des Larvenfraßes wirkt sich verkürzend auf die Entwicklungsdauer aus (Eichhorn, 1982). Mit der letzten Häutung wird ein Farbwechsel zu Grün bzw. Goldgelb vollzogen und die Spinnfähigkeit der Larven geht verloren. Das Vorliegen leuchtend gelber und grüner Individuen während des Nymphen- und Puppenstadiums wird als Farbpolymorphismus bezeichnet. Etwa 2-5% der Individuen einer Population sind goldgelb gefärbt (Eichhorn, 1982). Die Gelbfärbung wird rezessiv vererbt (Gruppe, 1995).

Nymphenstadien

Im Spätsommer verlassen die Larven ihr Gespinst und lassen sich zu Boden fallen. Sie werden nun als Nymphen bezeichnet und graben sich 5-20 cm tief in den Boden ein, um dort gekrümmt in einem selbst gefertigten Erdhöhlchen zu überwintern. Diese Nymphen heißen in ihrem ersten Stadium Eonymphen und entwickeln sich anschließend zu Pronymphen weiter, die durch das sogenannte Adult- oder Sommerauge charakterisiert sind (Baier, 1990). Man unterscheidet 4 Entwicklungsstadien mit fortschreitender Ausbildung des Auges. Nach dem letzten Stadium der Pronymphe verpuppen sich die Tiere und schlüpfen im Mai oder Juni als adulte Wespen. Zwischen dem Eo- und Pronymphenstadium bzw. dem Pronymphen- und Puppenstadium wird eine Diapause eingelegt, die eine Spreitung der Generationsdauer von 1-3 Jahren, im Extremfall sogar 4 oder mehr Jahre in ein und derselben Population verursacht. Die Dauer dieser Diapause wird vom Temperaturregime während des Fraßes und im Erdlager bestimmt. 13 Grad Celsius Bodentemperatur sind der Schwellenwert, bei dem noch eine Weiterentwicklung zur Pronymphe erfolgt (Baier, 1994 zitiert von Nopp und Führer, 2001). Bei Temperaturen darunter ruht die Entwicklung. Früh abgebaumte Larven (August) sind eventuell in der Lage im selben Jahr alle 4 Pronymphenstadien zu durchlaufen und sich nach dem Kältereiz im Winter im folgenden Frühjahr zur Puppe und zur adulten Wespe zu entwickeln. Sie werden Subitanentwickler genannt.

2.3. Populationsregulierende Faktoren

Von den abiotischen Faktoren spielen Temperatur und Niederschlag eine wichtige Rolle. Während Wärme und Trockenheit sich auf Schwärmflug, Ei- und Larvenentwicklung positiv auswirkt, kann

kaltes und regnerisches Wetter in allen Phasen von der Eiablage bis zu Larven und Nymphen die Populationsentwicklung hemmen.

Die biotische Regulation erfolgt zumeist durch oligophage Parasiten (Nopp und Führer, 2001). Sie treten im Ei-, Larven- und Nymphenstadium von *Cephalcia* auf. Puppen und Imaginalparasiten treten nicht auf, was wahrscheinlich daran liegt, dass nur gesunde Nymphen sich in diese Stadien weiterentwickeln. Der Befall erfolgt am Baum, also in den Ei- und Larvenstadien. In den Nymphenstadien haben die Parasiten im Inneren des Wirtstieres überdauert. Eine solche Diapause ist typisch für *Trichogramma*-Arten, die als häufige Larvenparasiten angegeben werden (Eichhorn, 1982; Nopp & Führer, 2001). In Seehöhen über 800 m werden beispielsweise *Trichogramma cephalciae* Parasitierungsraten von bis zu 90% zugeschrieben. Eichhorn (1986) nennt zudem noch 10 verschiedene Arten der Familie der Ichneumonidae, die *C.abietis* parasitieren können. Bei Pronymphen wurde die Tachine *Myxexoristops abietis* (Herting) häufig gefunden (Antonitsch, 2017).

In Jahren mit hohen Dichten der Parasiten traten geringe Wirtsdichten auf, die Wirkung der Parasiten ist umgekehrt dichteabhängig. Es werden auch potentielle Gegenspieler der Fichtengespinstblattwespe parasitiert. Durch den Wirtswechsel jedoch können sie in der Latenzphase von *C. abietis* in höherer Zahl überdauern und sind somit in der Lage bei Massenvermehrungen rascher wirksam zu werden.

Der Nematodenart *Steinernema kraussei* wird eine wichtige Bedeutung als Gegenspieler der Nymphen im Boden zugeschrieben (Führer und Fischer, 1994 in Nopp und Führer, 2001). Unter günstigen Feuchteverhältnissen und pH-Werten zwischen 5,0 und 7,0 sollen sie bis zu 30% der Nymphen parasitieren können. Die Nymphen sterben binnen 48 Stunden durch eine Sepsis von übertragenen Bakterien, die Entwicklung zu geschlechtsreifen Tieren beginnt kurz vor dem Tod des Wirts und erfolgt bei 22-25°C in etwa 96 weiteren Stunden. Durch dieses enge Zeitfenster ist ein Nachweis entsprechend schwierig. Aber die niedrigen pH-Werte zwischen 3,6 und 4,1 lassen den Schluss zu, dass Nematoden auf der Befallsfläche keine wirksamen Antagonisten sind (Gober, 2017 und Zelinka, 2017).

In Bezug auf Pilze berichten Nopp und Führer (2001), dass sie sehr variabel auf vorliegende Temperatur- und Feuchtebedingungen reagieren: Im südlichen Waldviertel konnte 1977 von Kurir eine Verpilzungsrate von 24% beobachtet werden. In den Vorgängerarbeiten dieser Arbeit wurde kein bedeutender Einfluss von Pilzen festgestellt (Antonitsch, 2017).

Auch Prädation durch im Boden wühlendes Schwarzwild kann die Population von *C.abietis* dezimieren. Betroffen sind vor allem die Auflagehorizonte des Waldbodens (Baier und Otto, 2000).

Das Schwarzwild vertilgt etwa ein Viertel der Ruhelarven, was dem Anteil entspricht, der in diesen Schichten überliegt. Die Imagines werden von Waldameisen und Spinnen, die Eier von Kamelhalsfliegen oder Marienkäferlarven und die Larven von Vögeln gefressen (Nopp und Führer, 2001).

2.4. Forstliche Bedeutung

Ein starker Befall durch die Fichtengespinstblattwespe führt zu einem Lichtfraß der Kronen, der in der Regel nicht letal, sondern nur zuwachsreduzierend wirkt (Nopp und Führer, 2001). Bei sehr hohen Dichten (über 1000 N./ m²) können bis zu 70% der Nadeln gefressen werden. Ab 200 Nymphen pro m² ist der Lichtfraß deutlich erkennbar (Eichhorn, 1982). Diese Dichte wird als kritischer Wert angegeben (Zelinka, 2017). Wiederholt sich der Lichtfraß oder folgt ein Trockenjahr muss mit dem Absterben von Bestandesteilen oder ganzen Beständen gerechnet werden (Nopp und Führer, 2001). Vor allem bei günstiger Nahrungsqualität und –quantität treten schon bei 20 Nymphen pro m² Schäden auf (Baier und Otto, 2000).

Während die Provenienz von Fichte keinen Einfluss auf die Gradationen von *C. abietis* hat (Eichhorn, 1990), werden sie in Gebieten, in denen die Fichte Klimastress ausgesetzt ist (z.B. außerhalb des natürlichen Verbreitungsgebiets, hohe Umweltbelastungen), häufiger beobachtet. Ein weiterer Faktor der Prädisposition ist auch die Geländemorphologie: Durch Wasserabfuhr besteht im Oberhang Trockenstress und damit eine geringere Nahrungsqualität der Nadeln, während die Nymphen in der Muldenlage durch die Feuchtigkeit und die Windberuhigung anfällig für Mykosen sind (Nopp und Führer, 2001).

Höchste Wichtigkeit in der Befallsdisposition ist den Baumartenanteilen im Bestand zuzuschreiben. In Fichtenreinbeständen kommt es durch Kronenverlichtung zu Temperaturzunahmen im Kronenraum und am Boden, was wiederum die Entwicklung der Nymphen beschleunigt und damit begünstigend auf die Schadintensität wirkt (vgl. Kapitel Biologie). Durch die Beimischung von Laubholz wird die Streu basischer und feuchter, somit wird die Entwicklung von Nematoden und entomopathogenen Pilzen als natürlichen Gegenspielern der Nymphen im Boden begünstigt.

Im Sinn des Forstschutzes ist es problematisch, dass der Lichtfraß die Abwehr der Fichte schwächt und vor allem in warm-trockenen Jahren mit dem Befall von Sekundärschädlingen, wie Borkenkäfern, gerechnet werden muss (Pausch, 1987). Finanzielle Einbußen für den Waldeigentümer entstehen, wenn Bekämpfungsmaßnahmen nötig werden oder durch die Infektion der Stämme mit Bläuepilzen eine Holzentwertung stattfindet.

Baier und Otto (2000) beschreiben darüber hinaus das Zusammenwirken von Immissionseinflüssen und dem Fraß der Fichtengespinstblattwespe der in den 1980er Jahren etwa 20% des Thüringer Waldes zum Absterben brachte. Es wurde beobachtet, dass der Fraß aufgrund der schlechten bzw. fehlenden Nadeln damals auch auf die Maitriebe ausgeweitet wurde. Heutzutage scheint diese Bedrohung unwahrscheinlich, da durch Umweltschutzgesetze der Schadstoffausstoß deutlich reduziert und der Waldzustand verbessert werden konnte.

Da die kritischen Zahlen so schwer abschätzbar sind, nimmt die Prognose einen umso höheren Stellenwert ein: Pausch (1987) empfiehlt sowohl die genaue Beobachtung des Schwärmflugs als auch die Fällung von Probebäumen, um Zahl und Gesundheitszustand der Eier zu überprüfen. Baier und Otto (2000) geben als kritische Zahl, bei der eine Bekämpfung diskutiert werden soll, 5 Gelege pro Probezweig an. Ein Einsatz von Insektiziden zur Bekämpfung wird von Pausch (1987) als nicht sinnvoll erachtet, da in Frage kommende Mittel, wie der Häutungshemmer Dimilin, unspezifisch wirken und damit auch Gegenspieler dezimieren. So würde eine Massenvermehrung der Gespinstblattwespen eher begünstigt werden. Heute ist Dimilin nicht mehr zugelassen und könnte nur mit Ausnahmegenehmigung eingesetzt werden, wenn Gefahr im Verzug ist.

3. Abwehrmechanismen der Fichte gegenüber Borkenkäfern

Da die Fichten durch den Fraß der Larven einen mehr oder weniger bedeutenden Teil ihrer für die Photosynthese zuständigen Nadeln einbüßen, ist zu vermuten, dass sie dadurch geschwächt werden. Besonders stark befallene Bäume könnten weniger Reservestoffe zu Verfügung haben und dadurch eine geschwächte Abwehr zeigen, was den Befall für Borkenkäfer deutlich erleichtert.

3.1. Konstitutive und induzierte Abwehr

Koniferen sind auf der Erde weit verbreitet. Sie wachsen auf allen Kontinenten außer der Antarktis und umfassen circa 600 Arten. Einen wichtigen Anteil macht die Gattung *Picea*, die Fichten, mit rund 50 Arten aus. Weil sie sehr geringe Ansprüche an ihren Standort stellt und ihr Holz vielseitig verwendbar ist, ist die Europäische Fichte, *Picea abies* (L.) Karst., von großer wirtschaftlicher Bedeutung (Nagy, 2002). In Gebieten mit kühl-feuchtem Klima gedeiht sie am besten. Wird sie abseits ihres Verbreitungsoptimums künstlich in Monokulturen angebaut, ist sie Stressfaktoren ausgesetzt und wird anfällig für abiotische und biotische Schaderreger. Pathogene oder Pilze können sich auf verschiedenen Wegen in einem Baum etablieren: Es kommt ein aktives oder passives

Eindringen mithilfe der natürlichen Öffnungen, zum Beispiel der Stomata oder Lentizellen genauso in Frage wie das Eindringen mithilfe des Vektors Borkenkäfer (Nagy 2002; Franceschi et al., 2005).

Die Abwehrreaktion von Koniferen wird in vier Stufen unterteilt: Ziel ist, den Eindringling mechanisch abzuwehren, und wenn das nicht erfolgreich war, ihn abzuschotten oder abzutöten (Franceschi et al., 2005). Nach einer Attacke muss der verursachte Schaden repariert und die Abwehr für zukünftige Angriffe adaptiert werden. Eine intakte Abwehr besteht aus konstitutiven und induzierten Mechanismen.

Unter konstitutiver Abwehr versteht man eine fixe Investition. Sie "versichert" das nährstoff- und energiereiche Phloem und den Saftstrom im Splintholz gegen Schäden (Franceschi et al., 2005). Dieser Abwehrmechanismus ist als Prävention des Baumes gegen Borkenkäferattacken zu verstehen (Lieutier, 2004) und ändert sich nach einem abgewehrten Angriff nicht.

Mechanische Schutzmechanismen umfassen die Imprägnierung empfindlicher Zellen mit Lignin und Suberin, die das Gewebe gegen bohrende, beißende oder saugende Insekten widerstandsfähiger machen. Bei der chemischen Reaktion werden mit dem Ausfließen des Primärharzes gespeicherte Sekundärstoffe, zum Beispiel Terpen, freigesetzt (Franceschi et al., 2005).

Die wichtigsten Bestandteile des Harzes sind Terpene und Polyphenole, die für Borkenkäfer und Pilze toxisch wirken. Das Harz fließt in Harzkanälen, langgestreckten und röhrenförmigen interzellulären Räumen (Parenchymzellen), die mit Epithelzellen ausgekleidet sind. Diese bilden das Harz und sondern es unter Druck in das axial und radial verlaufende Harzkanalsystem ab. Das Harzgangsystem ist ein unabhängiges, axial verlaufendes Röhrensystem. Wenn durch das sekundäre Dickenwachstum Periderm gebildet wird, wird das Harzgangsystem vom Phloem abgeschnürt und das Harz trocknet ein bzw. bildet an besonders gedehnten Stellen sogenannte Harzgallen (Pollak, 1993). Durch den Harzfluss wird einerseits die durch den Insektenfraß entstandene Wunde gereinigt, andererseits werden die Mundwerkzeuge von sich einbohrenden Käfern verklebt bzw. die Tiere gänzlich ausgeschwemmt. Beobachtungen haben ergeben, dass jenseits einer baumindividuellen, kritischen Zahl von Borkenkäfer-Attacken die Menge an ausgetretenem Harz je Bohrloch sinkt und damit die Wirksamkeit der Wundreinigung nachlässt (Christiansen und Hornvedt, 1983). Seine Wirksamkeit hängt auch von der Geometrie des Borkenkäferbrutbilds ab. Vertikale Muttergänge, wie sie beim häufigsten europäischen Borkenkäfer, dem Buchdrucker Ips typographus vorkommen, werden weniger stark von den hauptsächlich axial verlaufenden Harzkanälen beeinflusst. Nicht nur die Befallsdichte beeinflusst den Einbohrerfolg der Käfer, sondern auch chemisch-physikalische Eigenschaften des Harzes, wie Viskosität und Harzdruck. Der konstitutive Harzfluss in eine Brutanlage verhält sich direkt proportional zur Menge des Harzes in den Harzkanälen und zum Harzdruck

(Berryman et al., 1989). Klimatische Bedingungen, vor allem die Temperatur, haben Auswirkung auf die Abwehrkraft der Bäume. Insbesondere die Wasserversorgung von Fichten, die mit Hilfe der Parameter Zweigwasserpotenzial oder Wassergehalt der Nadeln eingeschätzt werden kann, spielt eine Rolle für die Harzbildung (Pollak, 1993).

Induzierte Abwehrmechanismen hingegen sind zum Teil direkt gegen einen Angreifer gerichtet und umfassen strukturelle Veränderungen der Harzkanäle und chemische Veränderungen in der Zusammensetzung des Harzes. Es handelt sich im Vergleich zur Primärharzbildung um eine spezifische Reaktion auf den Angriff (Lieutier, 2004).

Der von Borkenkäferattacken betroffene Baum kann das zerstörte Gewebe durch Zelldegeneration isolieren und dadurch dem Angreifer die im Gewebe enthaltenen Nährstoffe vorenthalten und so dessen Ausbreitung behindern. Im Kambium wird so eine meist elliptische Wunde, die sogenannte Nekrose verursacht (hypersensitive Wundreaktion). Je kleiner eine solche Nekrose ausfällt, desto wirksamer funktioniert die induzierte Abwehr (Lusebrink et al., 2016). Die Bildung eines Wundperiderms ermöglicht schließlich Wundverschluss und Wundheilung (Lieutier, 2004). Dazu wird Kallusgewebe mit Lignin und Suberin angereichert und mit Phenolen imprägniert, um eine wirkungsvolle mechanische und chemische Barriere zu bilden (Franceschi et al., 2005). Das Kallusgewebe ist teilungsfähig und kann das frühere Gewebe ersetzen.

Zusätzlich ist eine besonders rasche Lignifizierung von Holzfasern möglich, die sonst erst 3 Jahre nach der Faserbildung erfolgt. Bei Ligninen handelt es sich um organische Polymere, die die Zellen gegenüber mechanischen Einflüssen widerstandsfähiger machen und die Verteilung von Enzymen und Giften der Pathogene verhindern (Nagy, 2002; Lieutier, 2004). Insektenlarven sind in der Regel nicht in der Lage Lignin und Cellulosen bzw. Hemicellulosen zu verdauen (Kirisits, 2004).

Zum chemischen Teil der induzierten Abwehr zählt die aktive Bildung von Sekundärharz (Christiansen und Hornvedt, 1983; Nagy, 2002). Während die Rinde gesunder Fichten etwa 1% Harz enthält, kann der Harzanteil durch die Bildung von traumatischen Harzkanälen nach Borkenkäferbefall auf 10%, in Extremfällen auf bis zu 30% steigen. Die phenolischen Inhaltsstoffe, Mono- und Sesquiterpene, haben den Vorteil, dass sie sehr rasch verfügbar sind, da ihre Vorstufen bereits vorhanden sind und nur mobilisiert werden müssen. Weil Phenole, die eigentlich vor UV-Strahlung und freien Radikalen schützen, für Pathogene toxisch wirken und teils Enzyme der Schadorganismen binden, tragen sie erheblich zur Isolation des Angreifers bei. Proteinbasierte Verbindungen müssen erst über Genaktivität gebildet werden und sind daher wesentlich später einsatzfähig (Franceschi et al., 2005). Da die Abwehrstoffe den Stoffwechsel stark beanspruchen, hängt ihre Wirksamkeit von der Verfügbarkeit an Photosyntheseprodukten ab und fällt bei Borkenkäferinvasionen pro

Inokulationspunkt entsprechend schwächer aus. Es wird vermutet, dass die Fähigkeit Sekundärharz zu produzieren mit dem Alter des Baumes sinkt, weil in der Rinde der Kohlenhydratgehalt abnimmt (Christiansen und Hornvedt, 1983). Die Wirksamkeit des Sekundärharzes hängt vom aktuellen Zustand des Baums und weiteren abiotischen Stressoren (z.B. Trockenheit) ab, auch saisonale Schwankungen treten auf (Franceschi et al., 2005).

Der Erfolg einer hypersensitiven Wundreaktion wird von der Reaktionsgeschwindigkeit und dem Ausmaß der Reaktion des Einzelbaumes, der Konzentration der Phenole in der Wunde und der Virulenz des Erregers bestimmt (Raffa und Berryman, 1983; Nagy, 2002; Netherer et al., 2016). Auffällig ist, dass sich verschiedene Fichtenklone in ihrer Widerstandskraft deutlich unterscheiden (Christiansen et al., 1999).

Den Abwehrreaktionen der Bäume wirken noch die Reaktionen der Bläuepilze (Wadke et al., 2016) entgegen. Kurzfristig verfügbare Abwehrmechanismen, wie Polyphenole, sind sehr kohlenstoffreich. Nur in den Epithelzellen, die traumatische Harzkanäle begrenzen, können sie mit einem Enzym (Isoprenyldiphosphat-Synthase) gebildet werden. An den neuen Harzkanälen im Kambium der Fichte werden nach Borkenkäferbefall sogenannte Steinzellen, welche Proanthocyanidine und Stilbenglycoside (polyphenolische Wirkstoffe) enthalten, gebildet. Sie werden aufgrund ihrer antifungalen Wirkung kurzzeitig bei Pilzinfektionen angereichert (Schmidt et al., 2013). Bei einer Infektion zwölfjähriger Fichten mit virulenten Bläuepilzen wurde eine erhöhte Konzentration des Enzyms Stilben-Synthase, aber zugleich ein Rückgang der Konzentrationen an Polyphenolen und Terpenen in infizierten Geweben nachgewiesen (Wadke et al., 2016). Mithilfe von Enzymen gelingt es offenbar dem Pilz in mehreren Stufen Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Hydrid (NADH), das sogenannte Coenzym 1, herzustellen. So konnte gezeigt werden, dass sich der Bläuepilz E. polonica die kohlenstoffreichen Abwehrstoffe zur Energiegewinnung zu Nutze macht. Insbesondere Flavonoide, eine Klasse der Polyphenole, die mit Kohlenhydraten eng verknüpft ist, wurden in Pilzzellen nachgewiesen (Wadke et al., 2016). Die Reduktion des Polyphenolgehalts wirkt sich entsprechend positiv auf die Nahrungsqualität der Borkenkäferlarven aus und wird als Grundlage für deren Vergesellschaftung mit den Bläuepilzen gesehen.

3.2. Vergesellschaftung von Borkenkäfern mit Bläuepilzen

Sowohl rinden- als auch holzbrütende Borkenkäfer sind eng mit Pilzen vergesellschaftet. Ganz allgemein wird die Gruppe der ophiostomaiden Pilze, zu der die Gattungen *Ceratocystis,*Ceratocystiopsis und Ophiostoma und verwandte Gattungen wie Leptographium zählen, als

"Bläuepilze" bezeichnet, weil sie in ihrem Wirt eine blaue, braune, graue oder gar schwarze Färbung des Splintholzes verursachen (Franceschi et al., 2005). So entsteht durch Hyphenwuchs in den Parenchymzellen der Holzstrahlen mit der Bläue in erster Linie ein wirtschaftlicher Schaden (Austrocknung und Risse). Diese Pilzarten gehören zu den Schlauchpilzen (Ascomyceten).

Bei den Borkenkäfern können zwei Gruppen hinsichtlich ihrer Verbindung mit Pilzen unterschieden werden: Bei lose mit Pilzen vergesellschafteten Borkenkäfern trägt nur ein geringer Anteil der Tiere Pilzsporen, während bei intim mit Pilzen verbundenen Borkenkäfern ein hoher Anteil der Population Sporen überträgt, die aus einem ganzen Spektrum der mit der Art vergesellschafteten Pilzen stammen können. Es besteht also keine eindeutige Käfer-Pilz Beziehung. Übertragen bedeutet hier, dass Drüsen oder Sekretzellen auf der Epidermis des Käfers dazu dienen die Sporen zu speichern und zu transportieren, um sie in Phloem und Splintholz der Wirtsbäume zu übertragen (Kirisits, 2004).

Die Pilze nutzen in den lebenden Parenchymzellen gespeicherte Assimilate und können bei einem Holzfeuchtegehalt zwischen 30 und 140% im Splintholz wachsen. Aufgrund der Kolonisierung der Parenchymzellen kommt es zu einem Abreißen des Saftstroms, das heißt der Wasser- und Nährstofftransport des Baumes wird unterbunden. Um die Verbreitung des Pilzes zu verhindern, schließt der Baum seine Tracheiden und das Absterben wird beschleunigt (Kirisits, 2004). Es ist bekannt, dass eine künstliche Masseninokulation vitale Fichten zum Absterben bringt (Christiansen und Hornvedt, 1983; Repe et al., 2015).

Der Pilz kann mithilfe des Borkenkäfers vitale Bäume befallen und sich so einen neuen Lebensraum erschließen. Inwiefern der Käfer vom Pilz profitiert ist bis heute noch nicht völlig geklärt. Am wahrscheinlichsten dient der Pilz dazu, die Baumabwehr für den Käfer nachhaltig zu schwächen. Eine weitere Hilfeleistung besteht darin, dass die ophiostomaiden Pilze die Produktion der Antiaggregationspheromone (z.B. Verbenon) unterstützen, um angelockten Borkenkäfern zu signalisieren, dass der Baum bereits mit genügend Bruten belegt ist und weitere Bruten keine Erfolgschance mehr hätten (Kirisits, 2004).

4. Material und Methoden

4.1. Befallsfläche

Die untersuchte Befallsfläche liegt im sogenannten Miniwald des Reviers Heubach, im Gebiet der Gemeinde Sallingberg etwa 15 km südlich von Zwettl, und umfasst einen 10,20 ha großen, heute 87-

jährigen Fichtenreinbestand (Operat des Stift Zwettl, 1980) auf einer Seehöhe zwischen 760 und 780m.

Um den Entwicklungsbedürfnissen der Gespinstblattwespe (Eingraben der Nymphen in den Boden) entgegenzutreten, wurde der ursprünglich sehr dichte und damit von jeglicher Bodenvegetation freie Bestand im September 2014 mit einem Lichtungshieb durchforstet. Seit dem Massenbefall durch die Fichtengespinstblattwespe im Jahr 2013 war etwas mehr als ein Jahr vergangen. Die Entnahme beschränkte sich hierbei auf die am stärksten geschädigten Fichten, brachte aber das Risiko mit sich, dass die innere Stabilität des Bestandes gefährdet wurde, weil die gegenseitige Stützwirkung der Bäume nicht mehr vorhanden war. Durch eine besondere Witterungskonstellation kam es Anfang Dezember 2014 zu massiven Eisbruchschäden (Steyrer et al., 2014).

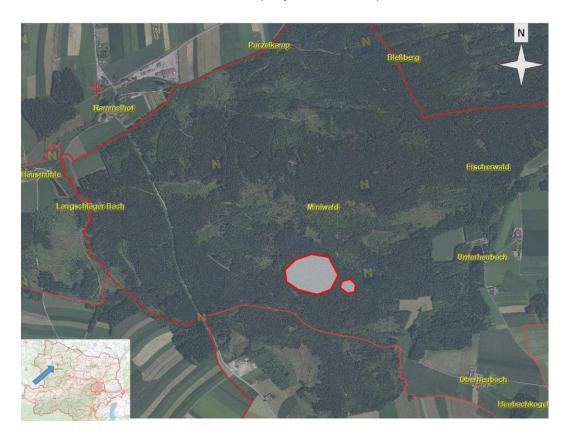


Abbildung 4: Kartenausschnitte aus dem Niederösterreich-Atlas

Die große Karte zeigt die Umgebung der Versuchsfläche (Maßstab 1:10.000), die kleine Karte (Maßstab 1:750.000) zeigt Niederösterreich, der blaue Pfeil die Lage der Versuchsfläche

Viele Bäume und ihre gebrochenen Kronen mussten aus Forstschutzgründen entfernt werden, da sie große Mengen an geeignetem Brutmaterial für Fichtenborkenkäfer geboten hätten. Dadurch kann der Fichtenbestand heute als locker- licht beschrieben werden und es hat sich fast durchgehend Bodenvegetation eingestellt. Die Karte (Abbildung 4) zeigt ein größeres Polygon, das die Befallsfläche darstellt und ein kleineres Polygon mit der abgetrennten Fläche mit unbefallenen Kontrollbäumen.

Eine Standortbeschreibung konnte mithilfe von Zeigerpflanzen erstellt werden. Dabei ist eine deutliche Zweiteilung erkennbar. Der südliche Teil des Bestands befindet sich auf einem flachen Höhenrücken. Dort waren Zeigerpflanzen, wie Drahtschmiele (*Deschampsia flexuosa*), Weißmoos (*Leucobrium glaucum*), oder die Weißliche Hainsimse (*Luzula luzuloides*) zu finden. Sie stehen im Zeigerartenökogramm (Ewald, 2007) für mäßig frische, stark saure Bedingungen. Im Nordteil des Bestands jedoch änderten sich die Verhältnisse zu wechselfeuchten, mäßig sauren Böden, das heißt von staunassen Bedingungen im Winter zu trockenen Bedingungen im Sommer. Die Bodenvegetation wie Flatterbinse (*Juncus effusus*) und Winkelsegge (*Carex remota*) oder das Schöne Frauenhaarmoos (*Polytrichum formosum*) zeigt dies an. Bestätigt wurden die Beobachtungen beim Ausheben der Bodenziegel für die Erhebung der Nymphendichte (Kapitel 4.5), die im Mineralboden Rostflecken als Zeichen von Staunässe zeigten und somit auf einen Pseudogley als Bodentyp schließen lassen. Im südlichen Bestandesteil lag als Humusform auch Rohhumus vor, dem im Mineralboden Podsol folgt.

4.2. Versuchsaufbau

Nach dem Massenbefall im Sommer 2013, wurden im Frühjahr 2014 erstmalig die Nymphendichten im Boden erhoben (Steyrer et al., 2014). Bei der Anlage des Versuchs wurde in Nord-Süd- und West-Ost-Richtung eine Reihe von Probebäumen ausgewiesen. Der jeweils östlichste Baum, Nummer 11, und südlichste Baum, Nummer 21, sollte durch eine Forststraße abgetrennt eine Kontrolle darstellen, da dort keine Fraßschäden sichtbar waren und kaum Nymphen im Boden gefunden worden waren. Am Schnittpunkt der beiden Probebaumreihen, dem Baum Nummer 2, wurden zwei Datenlogger installiert, um den Jahresgang von Boden- und Lufttemperatur aufzuzeichnen. Ebendort wurde 2014 auch der stärkste Befall (Schafellner et al., 2016) mit bis zu 1300 Ruhelarven pro m² erhoben. Im Befallszentrum wurden bei jedem Baum zwei Bodeneklektoren installiert, damit schlüpfende Wespen gefangen werden konnten, bei allen anderen Bäumen ein Bodeneklektor. Mitte Juli wurden alle Bodeneklektoren zu Fangtrichtern mit einem Durchmesser von 72 cm, was einer Kronenfläche von 0,5 m² entspricht, umgebaut, um die abbaumenden Larven zu erfassen.

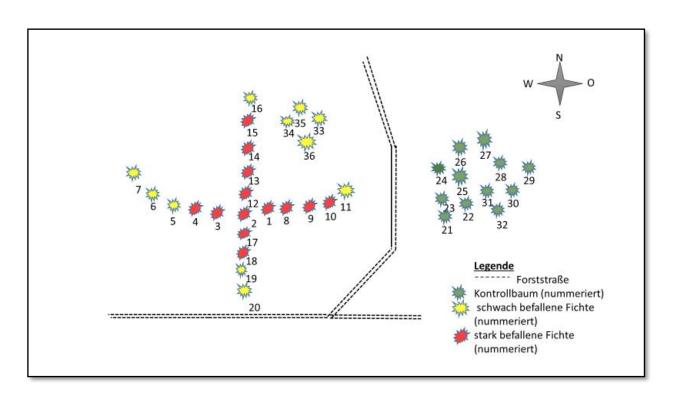
4.3. Einteilung der Fichten in Befallsklassen

Die im Bestand verbliebenen Fichten zu Beginn der Untersuchungen im Juli 2016 kaum sichtbaren Befall durch *C. abietis*. An beinahe allen Bäumen im Transekt waren nur vereinzelte, kleinere Gespinste zu erkennen.

Daher wurden die im Jahr 2013 beobachteten starken bzw. schwachen Nadelverluste sowie die im darauffolgenden Jahr 2014 erhobenen Nymphendichten zur Klassifizierung der Bäume herangezogen. Mit den Probebäumen 1-4, 8-10 und 12-18 (exklusive Baum 16) wurden der Kategorie "stark befallen" insgesamt 13 Fichten zugeordnet. Vier Probebäume am zuvor beschriebenen, staunassen Standort werden zusammen mit den übrigen Bäumen des Transekts der Befallsklasse "schwach befallen" zugeordnet. Probebaum Nummer 21 und weitere Nachbarbäume wurden nach Befall durch den Buchdrucker gefällt. Der frühere Probebaum Nummer 11 wurde daher zum neuen Baum Nummer 21. Dieser Baum und elf weitere Bäume ohne sichtbare Fraßspuren und mit einer sehr geringen Anzahl von Ruhelarven im Boden wurden als "Kontrollen" klassifiziert.

Abbildung 5: Skizze der Untersuchungsfläche mit den Bäumen der unterschiedlichen Befallsklassen

4.4. Baumphysiologische Parameter



Zur Beurteilung der Abwehrstärke der Fichten wurden Harzflussmessungen vor und nach der Inokulation der Bäume mit Bläuepilzen durchgeführt und die Ausmaße der Nekrosen nach der Inokulation aufgenommen.

4.4.1. Harzflussmessungen

Am 19.8., 30.09. und 19.10.2016 wurden an allen 36 Probebäumen Harzflussmessungen an gegenüberliegenden Stammseiten nach der Methode von Netherer et al. (2016) durchgeführt. Damit

konnte die Intensität des Harzflusses vor der Inokulation mit Bläuepilzen mit jener sechs und neun Wochen nach der Inokulation verglichen werden.

Der Messpunkt in 1,45 m Höhe am Stamm mit ausreichendem Abstand zwischen den späteren Pilzinokulationsstellen wurde mit Reißzwecken markiert. Um Strahlungsgegensätze zu vermeiden, die Einfluss auf die Viskosität des Harzes haben (Kraus, 1995), wurden die Messungen auf der Ost- und Westseite des Baumes angesetzt. Dazu wurde mit einem Holzbohrer aus Hochleistungsschnittstahl an der markierten Stelle bis zur Sichtbarkeit des Phloems gebohrt, die Borke und Rinde entfernt, und in die Bohrung ein beidseitig offenes Glasröhrchen mit einem Innendurchmesser von 3 mm und 120 mm Länge eingesetzt, so dass es fest saß und kein Harz zwischen Rinde und Glasröhrchen herausquellen konnte (Kraus, 1995). Es wurde darauf geachtet das Ablesen der Harzmenge in mm im Röhrchen in derselben Reihenfolge wie das Ausbringen der Röhrchen durchzuführen. Für den gewählten Zeitpunkt im Spätsommer wurde eine Messdauer von 14 Stunden über Nacht (von 18 Uhr bis 8 Uhr) eingehalten. Sowohl beim Aufbau des Versuchs als auch beim Ablesen des Füllstands mithilfe eines Meterstabs wurde die Zeit notiert, um die Harzflussrate in mm³ pro Stunde zu berechnen. War ein Röhrchen an der Basis trocken, galt dies als Harzfluss "0,0 mm".

Formel 1: Berechnung des Harzflusses in mm³/h

Harzfluss [mm³/h]:
$$\left(\frac{(1,5\text{mm})^2 \times \pi \times FS}{t}\right) \times 60$$

(t: Messzeit in Minuten; FS = Füllstand des Röhrchens in mm)

4.4.2. Inokulation mit Bläuepilzen

Zur Inokulation der 36 ausgewählten Fichten wurden *Endoconidiophora polonica* (Siemaszko), *Grosmannia penicillata* (Grosmann), *Leptographium sp.* und reiner Eschenblatt-Malzextrakt-Agar (Kontrolle) verwendet. Die Bläuepilze wurden in Plastik-Petrischalen mit 5,2 cm Durchmesser kultiviert und mit Eschenblatt-Malzextrakt-Agar überimpft, da sie im Vergleich zum Malzextrakt-Agar besser wachsen, und mit einem Korkbohrer (5,5 mm Durchmesser) zur einfacheren Entnahme vorgestanzt (siehe Abb. 6). Das Isolat von *E. polonica* wurde 1997 aus einem verblauten Stück Fichtensplintholz isoliert, auf das fünf Wochen zuvor Buchdrucker aus dem Urwald Rothwald (NÖ) angesetzt worden waren (Kirisits, 2004). *E. polonica* geht unspezifische Bindungen mit Borkenkäfern ein. *Grosmannia penicillata* stammt aus dem verblauten Splintholz eines gelagerten Fichtenblochs aus Lockenhaus (Burgenland) und wurde im August 2003 isoliert (Kirisits, pers. Mitteilung).

Grosmannia ist fast ausschließlich auf den Buchdrucker als Vektor angewiesen. Das Isolat von Leptographium sp. wurde im Jahr 1999 von einem Kupferstecher an einem Fichtenwipfelstück aus dem Kobernaußerwald (Oberösterreich) gewonnen (Kirisits, pers. Mitteilung). Eine permanante Kultivierung der einzelnen Isolate erfolgte durch Thomas Kirisits am Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz der Universität für Bodenkultur in Wien.



Abbildung 6: Petrischale mit Pilzmycel, das für den Versuch mit Eschenblatt-Malzextrakt-Agar überimpft wurde

Zur Inokulierung der Probebäume wurden zunächst zwei Inokulationsringe in 1,20 m bzw. 1,70 m am Stamm mit farbigen Reißzwecken markiert. Am 19.08.2016 wurden die Isolate in mit einem 7 mm Korkbohrer bis zur Splintoberfläche gebohrte Öffnungen mit der Myzelseite zum Splint ausgebracht und mit den zuvor ausgestochenen Rindenpropfen verschlossen. Pilzmycelien und Kontrollagar wurden bei jedem Probebaum zufällig einer der vier kardinalen Richtungen (N,O,S,W) zugeteilt. Nach jeder Inokulation wurden Werkzeug, Korkbohrer und Pinzette mithilfe von Alkohol und Hitze sterilisiert (Netherer et al., 2016). Am 30.09. und 01.10.2016 erfolgte dann das Abpausen der Wundnekroseflächen. Dazu musste die Rinde über den Reaktionszonen mit einem Rindenhobel vorsichtig entfernt werden. Über die Nekrosefläche wurde eine transparente Folie gelegt und die Ränder der Flächen mit einem Permanentstift auf die Folie abgepaust. Danach wurde die Wunde verschlossen.

Im Labor wurden die mit Baumnummern und Pilznamen beschrifteten Folien wurden gescannt und in die Daten mit dem Programm DatInf [®] Measure ; Version 2.1d (DatInf GmbH, Tübingen, Deutschland) ausgewertet. Hier wurde zunächst ein Maßstab in Zentimeterauflösung angelegt und

die Reaktionszone mit der Funktion "Polygon zeichnen" nachgezeichnet. Damit war eine Ausgabe der Fläche, der Länge und der Breite der Reaktionszonen in cm² beziehungsweise cm möglich. Die Länge wurde als die maximale vertikale Ausdehnung und die Breite als die rechtwinklig zur Länge abgehende, maximale horizontale Ausdehnung interpretiert (vgl. Abbildung 7c). Die Auswertung bzw. die Berechnungen von Korrelationen erfolgte mit dem Mittelwert beider Inokulationsringe, der jede Pilzart und die Kontrolle jeweils einmal enthielt.

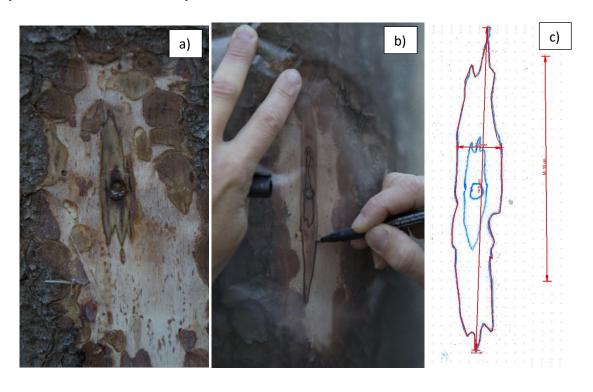


Abbildung 7a, b und c: Eine mit dem Rindenhobel freigelegte Reaktionszone, Abzeichnen der Rinde auf transparente Folie, Flächen-Längen- und Breitenbestimmung mit dem Programm Measure

4.5. Erhebung der Belagsdichte der Nymphen im Boden

An jedem der 36 Probebäume wurde am 19.10.2016 und 17.05.2017 eine Grabung durchgeführt. Dazu wurde eine Fläche von 33 cm x 30 cm (= ca. 0,1 m²) mit dem Spaten ausgehoben (vgl. Abb. 8). Der ausgestochene, spatenbreite Ziegel wurde auf einer Plastikfolie abgelegt und vorsichtig durchsucht, größere Erdklumpen zerbröselt. Die aufgefundenen Nymphen wurden für jede Grabung in einem Plastikbeutel (Baumnummer und Anzahl der gefundenen Tiere) mit etwas gesiebter Erde gesammelt und ins Institutslabor gebracht. Dort wurden die Nymphen mit Leitungswasser (Sprühflasche) gespült, auf Küchenpapier getrocknet und gewogen. Anhand der Ergebnisse der Bodenprobenahmen wurde die Dichte pro m² berechnet (n Nymphen je Probe x 10).



Abbildung 8: Bodenprobenahme zur Erhebung der Nymphendichte am 17.05.2017

4.6. Erhebung des Energiestatus der Nymphen

Die aus den Baumkronen im Spätsommer und Herbst 2016 abgebaumten Larven wurden in großen, mit Waldbodensubstrat befüllten Kisten knapp fünf Monate (19.08.16- 18.01.17) bei konstant 15±1°C und 60% relativer Luftfeuchte im Klimaschrank (Liebherr) im Dunkeln gelagert. Sie wurden, wie die Ruhelarven aus der Sammlung vom 19.10.2016 nach ihrer Entnahme Mitte Jänner 2017, gewaschen, mit Küchenpapier getrocknet, und das Frischgewicht mit einer Mikrowaage (METTLER TOLEO MT5) auf 0,01 mg genau bestimmt. Zusätzlich wurde ihr Entwicklungsstatus (Eo- oder Pronymphe) erhoben und ihre Körperfarbe notiert. Nur leuchtend gelben Tieren wurde die Farbe "gelb" zugeordnet. In nummerierten Sammelgefäßen (Eppendorf 2,0 ml) wurde jede Larve einzeln in Flüssigstickstoff abgetötet und im Lyophilisator (LYOVAC GT2) gefriergetrocknet und erneut mit der Mikrowaage gewogen, um das Trockengewicht auf 0,01 mg zu bestimmen.

Formel 2: Berechnung des Wassergehalts der Nymphen

Wassergehalt [%] =
$$\frac{(FG-TG)*100}{FG}$$

(FG= Frischgewicht, TG= Trockengewicht)

Aus Frisch- und Trockengewichten wurde der Wassergehalt der Tiere berechnet (siehe Formel 2). Für die Bestimmungen des Zucker-, Glykogen- und Lipidgehalts der Nymphen wurde die von van Handel (1985) entwickelte und von Foray et al. (2012) adaptierte Methode verwendet, die zudem die gleichzeitige Bestimmung des Proteingehalts am Einzeltier erlaubt. Alle Messungen der Absorptionen wurden mit einem Photometer (Thermoscientific Multiscan FC) durchgeführt, mit dem Programm Scanlt for MultiScan FC 3.1 aufgezeichnet und die Rohdaten in Excel ausgewertet. Auf besonders exakte Messergebnisse wurde bei den Standardreihen geachtet, die benötigt wurden um aus Gleichungen der Energiebudgets eines jeden einzelnen Tieres berechnen zu können. Lagen die Messwerte der Proben außerhalb der Standardreihe, wurde die Messung in einer anderen Standardreihe wiederholt.

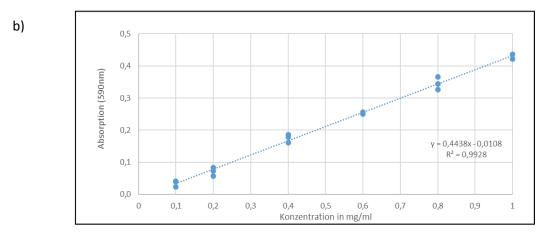
Im ersten Schritt der Analyse wurde das jeweilige Tier mit 2,0 ml Lysispuffer (100mM KH₂PO₄, 1mM DTT, 1mM EDTA, pH 7.4) versetzt und in einem Reagenzglas homogenisiert (IKA T 25) (Foray et al., 2012). Dithiothreitol DTT (Sigma; 43819-1G) ist ein Reduktionsmittel, das Proteine stabilisiert und die Oxidation von Cysteinresten verhindert. Ethylendiamintetraessigsäure EDTA (Merck; 8418.0250) bindet Metallionen, um ein Blockieren von Enzymen zu verhindern. Der Homogenisator Ultra Turrax (IKA T25) wurde nach jedem Insekt mit Alkohol, Lysispuffer und Reinstwasser gespült. Die Reagenzgläser mit dem Homogenat der Nymphen wurden für 5 Minuten ins handwarme Wasserbad gestellt und anschließend bei 4°C und 300 Umdrehungen pro Minute 15 Minuten zentrifugiert.

4.6.1. Protein

Für die Proteinmessung wurden 10 µl direkt aus dem Homogenat des Tieres im Lysispuffer entnommen. Bei den Weibchen wurden 80 µl Lysispuffer (9-fache Verdünnung), bei den Männchen 40 µl Lysispuffer (5-fache Lösung) hinzugefügt. Für die Messung der Proteine bei einer Wellenlänge von 590 nm wurden aus der verdünnten Lösung 30 µl mit 900 µl Bradford-Reagenz (Sigma B 6916) in einem neuen Eppendorf-Gefäß vermischt und 3 Volumeinheiten zu 250 µl in Microtiterplatten pipettiert. Die Standardreihe wurde aus der Pufferlösung und einer BSA-Stammlösung (1mg/ml, Sigma A 7030) für jede Microtiterplatte neu hergestellt. Anschließend wurden 30 µl der verdünnten Standards mit 900 µl Bradford-Reagenz gemischt und ebenso 3 x 250 µl in Wells der Microtiterplatte pipettiert (3 Messwiederholungen je Probe). Der Proteingehalt der Nymphen wurde als % BSA-Äquivalent berechnet (Abbildung 9a). Abbildung 9b zeigt eine Eichkurve, die aus den Absorptionswerten der Standardreihe erstellt wurde.

BSA-Standardreihe					
	μl BSA-Stamm-	ul Dufforläsung	BSA-Konzen-		
	lösung (1mg/ml)	μl Pufferlösung	tration in mg/ml		
Blank	0	100	0,0		
S1	10	90	0,1		
S2	20	80	0,2		
S3	40	60	0,4		
S4	60	40	0,6		
S5	80	20	0,8		
S6	100	0	1,0		

a)



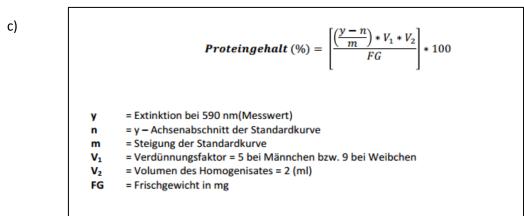


Abbildung 9a, b, c: BSA- Standardreihe, aus der Absorption der Standards erstellte Eichkurve und Formel zur Berechnung der Proteingehalte

Für die Analysen wurden dem homogenisierten Insekt für die zur Proteinbestimmung entnommenen 20 μl wieder dieselbe Menge an Lysispuffer und zusätzlich 40 mg Natriumsulfat zugegeben. In zwei Durchgängen wurde mit je 2,0 ml von CHCl₃: MeOH (1:1) und nachfolgendem Zentrifugieren Lipide, lösliche Kohlenhydrate und Glykogen voneinander getrennt (Foray et al., 2012). Die Chloroformphase mit den Lipiden wurde mit einer Pasteurpipette abgehoben und in ein Eppendorf-Gefäß überführt.

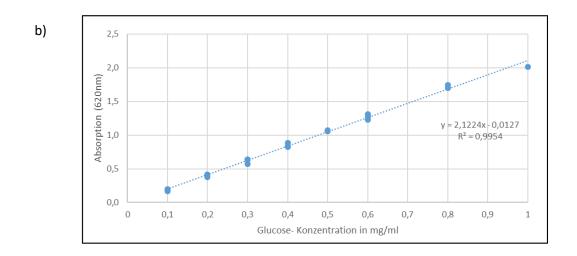
Die wässrige methanolische Phase mit den löslichen Kohlenhydraten wurde ebenso in ein neues Reaktionsgefäß umgefüllt. Der Bodensatz des Röhrchens enthielt das Glykogen. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die nun getrennten Stoffgruppen bei -20°C tiefgefroren.

4.6.2. Lösliche Kohlenhydrate

Zur Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate (Zucker, Zuckeralkohole) wurde Anthron-Reagenz (Milli-Q, Anthron-Pulver, Schwefelsäure) frisch angemischt. Die Proben wurden nach Zugabe von 1,5 ml Anthron im Wasserbad bei 90°C für 15 min erhitzt und danach auf Raumtemperatur gekühlt. Von jeder Probe wurden dreifach 250µl in Wells einer Quartzmicrotiterplatte (Hersteller Hellma Analytics) pipettiert und die Absorption bei einer Wellenlänge von 620 nm im Photometer gemessen. Die Standards in verschiedenen Konzentrationen wurden mit einer Glucoselösung (D-Glucose-Anhydrid mit einer Konzentration von 1 mg/ml) hergestellt (siehe Abbildung 10a, bzw. der Eichkurve in Abbildung 10b). Der Zuckergehalt der Nymphen wurde als % Glukoseäquivalent berechnet.

- \	Glucose- Standardreihe			
a)		μl Glukosestamm- lösung (1mg/ml)	μl MeOH:H ₂ O (1:1, v:v)	Glukose-Konzen- tration in mg/ml
	Blank	0	100	0,0
	S1	10	90	0,1
	S2	20	80	0,2
	S3	30	70	0,3
	S4	40	60	0,4
	S5	50	50	0,5
	S6	60	40	0,6
	C7	90	20	0.0

S8



100

0

$$Zuckergehalt (\%) = \left[\frac{\left(\frac{y-n}{m} \right) * V_1}{FG} \right] * 100$$

y = Extinktion bei 620 nm (Messwert)

n = y - Achsenabschnitt der Standardkurve

m = Steigung der Standardkurve

V₁ = Verdünnungsfaktor = 4 (Volumen der wässrigen Methanolphase 4 ml)

FG = Frischgewicht in mg

Abbildung 10a,b und c: Glukose-Standardreihe, aus der Absorption der Standards gewonnene Eichkurve und Formel zur Berechnung der löslichen Kohlenhydrate

4.6.3. Glykogen

Das im Reagenzglas verbliebene Pellet wurde mit 5 ml Anthron-Reagenz vermischt. Die Proben wurden zweimal zentrifugiert, um Schwebepartikel zu entfernen, und danach in Quartz-Microtiterplatten pipettiert. Die Proben wurden erhitzt; das weitere Procedere erfolgte analog zur Zuckerbestimmung. Als Standardreihe wurden Verdünnungen einer 2 mg/ml Glukoselösung in MeOH: H₂O (1:1, v:v) eingesetzt (Abb. 11a). Für jede neue Platte wurde eine separate Eichkurve erstellt (Abb. 11b). Der Glykogengehalt der Nymphen wurde als %- Glukose-Äquivalent berechnet (Abb 11c).

Glukose-Standardreihe a) μl Glukosestamm-Glukose-Konzenμl MeOH:H₂O lösung (2mg/ml) (1:1, v:v) tration in mg/ml Blank 100 0,0 **S1** 10 90 0,2 S2 20 80 0,4 S3 30 70 0,6 S4 40 60 0,8 S5 50 50 1,0 S6 60 40 1,2 80 20 1,6 100 0

%
$$Glykogengehalt = \left[\frac{\left(\frac{y-n}{m}\right)}{FG}\right]*100$$

y = Extinktion (Messwert)
n = y - Achsenabschnitt der Standardkurve
m = Steigung der Standardkurve
FG = Frischgewicht in mg

Abbildung 11a, b und c: Glukose-Standardreihe, Eichkurve und Formel zur Berechnung des Glykogengehalts der Einzeltiere

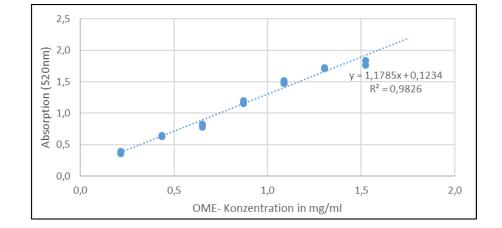
4.6.4. Lipide

Die Standardlösung für die Lipidmessung bestand aus Ölsäuremethylesther (OME) mit einer Konzentration von 0,87 g/ml. Für die Bestimmung der Lipide musste zunächst das Lösungsmittel (CHCl₃) verdampft werden. Die getrockeneten Lipide wurden mit Hydroxylamin-Reagenz (NaOH und Hydroxylamin 1:1) versetzt und im Wasserbad erwärmt (5 min bei 60°C). Die Lösung wurde auf Zimmertemperatur abgekühlt, mit Eisenperchlorat-Reagenz (gelöstes Eisenperchlorat 1 g/ml und Perchlorsäure 70%) versetzt und geschüttelt (Bohlander, 1996). Aus dem Überstand wurden 3x 250µl in die Wells der Quartzmicrotiterplatte pipettiert und die Absorption von Proben und Standards bei 520 nm im Photometer gemessen. Als Standardreihe wurden Verdünnungen eines Ölsäuremethylesters OME (0,87 g/ml) in CHCl₃ (Lösungsmittel!) eingesetzt (Abb. 12a). Der Lipidgehalt der Nymphen wurde als % OME-Äquivalent berechnet.

_	١
ี่ ล	1
•	,

		-			
	Standardreihe Lipide				
	μl OME-Lösung (870 mg/ml)	OME-Konzen- tration in mg/ml			
Blank	0	0,000			
S1	25	0,218			
S2	50	0,435			
S3	75	0,653			
S4	100	0,870			
S5	125	1,088			
S6	150	1,305			
S7	175	1,523			
S8	200	1,740			

b)



c)

$$Lipidgehalt (\%) = \left[\frac{\left(\frac{y \pm n}{m}\right) * V_1}{FG}\right] * 100$$

y = Extinktion bei 520 nm (Messwert)

n = y - Achsenabschnitt der Standardkurve

m = Steigung der Standardkurve

V₁ = Verdünnungsfaktor = 8 (250 μl aus 2 ml Homegenisat)

FG = Frischgewicht in mg

Abbildung 12a, b und c: Standardreihe Ölsäuremethylester (OME), Eichkurve und Formel zur Berechnung des Lipidgehalts der Nymphen

4.7. Messung des Unterkühlungspunkts

Für Eo- und Pronymphen aus dem Freiland wurde der Unterkühlungspunkt (Super Cooling Point, SCP) bestimmt. Der Unterkühlungspunkt gibt jene Temperatur des Tieres an, bei der das Körperwasser zu frieren beginnt. Dieser Vorgang ist gekennzeichnet durch einen kurzfristigen, sprunghaften Anstieg der Temperatur durch Freisetzen von Kristallisationswärme. Bei der tiefsten Temperatur unmittelbar vor dem Anstieg handelt es sich um den Unterkühlungspunkt.

Die Messung erfolgte für je 10 Tiere gleichzeitig mit dem Messsystem OMEGA OMB-DAQ-56 (Abb. 13), das 10 Thermoelemente (Riacon) enthält, die mit einem Computer verbunden sind. Die Messeinheit besteht aus einem Thermosensor und einem Proben-, sowie einem Schutzbehälter aus Kunststoff zur Isolierung der Tiere, um ein zu rasches Abkühlen zu vermeiden (Temperaturabfall > 1°C/min). Die Temperatur wird einmal pro Sekunde auf der Körperoberfläche des Tieres gemessen. Der Sensor sitzt auf einem Metallröhrchen, auf das der Probenbehälter gesteckt und der Schutzbehälter geschraubt wird. Zur Temperaturabsenkung wurde das System in einen handelsüblichen Gefrierschrank (Liebherr, -30°C) gelegt. Die Temperaturverlauf wurde für jedes Tier mit dem Programm pDagView 1.9 aufgezeichnet, in Microsoft EXCEL importiert und graphisch dargestellt.



Abbildung 13: Das Messsystem (OMEGA OMB-DAQ-56)

Es wurde darauf geachtet, dass das Tier vorsichtig (Federpinzette) auf den Boden des Behälters gesetzt, so dass es vom Temperatursensor berührt aber nicht gequetscht wurde. Entsprechend der unterschiedlichen Größen von Männchen und Weibchen konnte die Länge des Metallröhrchens mit dem Sensor durch den Steckverschluss angepasst werden. Sobald auf jeder Kurve am Bildschirm ein Temperaturanstieg zu sehen war (vgl. Abbildung 14), wurde die Messeinheit aus dem Gefriergeschrank genommen, die Nymphen mit der Pinzette vorsichtig in beschriftete Eppendorfröhrchen gebracht und bis zur Analyse der Energiebudgets im Gefrierschrank bei -20°C gelagert.

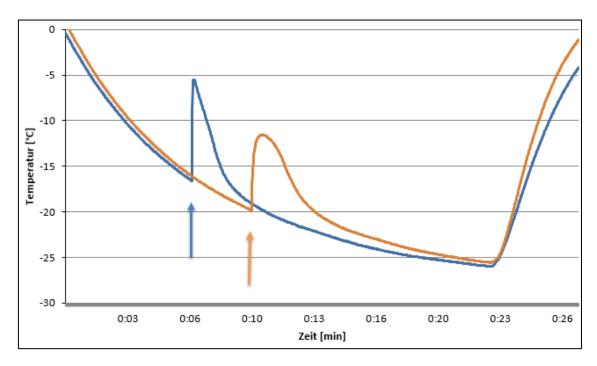


Abbildung 14: Unterkühlungspunkte (Pfeile) zweier Ruhelarven

4.8. Ermittlung der Klimadaten im Bestand

Zur Aufzeichnung des Temperaturverlaufs der Luft- und Bodentemperaturen wurden auf der Befallsfläche bei Grafenschlag zwei Datenlogger (HOBO PENDANT UA-001) bei Probebaum 2, im Zentrum der Befallsfläche, platziert. Ein Datenlogger wurde ca. 20 cm tief im Boden vergraben (Abb. 15b), um die Temperatur in dem Bodenhorizont, in dem die Nymphen überliegen, zu messen.



Abbildung 15a und Abbildung 15b: Datenlogger zur Messung der Lufttemperatur (links); Datenlogger zur Messung der Bodentemperatur (unten)



Der andere Datenlogger wurde auf einen rund 1 m hohen Holzstab montiert und mit einem Strahlungsschutz versehen (Abb. 15a). Beide Sensoren zeichneten die Temperaturen viermal in der Stunde auf und mittelten diese Werte zu einem Stundenwert. Boden- und Lufttemperaturen wurden für den Untersuchungszeitraum vom 19.08.16 bis zum 17.05.17 ausgewertet. Das erste Datum gibt den Beginn der Inokulation und die erste Harzflussmessung an, das letzte die Erhebung der Nymphendichte nach der Überwinterung.

4.9. Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Microsoft EXCEL Version 2013 berechnet und statistisch mit dem Programm IBM ® SPSS ® Version 21.0.0.0 ausgewertet. Zur Erstellung der Grafiken und Diagramme wurden die selben Programme verwendet. Der Vergleich zweier Mittelwerte erfolgte mit einem stichprobenunabhängigen t-Test. Mittelwerte von mehr als zwei Gruppen wurde zunächst auf Normalverteilung und Homogenität der Varianzen getestet und anschließend mit einer Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem Post-Hoc Test (Scheffé) auf Gruppenunterschiede untersucht. Für die Auswertung der Harzflussmessungen (wiederholte Stichproben am selben Baum) wurde ein t-Test für verbundene Stichproben verwendet. Als Irrtumswahrscheinlichkeit bzw. als Signifikanzniveau wurde p< 0,05 gewählt. Werte von p<0,05 werden als signifikant, jene <0,01 als hoch signifikant und die Werte <0,001 als höchst signifikant bezeichnet. Lineare oder bivariate Zusammenhänge wurden mit dem Korrelationskoeffizient von Pearson (r) beurteilt. Das Signifikanzniveau (2 seitig) wurde auf p< 0,05 gesetzt.

5. Ergebnisse

- 5.1. Messung der baumphysiologischen Parameter
- 5.1.1. Harzflussmessungen

Die Harzflussmengen, die pro Messtermin jeweils an West- und Ost-exponierter Stammposition der Versuchsbäume gemessen wurden, wichen teilweise stark voneinander ab (Abb.16, Tab.1). Es ist ein deutlicher Trend zu höheren Messwerten an der Ost-exponierten Stammseite erkennbar, bei den Harzflussmessungen am 19.10.2016 waren diese Unterschiede signifikant.

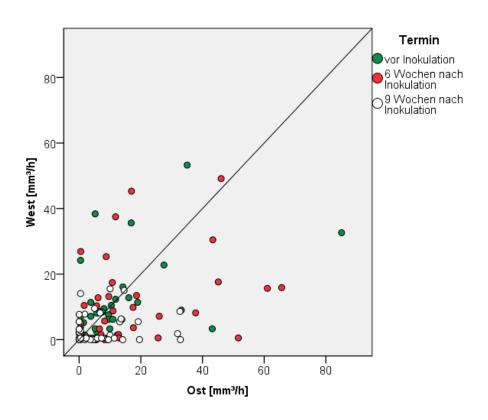


Abbildung 16: Harzflussmengen an West- und Ost-exponierten Stammpositionen (3 Messtermine vor und nach Inokulation).

Die 45° Linie zeigt die hypothetische Position der Punkte bei identischen Messwerten.

Tabelle 1: Harzflussmengen, an West- und Ost-exponierten Stammpositionen (3 Messtermine vor und nach Inokulation): Mittelwert ± Standardfehler und Signifikanz (t-Test verb. Stichproben p<0,05)

Termine	m	Signifikanz	
	W	0	
19.08.2016 (n=36)	10,75±2,04	12,26±2,69	p= 0,547
30.09.2016 (n=36)	11,30±2,15	17,59±2,59	p= 0,050
19.10.2016 (n=36)	3,46±0,77	7,98±1,57	p= 0,011

Für den weiteren Vergleich der Messergebnisse wurden die Harzflussmengen beider Stammexpositionen pro Baum und pro Kontrolltermin gemittelt. Abb. 17 zeigt die Harzflussmengen, die im Mittel über alle Versuchsbäume pro Termin gemessen wurden. Die Mittelwerte der Messungen vor der Inokulation unterscheiden sich nicht signifikant von den Mittelwerten nach der Inokulation. Jedoch gibt es einen hoch signifikanten Unterschied zwischen der Messung sechs Wochen nach der Inokulation (30.09) und neun Wochen (19.10) danach (p=0,003; Anova Post-hoc-Scheffé).

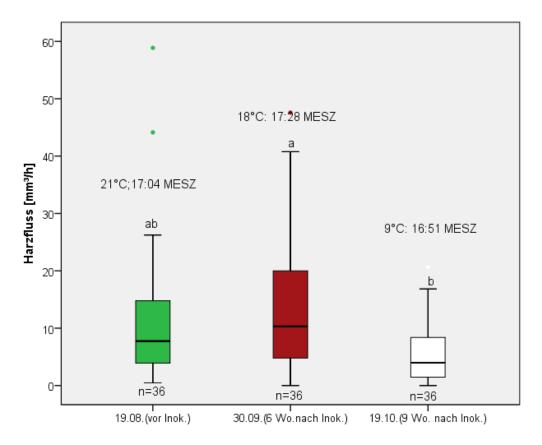


Abbildung 17: Harzfluss über alle Befallsklassen an den 3 Messterminen vor und nach Inokulation der Bläuepilze

Erklärung: Unterschiedliche Kleinbuchstaben weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Terminen (Anova, post-hoc-Scheffé); die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar, Extremwerte sind entspr. farbige Punkte. Die Werte oberhalb der Boxplots geben Auskunft über Temperatur und Messbeginn.

Genaue Angaben zu Stichprobenanzahl, Mittelwerten±Standardfehlern und (signifikanten) Unterschieden zwischen den Messterminen und zwischen unterschiedlichen Befallsklassen innerhalb der einzelnen Messtermine (ANOVA) sind in Tab.2 zusammengefasst. Abb. 18 bietet zusätzlich einen grafischen Vergleich der Harzflussmessungen nach Messterminen und Befallsklassen.

Tabelle 2: Harzfluss-Messwerte pro Messtermin und Befallsklasse der Versuchsbäume: Mittelwert± Standardfehler; Anzahl der Messungen im Baumkollektiv (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

	Baumkollektiv gesamt	stark befallen	schwach befallen	Kontrollbäume
vor Inokulation	11,51± 2,04 mm ³ /h; n=36; ab	12,53± 3,17 mm³/h; n=13; abA	8,22± 2,50 mm³/h; n=11; aA	13,41± 4,62 mm³/h; n=12; aA
6 Wochen nach Inokulation	14,44± 2,08 mm³/h; n=36; a	21,40± 3,61 mm³/h; n=13; aA	9,38± 2,54 mm³/h; n=11; aA	11,55± 3,60 mm³/h; n=12; aA
9 Wochen nach Inokulation	5,72± 0,90 mm³/h; n=36; b	6,08± 1,47 mm³/h; n=13; bA	5,65± 1,61 mm³/h; n=11; aA	5,39± 1,75 mm³/h; n=12; aA

Erklärung: Unterschiedliche Kleinbuchstaben zeigen sign. Unterschiede zwischen den Messterminen im Baumkollektiv und unterschiedliche Großbuchstaben für Unterschiede am Messtermin zwischen den Baumkollektiven

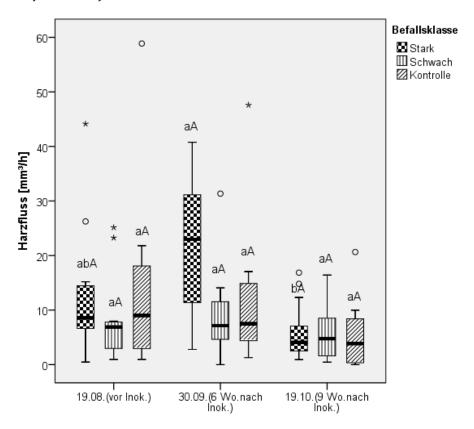


Abbildung 18: Vergleich der Harzflüsse nach Messterminen und Befallsklassen der Probebäume (Anova; Post-Hoc-Scheffé; p<0,05)

Erklärung: Unterschiedliche Kleinbuchstaben für sign. Unterschiede zwischen den Messterminen im Baumkollektiv und unterschiedliche Großbuchstaben für Unterschiede am Messtermin zwischen den Baumkollektiven; Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar, Extremwerte sind Sterne/Kreise

Der Vergleich der Mittelwerte getrennt nach Messterminen und den Klassen "starker Befall", "schwacher Befall" und "Kontrollbäume ohne Befall" ergibt nur wenige signifikante Unterschiede. Innerhalb der Messtermine unterscheiden sich die mittleren Harzflussmengen zwischen den Befallsklassen teils deutlich (z.B.: zu den Terminen "vorher" und "nachher"). Eine Anova (Post-Hoc-Scheffe, p<0,05) zeigte aber, dass die Unterschiede weder zum Termin "vorher" (p=0,596) noch zum Termin "nachher" (p=0,054) signifikant sind. Am 19.10.16 war kaum mehr ein Unterschied feststellbar. Einzig in der Befallsklasse "stark" ist eine Dynamik erkennbar: Nach einem deutlichen Anstieg der mittleren Harzflussmenge infolge der Bläuepilz- Inokulation und Kontrolle der Reaktionszonen am 30.09.2016 (Trend, kein signifikanter Unterschied), sind die Werte am 19.10.16 mit weniger als einem Drittel des Werts drei Wochen zuvor wieder stark gesunken und haben sich den Ergebnissen für die Befallsklassen "schwach" und "Kontrolle" angeglichen. Der Unterschied zwischen den Termin nachher und dem 19.10.2016 war sowohl im gesamten Baumkollektiv als auch in der Befallsklasse hoch signifikant (in beiden Fällen p=0,003). In den anderen Befallsklassen

konnten zwar ebenfalls Rückgänge des Harzflusses beim letzten Termin beobachtet werden, die aber keine signifikanten Unterschiede zeigten.

Im Oktober zeigte das Thermometer 9°C und es war neblig. Dies waren wesentlich kältere Bedingungen als bei der Augustmessung (21°C, sonnig) und der Septembermessung (18°C, sonnig). Da die Temperaturen die Viskosität des Harzes (vgl. Bausteine der Abwehrreaktion von Koniferen) beeinflussen und die Fichten im Waldviertel im Oktober ihre physiologische Aktivität einstellen, wurde der letzte Messtermin in der weiteren Berechnung nicht mehr berücksichtigt.

Unterschiede im Harzfluss vor und nach der Inokulation, konkret also Anstiege der Harzflussmengen als Reaktion auf die Inokulation, wurden noch einmal mittels t-Test für verbundene Stichproben (in diesem Fall Messwiederholung am Folgetermin) überprüft (Tab.3). Während im Baumkollektiv "stark" beim Vergleich aller Messtermine mittels ANOVA nur ein Trend für einen Anstieg erkennbar war, zeigt sich im t-Test ein signifikant höherer Harzfluss nach der Inokulation im Vergleich zu vor der Inokulation. In Bezug auf das gesamte Baumkollektiv sowie die Befallsklassen "schwach" und "Kontrolle" wurden, entsprechend der Anova-Ergebnisse, keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Tabelle 3: Vergleich der Harzflüsse vor und 6 Wochen nach der Inokulation, getrennt nach Befallsklassen

Baumkollektive	Harzflus	s [mm³/h]	T-Test für verbundene Stichproben			
	vorher	nachher	t-Wert	p-Wert		
stark (n=13)	12,53± 3,17; a	21,40± 3,61; b	-2,354	0,036		
schwach (n=11)	8,22± 2,50; a	9,38± 2,54; a	-0,357	0,729		
Kontrolle (n=12)	13,41± 4,62; a	11,55± 3,60; a	0,331	0,747		
Gesamt (n=36)	11,51± 4,04; a	14,44± 4,08; a	-1,141	0,262		

Erklärung: Hinter der jeweiligen Befallsklasse steht die Anzahl (n) der Bäume pro Befallsklasse; unterschiedliche
Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen der Messung vor und nach der Inokulation an, sign. Unterschiede
sind fett markiert

Ein detaillierter Blick auf die ermittelten Harzflussmengen der Einzelbäume verdeutlicht den starken Anstieg bei vielen "stark" befallenen Individuen (Abb. 19a). Lediglich bei den Probebäumen Nr. 1, 12, 13 und 18 war in dieser Befallsklasse ein Rückgang im Harzfluss zu verzeichnen. Wie von den oben dargestellten Mittelwerten zu erwarten, änderte sich der Harzfluss bei den Bäumen schwacher Befallsintensität nur wenig zwischen den Messterminen (Abbildung 19b). Ein Großteil der Bäume dieses Kollektivs zeigte Harzfluss auf konstant niedrigem Niveau, nur bei den Bäumen Nr. 11, 16 und 19 bzw. 33 und 35 war ein deutlicher Anstieg oder auch Abfall zu verzeichnen. Noch geringere Änderungen zwischen den Terminen vor und nach der Bläuepilz-Inokulation waren bei den einzelnen Kontrollbäumen zu verzeichnen (Abbildung 19c). In dieser Gruppe blieb der Harzfluss mit Ausnahme

des Baums Nr. 30 insgesamt auf niedrigem Niveau. Die Harzfluss-Messwerte aller Baumindividuen (Nr. 1-36) sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

5.1.2. Nekrosebildung nach Pilzinokulation

Um zu überprüfen, ob sich die Größe der Nekrosen (siehe Abb. 20a, b und c) im unteren und oberen Inokulationsring unterscheiden, wurden die Daten mit einem t-Test für verbundene Stichproben (Messwiederholung) untersucht (Längen, Breiten, Flächen). Wie in Tabelle 5 ersichtlich, hatte die Position der Inokulation keine Auswirkung auf die Ausdehnung der Reaktionszonen.

Des Weiteren wurde getestet, ob die Stammpositionen der Kardinalrichtungen (N, O, S, W), denen die Pilz-Inokulate zufällig zugeordnet worden waren, die Nekrose-Ausmaße beeinflussten. Beim Vergleich der Mittelwerte über alle Pilzarten pro Kardinalrichtung (n=36) mittels ANOVA wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf Nekroselänge (p=0,845), -breite (p=0,713), und –fläche (p=0,590) festgestellt (Abb. 21a, b, c). Die Tabellen 6,7 und 8 dokumentieren die mittleren Nekroselängen,- breiten und -flächen für jede Stammexposition in Bezug auf die verschiedenen Pilzarten und die Agarkontrolle, auch hier waren keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar. Bei einer geringen Anzahl an Messwerten (n), lag eine große Streuung vor, so dass es zwar in den Grafiken und Tabellen sichtbare, jedoch nicht statistisch signifikante Unterschiede gab.

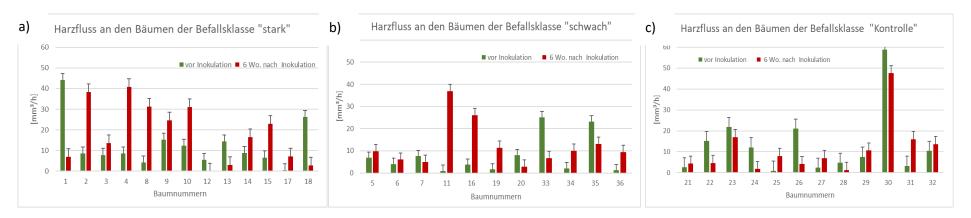


Abbildung 19 a,b und c: Entwicklung des Harzflusses in mm³/h (Mittelwerte= Balken, Standardfehler= Fühler) an den Einzelbäumen, dargestellt für die drei Befallsklassen "stark", "schwach" und "Kontrolle"

Tabelle 4: Harzfluss der Einzelbäume Nr. 1-36 (Mittelwerte aus Ost- und Westexpositon) in mm³/h vor und nach der Inokulation sowie die Differenz vor und nach der Inokulation

Probebaum-																																			
nummer	1	2	3	4	8	9	10	12	13	14	15	17	18	5	6	7	11	16	20	33	34	35	36	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
vor Inokul.	44,1	8,5	7,8	8,6	4,3	15,2	12,3	5,5	14,5	8,8	6,6	0,5	26,2	6,9	4,1	7,6	0,9	3,8	8,0	25,1	2,1	23,2	1,3	2,6	15,1	21,8	12,1	0,9	21,1	2,4	4,7	7,6	58,9	3,3	10,4
nach Inokul.	6,9	38,3	13,7	40,8	31,4	24,6	31,1	0,0	3,1	16,6	23,0	7,1	2,8	9,9	6,0	4,9	36,9	26,1	2,8	6,7	10,0	13,1	9,5	4,3	4,6	17,0	1,8	8,0	4,1	7,0	1,3	10,6	47,6	16,0	13,7
Differenz	-37,3	29,8	5,8	32,2	27,1	9,5	18,8	-5,5	-11,4	7,8	16,3	6,7	-23,5	3,0	2,0	-2,7	35,9	22,3	-5,2	-18,4	7,9	-10,2	8,2	1,7	-10,5	-4,8	-10,3	7,1	-16,9	4,6	-3,5	3,0	-11,3	12,7	3,3

Erklärung: Gruppenfärbung: Rot= stark befallen, grün= schwach befallen, weiß= Kontrollbäume

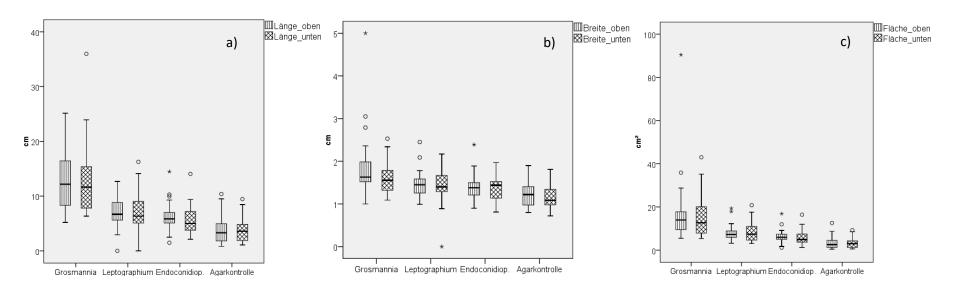


Abbildung 20 a, b und c: Boxplots mit Median, Minima und Maxima der jeweiligen Pilze für die oberen und unteren Inokulationsringe (a= Nekroselängen, b= Nekrosebreiten, c= Nekroseflächen), Extremwerte= Punkte bzw. Ausreisser= Sternchen

Tabelle 5: Längen[cm], Breiten[cm] und Flächen [cm²] der Reaktionszonen für die verwendeten Pilzarten und Agarkontrolle: Mittelwert ± Standardfehler aller Maße des oberen bzw. des unteren Rings, in der nachfolgenden Spalte Wert aus dem T-Test, die Freiheitsgrade und der P-Wert

	Grosmannia			Leptographium			Eı	ndoconi	diophora		Agarkontrolle		
	oben	unten	t-T (FG); P	oben	unten	t-T (FG); P	oben	unten	t-T (FG); P	oben	unten	t-T (FG); P	
Nekroselänge	12,87±	12,92±	t(35)=-0,042;	7,07±	7,21±	t(35)=-0,282;	6,09±	5,43±	t(35)=1,386;	3,66±	3,72±	t(35)=-0,156;	
in cm	0,88	1,04	p=0,967	0,44	0,54	p=0,780	0,40	0,41	p=0,174	0,38	0,35	p=0,876	
Nekrosebreite	1,83±	1,61±	t(35)=	1,45±	1,41±	t(34)=0,543;	1,39±	1,37±	t(35)=0,241;	1,22±	1,17±	t(35)=0,899;	
in cm	0,11	0,06	1,655; p=0,107	0,05	0,06	p=0,591	0,05	0,05	p=0,811	0,05	0,05	p=0,375	
Nekrosefläche	16,95±	15,17±	t(35)=	7,99±	8,24±	t(33)=0,336;	6,17±	5,63±	t(35)=0,960;	3,34±	3,20±	t(35)=0,279;	
in cm²	2,38	1,45	0,644; p=0,524	0,60	0,73	p=0,739	0,48;	0,54	p=0,344	0,46	0,37	p=0,782	

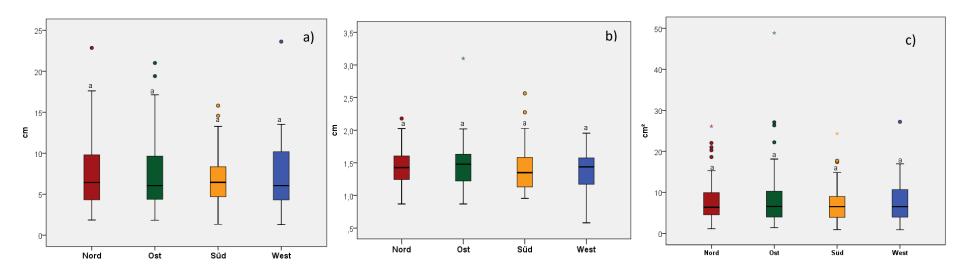


Abbildung 21 a, b und c: Nekroselängen (a), Breiten (b) und Flächen (c) aller Pilzarten zusammen in Bezug auf die Kardinalrichtungen Nord, Ost, Süd und West; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

Erklärung: Unterschiedliche Buchstaben über den Boxplots stehen für signifikante Unterschiede; die Boxplots zeigen den Median, 25. Perzentile und 75. Perzentile, Minima und Maxima der Messwerte, Extremwerte sind mit Punkten, Ausreisser mit Sternchen gekennzeichnet

Tabelle 6: Längen [cm] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen: Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen; (Anova, Post-Hoc- Scheffé, p<0,05)

	Grosmannia	Leptographium	Endoconidiophora	Agarkontrolle
Nord	14,32±1,59; n=9; a A	6,68±0,71; n=10; a A	6,08±0,42; n=9; a A	2,94±0,35; n=8; a A
Ost	15,42±1,31; n=9; a A	7,24±0,69; n=9; a A	5,29±0,48; n=9; a A	3,32±0,43; n=9; a A
Süd	9,54±1,29; n=8; a A	7,86±1,06; n=9; a A	6,26±1,14; n=8; a A	4,81±0,76; n=11; a A
West	12,03±1,47; n=10; a A	6,82±1,00; n=8; a A	5,67±0,73; n=10; a A	3,33±0,48; n=8; a A

Erklärung: unterschiedliche Kleinbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen Himmelsrichtung bei einem Pilz, unterschiedliche Großbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen den Pilzen innerhalb einer Himmelsrichtung

Tabelle 7: Breiten [cm] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen: Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

	Grosmannia	Leptographium	Endoconidiophora	Agarkontrolle
Nord	1,70±0,10; n=9; aA	1,45±0,05; n=10; aA	1,38±0,07; n=9; aA	1,11±0,07; n=8; aA
Ost	1,79±0,19; n=9; aA	1,54±0,06; n=9; aA	1,43±0,06; n=9; aA	1,19±0,06; n=9; aA
Süd	1,81±0,48; n=8; aA	1,39±0,09; n=9; aA	1,30±0,07; n=8; aA	1,27±0,07; n=11; aA
West	1,60±0,21; n=10; aA	1,36±0,14; n=8; aA	1,42±0,09; n=10; aA	1,19±0,08; n=8; aA

Erklärung: unterschiedliche Kleinbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen Himmelsrichtung bei einem Pilz, unterschiedliche Großbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen den Pilzen innerhalb einer Himmelsrichtung

Tabelle 8: Flächen [cm²] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen: Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

	Grosmannia	Leptographium	Endoconidiophora	Agarkontrolle
Nord	16,56±2,22; n=9; aA	7,67±0,79; n=10; aA	6,22±0,68; n=9; aA	2,47±0,48; n=8; aA
Ost	21,56±4,00; n=9; aA	8,27±0,92; n=9; aA	5,41±0,57; n=9; aA	2,82±0,49; n=9; aA
Süd	12,35±2,16; n=8; aA	8,32±1,62; n=9; aA	6,03±1,29; n=8; aA	4,43±0,80; n=11; aA
West	13,62±1,81; n=10; aA	7,19±1,12; n=8; aA	5,93±0,93; n=10; aA	2,97±0,51; n=8; aA

Erklärung: unterschiedliche Kleinbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen Himmelsrichtung bei einem Pilz, unterschiedliche Großbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen den Pilzen innerhalb einer Himmelsrichtung

Die verschiedenen Pilzarten zeigten im Zuge der Inokulationsversuche unterschiedlich große Nekroseausmaße. Eine ANOVA (Post-Hoc-Scheffé, p< 0,05) zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Längen, Breiten und Flächen der Reaktionszonen auf die drei Pilzarten sowie die Kontrollinokulation (Abb. 22a, b, c; Tab. 9). Eine absteigende Reihung der Nekrose-Ausmaße Grosmannia > Leptographium ≥ Endoconidiophora > Agarkontrolle ist deutlich erkennbar und gilt gleichermaßen für Nekroselängen, -breiten, und −flächen. Die mittleren Reaktionszonen für Leptographium und Endoconidiophora unterschieden sich signifikant von *G. penicillata* und der Agarkontrolle, aber nicht voneinander.

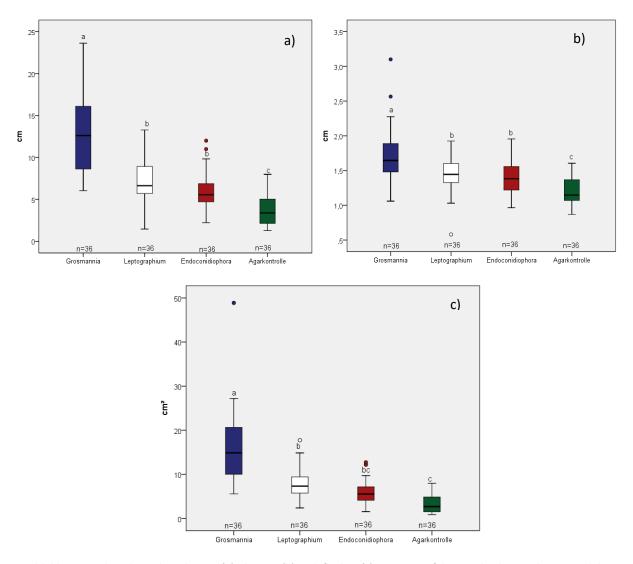


Abbildung 22a, b und c: Nekroselängen (a), -breiten (b) und -flächen (c) in Bezug auf die verschiedenen Pilzarten und die Agarkontrolle; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

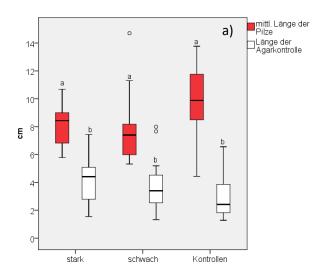
Erklärung: Unterschiedliche Kleinbuchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Pilzen

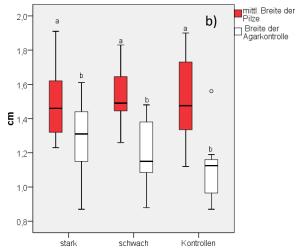
Tabelle 9: Ausmaß der Nekrose (Länge, Breite, Fläche) in Bezug auf die verschiedenen Pilzarten und die Agarkontrolle; Mittelwert± Standardfehler; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)

Pilzinokulat	Grosmannia (n=36)	Leptographium (n=36)	Endoconidiophora (n=36)	Agarkontrolle (n=36)
Nekroselänge [cm]	12,89±0,80a	7,14±0,42b	5,81±0,35b	3,69±0,30c
Nekrosebreite [cm]	1,72±0,07a	1,44±0,04b	1,38±0,04b	1,19±0,04c
Nekrosefläche[cm²]	16,06±1,41a	7,88±0,55b	5,90±0,43bc	3,27±0,33c

Erklärung: unterschiedliche Kleinbuchstaben stehen für sign. Unterschiede zwischen den Pilzarten

Die detaillierte Auswertung der Inokulationsversuche nach Befallsklassen ("starker", "schwacher" Befall durch die Blattwespen und "Kontrolle") erbrachte signifikante Unterschiede zwischen den drei Baumkollektiven wenn die Ausmaße der Reaktionszonen für alle drei Pilzarten gemittelt werden: Sowohl in den verschiedenen Befallsklassen (stark, schwach, Kontrolle) als auch über das gesamte Baumkollektiv sind alle drei Maße für Nekrosen der Agarkontrolle signifikant geringer. Mit anderen Worten bedeutet dies, dass das inokulierte Pilzmycel stärkere Wunden verursachte als nur eine Verletzung (Abbildung 23 a-c).





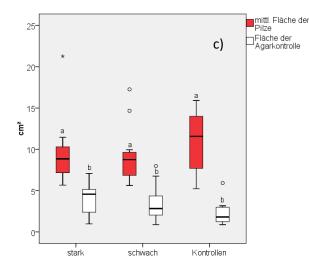


Abbildung 23: Vergleich der mittleren Nekroseausmaße der Pilze und der Kontrolle (a=Längen, b= Breiten, c= Flächen) (t-Test für verbundene Stichp., p<0,05);

Erklärung Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25. bzw. 75.Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar, Extremwerte sind Punkte.

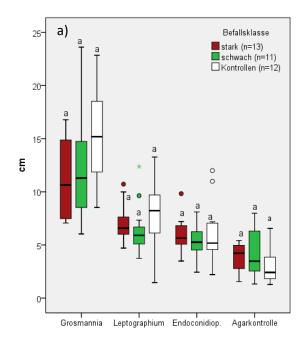
Tabelle 10: Vergleich der Nekroseausmaße der Pilze und der Agarkontrolle (Mittelwerte±Standardfehler) (t-Test für verbundene Stichp., p<0,05)

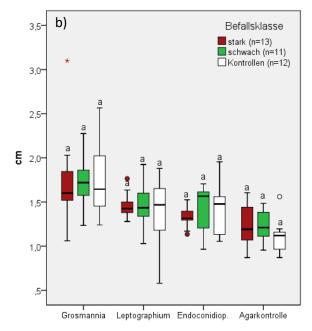
Baumkollektive	Mittelwert der	Agarkontrolle	Agarkoi	ntrolle
	Pilze			
	Nekrosel	änge in cm	t-Wert	p-Wert
stark (n=13)	8,15± 0,46a	4,15± 0,44b	8,551	0,000
schwach (n=11)	7,98± 0,84a	3,89± 0,66b	3,948	0,003
Kontrolle (n=12)	9,70± 0,79a	3,02± 0,48b	7,864	0,000
Gesamt (n=36)	8,62± 0,41a	3,69± 0,30b	10,038	0,000
	Nekrosek	reite in cm		
stark (n=13)	1,49± 0,06a	1,27± 0,06b	3,356	0,006
schwach (n=11)	1,54± 0,05a	1,20± 0,06b	5,130	0,000
Kontrolle (n=12)	1,51± 0,07a	1,10± 0,05b	5,868	0,000
Gesamt (n=36)	1,51± 0,03a	1,20± 0,04b	7,968	0,000
	Nekrosefl	äche in cm²		
stark (n=13)	9,53± 1,09a	4,02± 0,54b	5,308	0,000
schwach (n=11)	9,27± 1,10a	3,48± 0,68b	4,631	0,001
Kontrolle (n=12)	11,01± 1,07a	2,26± 0,41b	8,426	0,000
Gesamt (n=36)	9,95± 0,63a	3,27± 0,33b	10,012	0,000

Erklärung: Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwert der

Pilze und den Werten der Agarkontrolle.

Innerhalb der vier Inokulationsvarianten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede von Nekroselängen, -breiten und -flächen zwischen den drei Baumkollektiven (Abb. 24 a-c). Bei den Längen und den Flächen der Nekrosen zeigten die Kontrollbäume einen Trend zu größeren Reaktionen, während die Reaktionen in der Befallsklasse stark eher klein waren. Die Unterschiede waren aber aufgrund weniger Messwerte und hoher Streuungen nicht signifikant (vgl. Tabelle 11).





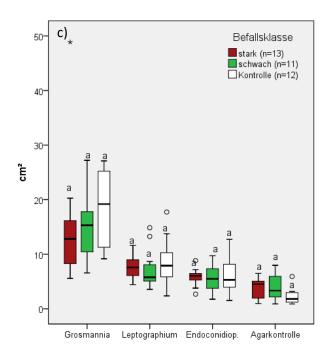


Abbildung 24**a, b und c**: Nekrose-Ausmaße in den verschiedenen Befallsklassen (a) Längen; (b) Breiten; (c) Flächen der Reaktionszonen (Anova, Post Hoc-Scheffé, p<0,05)

Erklärung: Boxplots zeigen Median, Minima und Maxima; Kleinbuchstaben über den Boxplots stehen für Unterschiede innerhalb der Befallsklassen, Extremwerte und Ausreißer sind mit Punkten bzw. Sternen dargestellt

Tabelle 11: Nekroseausmaße versch. Befallsklassen (MW±SE, Anova mit Post Hoc-Scheffé, p<0,05)

	Grosmannia	Leptographium	Endoconidiophora	Agarkontrolle
		Nekroselä	ngen [cm]	
stark (n=13)	11,18±1,04a	7,17±0,48a	6,00±0,43a	3,79±0,36a
schwach (n=11)	12,27±1,57a	6,49±0,75a	5,33±0,49a	4,31±0,72a
Kontrolle (n=12)	15,32±1,27a	7,72±0,95a	6,04±0,85a	3,02±0,48a
Gesamt (n=36)	12,89±0,78a	7,15±0,42a	5,81±0,35a	3,69±0,30a
		Nekrosebr	eiten [cm]	
stark (n=13)	1,70±0,14a	1,47±0,04a	1,34±0,03a	1,24±0,07a
schwach (n=11)	1,71±0,09a	1,46±0,08a	1,42±0,08a	1,25±0,05a
Kontrolle (n=12)	1,75±0,11a	1,39±0,10a	1,40±0,08a	1,10±0,05a
Gesamt (n=36)	1,72±0,07a	1,44±0,04a	1,38±0,04a	1,20±0,04a
		Nekroseflä	chen [cm²]	
stark (n=13)	15,23±3,07a	7,70±0,54a	5,80±0,43a	3,63±0,49a
schwach (n=11)	14,69±1,91a	7,27±1,11a	5,70±0,76a	3,94±0,73a
Kontrolle (n=12)	18,21±2,05a	8,63±1,20a	6,19±1,02a	2,26±0,41a
Gesamt (n=36)	16,06±1,41a	7,88±0,55a	5,89±0,43a	3,27±0,33a

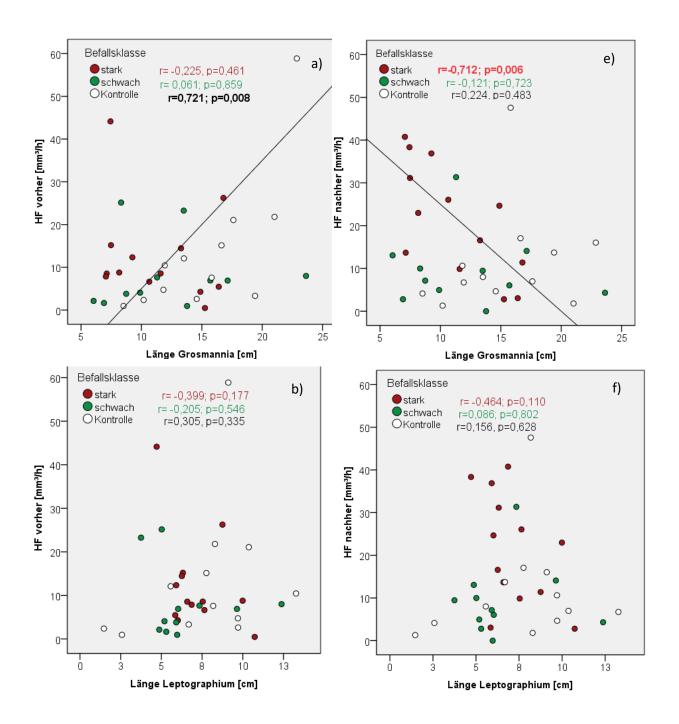
Erklärung: Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Pilzen einer Befallsklasse werden durch unterschiedliche Buchstaben ausgedrückt

5.1.3. Zusammenhänge zwischen Harzfluss und Nekrosebildung

Die Harzflussmenge vor und nach den Inokulationsversuchen stand in keinem Zusammenhang mit den Längen, Breiten und Flächen der Reaktionszonen, die von den Pilzarten *Endoconidiophora* und *Leptographium* an den Bäumen der verschiedenen Befallsklassen hervorgerufen wurden. Die Abbildungen 25-27 bzw. Tabellen 12 und 13 bieten einen grafischen bzw. numerischen Überblick über die Korrelation der Baumabwehr-Parameter in Bezug auf alle getesteten Pilzarten und Befallsklassen.

In Bezug auf die im Versuch virulenteste Pilzart *Grosmannia* zeigen sich jedoch hoch signifikante, positive Korrelationen von Nekrose-Ausmaß und Harzfluss vor und nach der Inokulation. Kontrollbäume mit starkem Harzfluss vor der Inokulation wiesen sehr lange Reaktionszonen auf (r=0,721; p=0,008, siehe Abbildung 25 und Tabelle 12), während kein Zusammenhang mit der Breite und der Fläche der Nekrosen nachgewiesen werden konnte. Der Harzfluss nach den Inokulationsversuchen war sehr deutlich positiv mit der Nekrose-Breite korreliert (r=0,727; p=0,007).

Genau umgekehrt verhielt es sich für das Kollektiv der "stark" befallenen Bäume, in dem sowohl Nekroselängen (r= -0,712, p=0,006) als auch Nekroseflächen (r= -0,621; p=0,024) (hoch) signifikant, negativ mit dem Harzfluss nach der Inokulation in Verbindung gebracht werden konnten. Die Gruppe der "stark" befallenen Bäume war auch die einzige, die eine Steigerung des Harzflusses am zweiten Kontrolltermin (30.09.2016) aufwies (vgl. Tab. 3). Eine Minderheit der Bäume (z.B: Baum 1, 12 und 18, vgl. Tabelle 4 und Abbildung 19 a) in dieser Klasse konnte den Harzfluss nicht steigern und war auch besonders spät in der Lage die Bläuepilze zu isolieren, was in einer entsprechend großen Nekrosefläche resultierte, wie in Abbildung 27 gezeigt wird. "Schwach" geschädigte Bäume zeigten diese Zusammenhänge nicht.



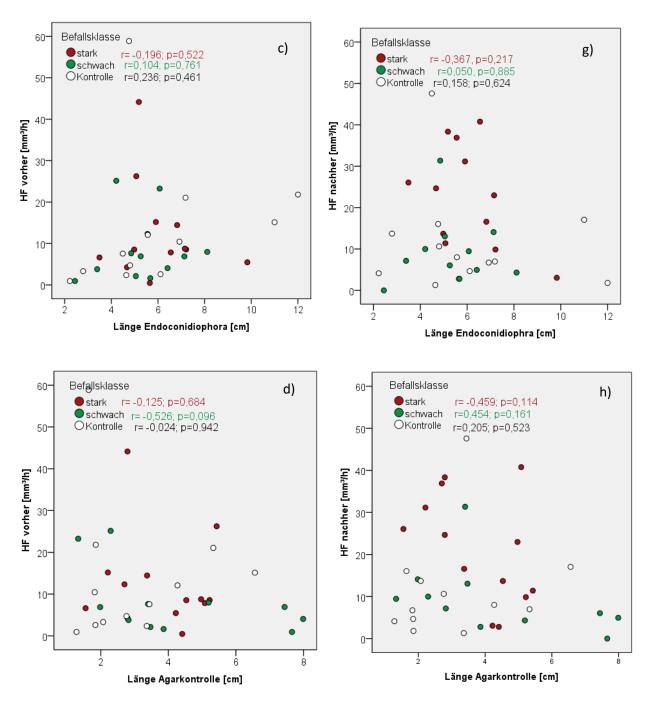
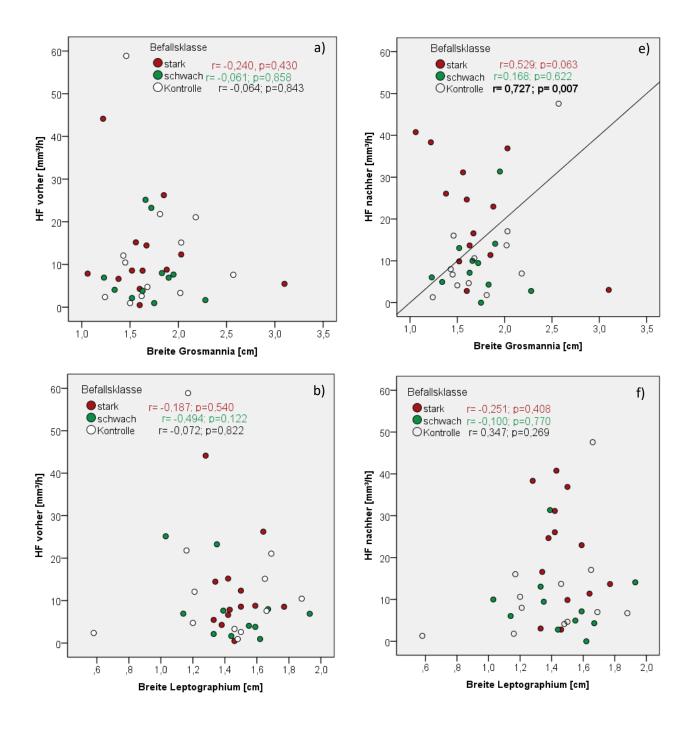


Abbildung 25: Streudiagramme mit Nekroselängen [cm] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h) Inokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind immer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen



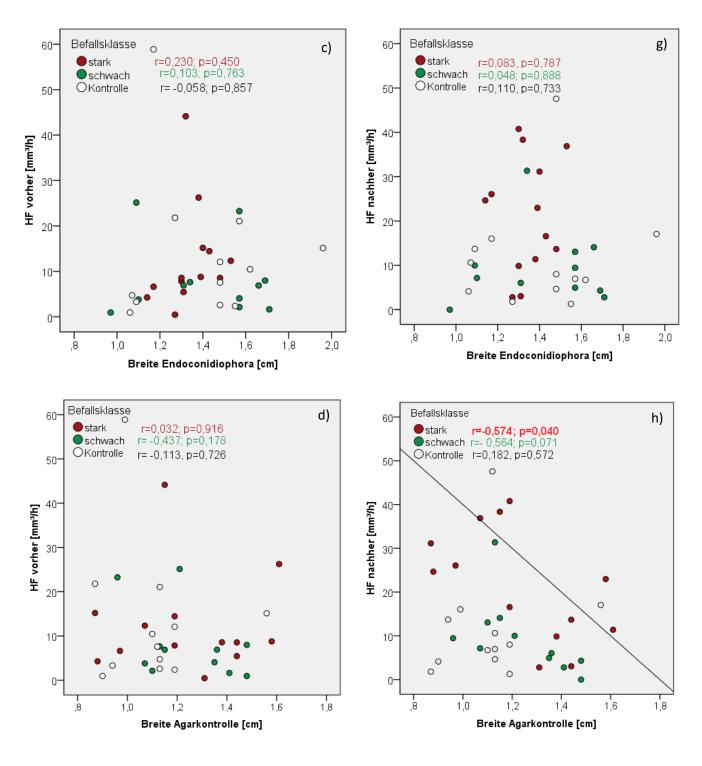
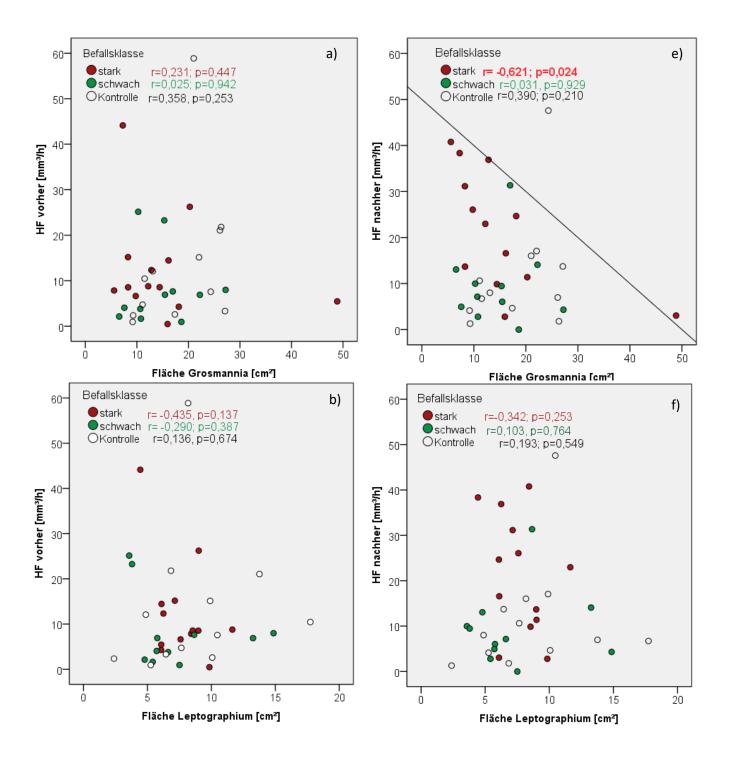


Abbildung 26: Streudiagramme mit Nekrosebreiten [cm] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h) Inokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind immer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen



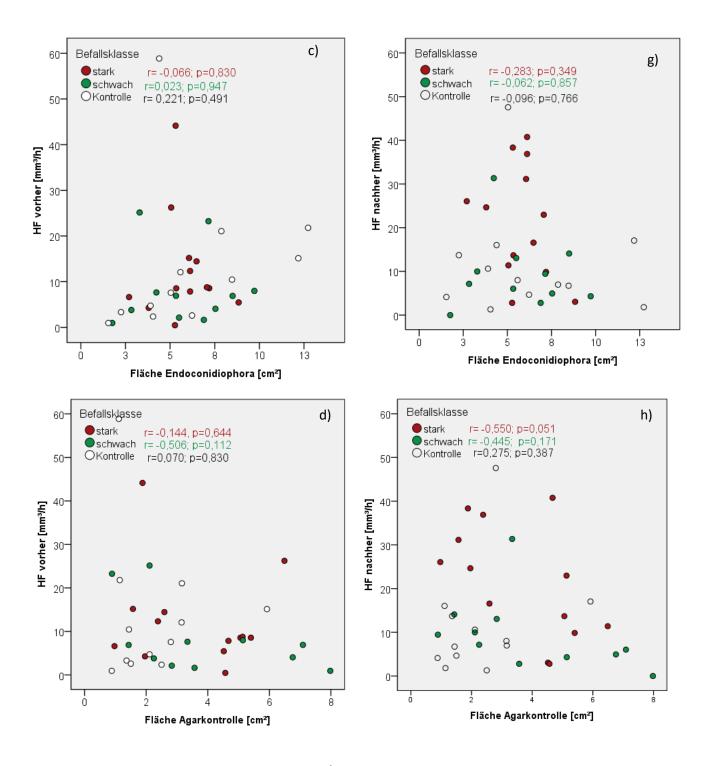


Abbildung 27: Streudiagramme mit Nekroseflächen [cm²] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h) Inokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind immer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen

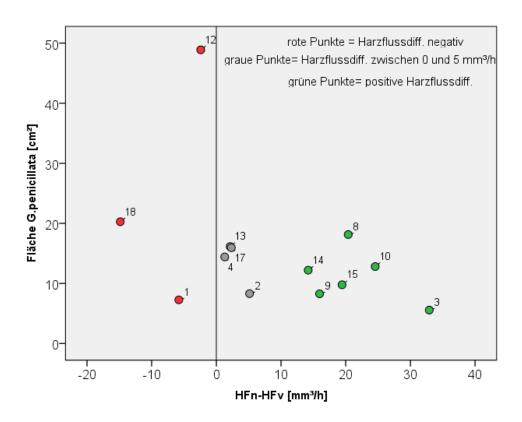


Abbildung 28: Streudiagramm zur Nekrosefläche von G. penicillata und der Harzflussdifferenz (HF nachher- HF vorher) in der Befallsklasse stark

Erklärung: Rote Punkte zeigen Bäume mit negativer Harzflussdifferenz, graue Punkte mit Harzflussdifferenz zwischen 0 und 5 mm³/h und grüne Punkte Bäume mit positiver Harzflussdifferenz >5mm³/h, die Linie durch den Nullpunkt ist Bezugslinie zur Orientierung

Tabelle 12: Pearson Korrelation von Harzfluss vor (HF_{ν}) der Inokulation und Nekroselänge, Nekrosebreite und Nekrosefläche (sign. Zusammenhänge fett markiert)

Grosmannia	stark befallen	schwach befallen	Kontrollbäume
HF _v +NL	r= -0,225	r= 0,061	r= 0,721
	p= 0,461	p= 0,859	p= 0,008
HF _v +NB	r= -0,240	r= -0,061	r= -0,064
	p= 0,430	p= 0,858	p= 0,843
HF _v +NF	r= 0,231	r= 0,025	r= 0,358
	p= 0,447	p= 0,942	p= 0,253
Leptographium			
HF _v +NL	r= -0,399	r= -0,205	r= 0,305
	p= 0,177	p= 0,546	p= 0,335
HF _v +NB	r= -0,187	r= -0,494	r= -0,072
	p= 0,540	p= 0,122	p= 0,824
HF _v +NF	r= -0,435	r= -0,290	r= 0,136
	p= 0,137	p= 0,387	p= 0,674
Endoconidiophora			
HF _v +NL	r= -0,196	r= 0,104	r= 0,236
	p= 0,522	p= 0,761	p= 0,461

HF _v +NB	r= 0,230	r= 0,103	r= -0,058
	p= 0,450	p= 0,763	p= 0,857
HF _v +NF	r= -0,066	r= 0,023	r= 0,221
	p= 0,830	p= 0,947	p= 0,491
Agarkontrolle			
HF _v +NL	r= -0,125	r= -0,526	r= -0,024
	p= 0,684	p= 0,096	p= 0,942
HF _v +NB	r= 0,032	r= -0,437	r= -0,113
	p= 0,916	p= 0,178	p= 0,726
HF _v +NF	r= -0,142	r= -0,506	r= -0,070
	p= 0,644	p= 0,112	p= 0,830

Tabelle 13: Pearson Korrelation von Harzfluss nach (HF_N) der Inokulation und Nekroselänge, Nekrosebreite und Nekrosefläche sign. Zusammenhänge fett markiert)

Grosmannia	stark befallen	schwach befallen	Kontrollbäume	
HF _N +NL	r= -0,712	r= -0,121	r= 0,224	
	p= 0,006	p= 0,723	p= 0,483	
HF _N +NB	r= -0,529	r= 0,168	r= 0,727	
	p= 0,063	p= 0,622	p= 0,007	
HF _N +NF	r= -0,621	r= 0,031	r= 0,390	
	p= 0,024	p= 0,929	p= 0,210	
Leptographium				
HF _N +NL	r= -0,464	r= 0,086	r= 0,156	
	p= 0,110	p= 0,802	p= 0,628	
HF _N +NB	r= -0,251	r= -0,100	r= 0,347	
	p= 0,408	p= 0,770	p= 0,269	
HF _N +NF	r= -0,342	r= 0,103	r= 0,193	
	p= 0,253	p= 0,764	p= 0,549	
Endoconidiophora				
HF _N +NL	r= -0,367	r= 0,050	r= -0,158	
	p= 0,217	p= 0,885	p= 0,624	
HF _N +NB	r= 0,083	r= 0,048	r= 0,110	
	p= 0,787	p= 0,888	p= 0,733	
HF _N +NF	r= -0,283	r= -0,062	r= -0,096	
	p= 0,349	p= 0,857	p= 0,766	
Agarkontrolle				
HF _N +NL	r= -0,459	r= -0,454	r= 0,205	
	p= 0,114	p= 0,161	p= 0,523	
HF _N +NB	r= -0,574	r= -0,564	r= 0,182	
	p= 0,040	p= 0,071	p= 0,572	
HF _N +NF	r= -0,550	r= -0,445	r= 0,275	
	p= 0,051	p= 0,171	p= 0,387	

Der Harzfluss nach der Inokulation und die Nekroseausmaße sind tendentiell negativ korreliert. In anderen Worten bedeutet dies, dass solche Bäume, die einen niedrigen Harzfluss zeigten auch große

Nekroseausmaße hatten. Jedoch gibt es Unterschiede zwischen den Baumkollektiven. Am deutlichsten ist dies bei der Fläche von Grosmannia erkennbar: Die stark befallenen Bäume zeigen signifikant negative Korrelationen mit der Länge und der Fläche. Eine ebenfalls negative Korrelation bei der Breite verfehlt das Signifikanzniveau knapp. Die Kontrollbäume zeigen bei der Fläche von Grosmannia überhaupt keine negative Korrelation.

5.2. Belagsdichte an Nymphen im Boden

Vom Beginn der Erhebungen im April 2014 verringerte sich die Belagsdichte der Nymphen im Boden bis zum Ende der Untersuchungen im Mai 2017 um mehr als 95%. Dies entspricht einem Rückgang der durchschnittlichen Dichte von 667 Nymphen pro m² auf 31 Nymphen pro m² (Abb. 29).

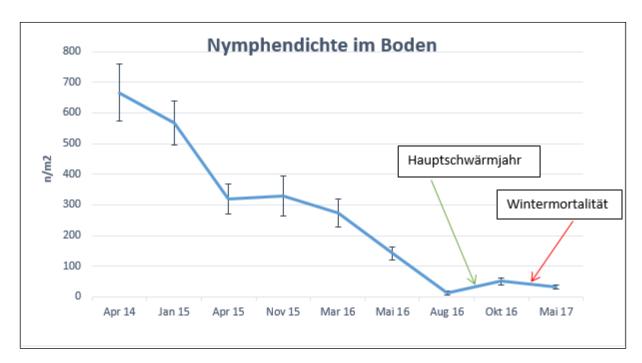


Abbildung 29: Nymphendichte im Boden von April 2014 bis Mai 2017 (MW±SE)

Tabelle 14: Nymphendichte im Boden von April 2014 bis Mai 2017 (MW±SE)

Monat der Messung	Apr 14	Jan 15	Apr 15	Nov 15	Mar 16	Mai 16	Aug 16	Okt 16	Mai 17
MW±SE der Dichte je m²	667± 92,2	568± 72,9	320± 49,2	330±65,1	274± 44,6	142± 21,9	14± 6,0	51± 10,8	31± 6,6

Ein zwischenzeitlicher Anstieg von August 2016 zum Oktober 2016 erklärt sich durch das in diesem Jahr stattfindende, sogenannte Hauptschwärmjahr. Das heißt, dass durch den Schwärmflug der adulten Wespen, Eiablage und erfolgreicher Entwicklung der Larven die Dichte der Nymphen im Herbst jene im Sommer übersteigt. Es handelt sich dabei um die Larven, die nach dem Fraß in den Fichtenkronen abgebaumt sind. Im Jahr 2016 bedeutet dies in Zahlen, dass nach dem Schlupf der

Wespen im Sommer eine Dichte von 14 ± 5.7 Nymphen pro m^2 erhoben wurde, die im Oktober auf durchschnittlich 56 ± 10.7 Nymphen pro m^2 anstieg.

Im Oktober 2016 erfolgte eine detailliertere Auswertung, um die Dichte und den Entwicklungszustand der Nymphen im Boden unter jedem der Probebäume und 3 Kontrollbäumen zu bestimmen (Tabelle 15).

Tabelle 15: Belagsdichte der Nymphen je Probebaum (n/0,1m²) zu den Erhebungen im Oktober 2016 und Mai 2017

Baumkollektiv	Baum-	Okt 16	Mai 17
stark befallen	nummer 1	4	2
stark befallen	2	10	4
stark befallen	3	5	•
	4		2
stark befallen	·	21	2
stark befallen	8	4	0
stark befallen	9	4	8
stark befallen	10	6	5
stark befallen	12	6	8
stark befallen	13	0	3
stark befallen	14	7	2
stark befallen	15	4	7
stark befallen	17	2	0
stark befallen	18	2	2
Mittelwert		5,8	3,5
Standardfeh	_	0,8	0,4
schwach befallen	5	8	3
schwach befallen	6	5	0
schwach befallen	7	16	1
schwach befallen	11	8	11
schwach befallen	16	2	2
schwach befallen	19	1	2
schwach befallen	20	2	2
schwach befallen	33	2	n.best
schwach befallen	34	3	n.best
schwach befallen	35	2	n.best
schwach befallen	36	5	n.best
Mittelwert		4,9	3,0
Standardfeh	ler	0,7	0,6
Kontrollbäume	21	7	0
Kontrollbäume	31	1	n.best
Kontrollbäume	32	1	n.best
Mittelwert	3	0	
Standardfeh	0,5	0	
Mittelwert (ges	3,8	1,8	
Standardfehler(g	esamt)	0,8	0,5

Die Anzahl der Tiere bei den einzelnen Versuchsbäumen schwankte beträchtlich, von keinem Tier bei Baum Nr. 13 bis zu 210 Nymphen/m² bei Baum Nr. 4. Insgesamt wurden bei 27 Bodenproben 135 Tiere gefunden, von denen 9 (6,7%) bereits tot waren. 132 Tiere befanden sich im Eonymphenstadium (97,8%), während nur 3 Pronymphen (2,2%) gefunden werden konnten. Anhand ihres Frischgewichts von weniger als 100 mg konnten 80 (59,3%) Tiere als Männchen und 55 (40,7%) Nymphen aufgrund ihres Frischgewichts von mehr als 100 mg als Weibchen bestimmt werden. Daraus ergibt sich ein Geschlechterverhältnis von 1,45:1 zugunsten der Männchen. Der Schwerpunkt des Befalls lag im Oktober 2016 im westlichen Teil des Bestands bei den Bäumen 2, 4, und 7, die Werte weit über der durchschnittlichen Belagsdichte aufwiesen (vgl. Tab. 15).

Die höchste Nymphendichte trat im Mai 2017 bei den Bäumen 9-12 und bei Baum 15 auf. Sie lag dort weit über dem Durchschnitt von 31±6,6 Nymphen pro m². Insgesamt wurden bei dieser Bodenprobensammlung (20 Proben) 66 Tiere gefunden, von denen 2 (3,0%) bereits tot waren (siehe Tab. 15). 61 (92,4%) Eonymphen wurden gefunden, 5 Tiere (7,6%) befanden sich im Pronymphenstadium. Die Geschlechtsbestimmung anhand des Frischgewichts von mehr bzw. weniger als 100 mg, erbrachte 18 (27,3%) Weibchen und 48 Männchen (72,7%). Somit wurde ein Geschlechterverhältnis 2,67:1 zugunsten der Männchen errechnet.

- 5.3. Energiestatus der Nymphen
- 5.3.1. Gewichtsverteilung, Wassergehalte, Farbpolymorphismus

Da in der Bodenprobensammlung vom Oktober nur drei Pronymphen gefunden wurden, beziehen sich die folgenden Auswertungen der biochemischen und physiologischen Parameter auf Eonymphen. Diese Tiere, die nach Abschluss des Abbaumens im Oktober dem Waldboden entnommen wurden, werden als Variante "Freiland" bezeichnet. Jene Eonymphen, die nach der Entnahme aus den Fangtrichtern Mitte September 2016 unter konstant 15°C im Klimaschrank in Kästen mit Erde bis Mitte Jänner 2017 lagerten, werden in der Folge als Variante "Klimaschrank" bezeichnet.

Die Gewichte von Weibchen und Männchen unterschieden sich höchst signifikant (T=30,511; p=0,000), zwischen den beiden Varianten Freiland und Klimaschrank konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (T=1,810; p=0,072) (Abb. 30). Weibchen der Variante Klimaschrank (n=41) wogen im Schnitt 147,1±3,7 mg, damit waren sie mehr als doppelt so schwer als die Männchen (n=42; 70,3±1,8 mg). Die Weibchen aus dem Freiland (n=49) waren mit 139,1±3,0 mg ebenfalls knapp doppelt so schwer als die entsprechenden Männchen (71,3±1,2mg, n=76).

Im Wassergehalt unterschieden sich die beiden Geschlechter nicht signifikant (T=0,869; p=0,458): Doch sowohl Weibchen (68,1±0,9%) als auch Männchen (69,8±1,1%) der Variante Klimaschrank hatten einen höchst signifikant (T=3,917; p=0,000) unterschiedlichen Wassergehalt als Nymphen aus dem Freiland (Weibchen 62,3±1,4% bzw. Männchen 65,6±1,0%) (siehe Abbildung 31).

In Abbildung 32 wird die Gewichtsverteilung von direkt aus dem Freiland entnommenen Nymphen mit den im Klimaschrank bei 15°C gehaltenen Tieren verglichen. Alle vorhandenen Nymphen wurden in 10 mg- Gewichtsklassen zusammengefasst. Es zeigte sich eine zweigipflige Verteilung: Beim ersten Gipfel zwischen 60 mg und 80 mg handelte es sich um Männchen. Bei den Weibchen war insbesondere bei Tieren, die im Klimaschrank gehalten wurden, eine breitere Gewichtsverteilung erkennbar. Die Mehrheit der Weibchen aus dem Freiland hatten ein Gewicht von 130 bis 155 mg, jedoch maximal 181 mg. Das schwerste Tier aus dem Klimaschrank wog 203 mg. Für alle biochemischen und physiologischen Untersuchungen wurden keine Tiere mit extremen Körpergewichten verwendet.

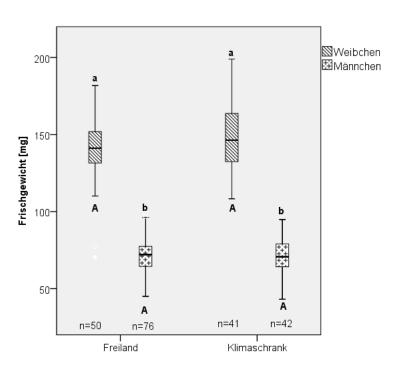


Abbildung 30: Frischgewichte [mg] von Eonymphen im Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland

Erklärung: Kleinbuchstaben über den Boxplots geben signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern derselben Variante an, unterschiedliche Großbuchstaben unter den Boxplots geben signifikante Unterschiede im selben Geschlecht zwischen den Varianten an (t-Test, p<0,05) Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar.

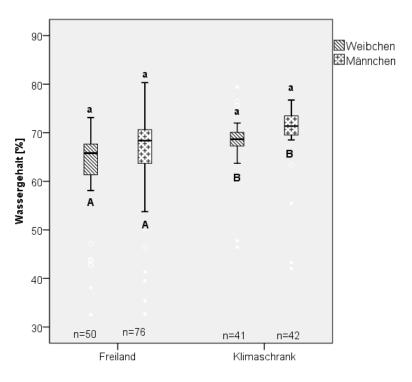


Abbildung 31: Wassergehalte [%] von Eonymphen im Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland

Unterschiedliche Kleinbuchstaben über den Boxplots geben signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern derselben Variante an, unterschiedliche Großbuchstaben unter den Boxplots geben signifikante Unterschiede im selben Geschlecht zwischen den Varianten an (t-Test, p<0,05); Erklärung Boxplots: siehe Abb. 30

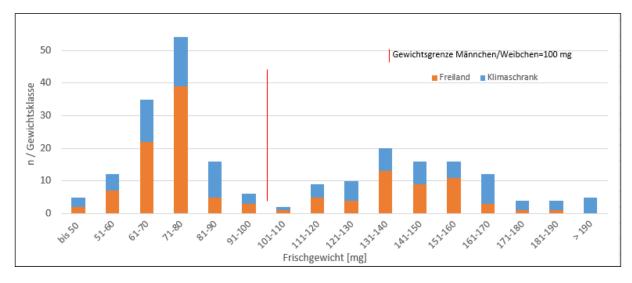


Abbildung 32: Verteilung der Eonymphen aus dem Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland zu 10 mg- Gewichtsklassen von 50 bis 190 mg

Tabelle 16: Körperfarben der Eonymphen unterschiedlicher Varianten (Absolute Zahl bzw. prozentualer Anteil)

Eonymphen-Variante	grün	gelb		
Freiland (n=135)	133 [98,4%]	2 [1,6%]		
Klimaschrank (n=100)	93 [93%]	7 [7%]		

Von den Nymphen aus den Fangtrichtern (spätere Haltung im Klimaschrank) waren 7% der Individuen gelb gefärbt, der Rest war leuchtend grün. Bei den aus dem Waldboden entnommenen Nymphen (Freiland) fanden sich lediglich 1,6% gelbe Individuen. Alle gefundenen Tiere waren in der Gewichtsklasse unter 100 mg und damit Männchen.

5.3.2. Energiehaushalt

Energie- und Reservestoffe unterschieden sich auf das Trockengewicht bezogen bei Eonymphen aus den Varianten Freiland und Klimaschrank deutlich: Tiere aus dem Freiland hatten einen signifikant niedrigeren Proteingehalt als Eonymphen, die im Klimaschrank gehalten worden waren (t=2,413; p=0,017). Eonymphen aus dem Freiland hatten auch höchst signifikant weniger Kohlenhydrate als Tiere aus dem Klimaschrank (t=3,885; p=0,000). Bei den Glykogen- und Lipidgehalten hatten jedoch die Eonymphen aus dem Freiland signifikant höhere Werte. Der Unterschied war bei Glykogen (t=-2,932, p= 0,004) hoch signifikant und bei den Lipiden (t=-18,397, p=0,000) höchst signifikant (vgl. Abb.33, Tab. 17)

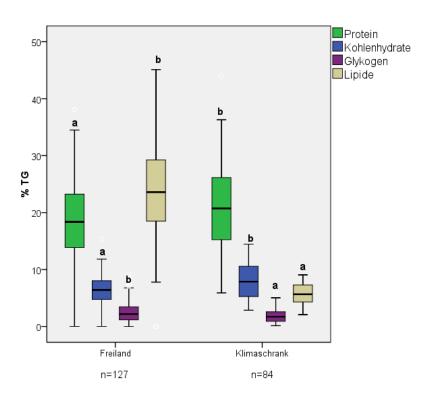


Abbildung 33: Biochemische Parameter der Eonymphen (Weibchen und Männchen) aus dem Freiland und der Variante Klimaschrank (t-Test, p<0,05)

Erklärung: Unterschiedliche Buchstaben über den Boxplots stehen für signifikante Unterschiede zwischen beiden Aufzuchtvarianten Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar.

Zwischen den im Freiland und den im Klimaschrank gehaltenen Eonymphen gab es bezogen auf das Frischgewicht keine signifikanten Unterschiede in den Gehalten an löslichen Kohlenhydraten (t=-1,285; p=0,200) und Proteinen (t=0,156; p=0,877). Im Lipidgehalt war eine sehr deutliche Abnahme von Tieren aus dem Freiland zu jenen im Klimaschrank zu erkennen. Tiere aus dem Freiland wiesen einen Gehalt von 8,07±0,22% auf, während die Eonymphen aus dem Klimaschrank nur einen Lipidgehalt von 1,75±0,06% hatten (siehe Abbildung 34, Tabelle 17). Der Unterschied war höchst signifikant (t=23,242; p=0,000). Auch der Glykogengehalt war bei frisch untersuchten Freilandtieren (0,95±0,06%) höchst signifikant (t=4,787; p=0,000) höher als bei Tieren aus dem Klimaschrank (0,57±0,04%).

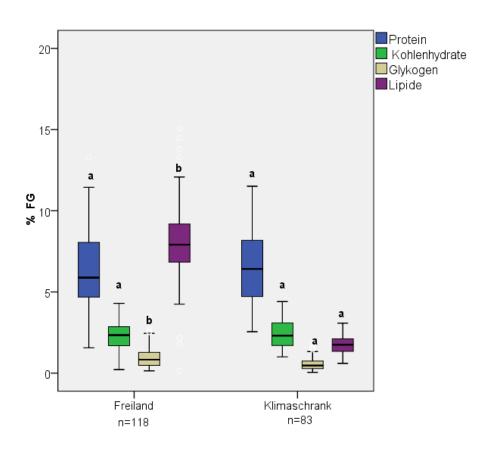


Abbildung 34: Biochemische Parameter (in % FG) von Eonymphen (Männchen und Weibchen) der Varianten Freiland und Klimaschrank (t-Test, p<0,05)

Unterschiedliche Buchstaben über den Boxplots stehen für signifikante Unterschiede zwischen beiden Aufzuchtvarianten Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar.

Tabelle 17: Biochemische Parameter von Eonymphen- Männchen und Weibchen aus dem Freiland bzw. Klimaschrank

	Freil	and	Klimaschrank			
	Männchen (n=76)		Männchen (n=42)	Weibchen (n=41)		
Frischgewicht [mg]	71,3±1,2aA	139,1±3,0bA	70,3±1,8aA	147,1±3,7bA		
Trockengewicht [mg]	24,5±0,8aA	54,5±3,1bA	21,5±1,2aA	47,2±1,9bA		
Wassergehalt [%]	65,6±1,0aB	62,3±1,4aB	69,8±1,1aA	68,1±0,9aA		
SCP [-°C]	17,42±0,8a (n=16)	17,26±0,7a (n=21)				
[% FG]						
Proteine	6,25±0,26aA	6,84±0,37aA	5,79±0,31aA	7,08±0,32bA		
Kohlenhydrate	2,25±0,10aB	2,27±0,09aA	3,05±0,10aA	1,73±0,08bB		
Glykogen	0,95±0,08aB	0,95±0,10aB	0,71±0,06aA	0,43±0,05bA		
Lipide	8,28±0,33aB	7,76±0,26aB	1,77±0,09aA	1,74±0,07aA		
[% TG]						
Proteine	17,37±0,69aA	20,97±1,33bA	19,64±1,16aA	22,58±1,01aA		
Kohlenhydrate	7,43±0,28aB	4,99±0,29bA	10,30±0,31aA	5,51±0,26bA		
Glykogen	3,25±0,28aB	1,94±0,19bB	2,46±0,20aA	1,38±0,18bA		
Lipide	26,24±0,88aB	19,53±1,09bB	5,98±0,30aA	5,52±0,23aB		

In Tabelle 18 sind die Ergebnisse der wenigen verfügbaren Pronymphen ohne statistische Auswertung (zu geringe Anzahl im Vergleich zu den Eonymphen) dargestellt. Bei den Eonymphen gefundene, signifikante Unterschiede, wie niedrigere Lipid- und Glykogengehalte bei den Tieren aus dem Klimaschrank, treten auch bei den Pronymphen auf. Einzelne Werte (z.B. Frischgewicht der Weibchen aus dem Klimaschrank, Proteingehalt in % Trockengewicht der Weibchen aus dem Freiland) weisen jedoch sehr deutliche Unterschiede zu den Eonymphen und den Pronymphen der jeweils anderen Herkunft auf.

Tabelle 18: Biochemische Parameter von Pronymphen- Männchen und Weibchen aus dem Freiland bzw. Klimaschrank

	Freila	and	Klimaschrank			
	Männchen (n=2)	Weibchen (n=1)	Männchen (n=8)	Weibchen (n=9)		
Frischgewicht [mg]	72,4±2,3	124,84	81,2±5,3	172,6±8,1		
Trockengewicht [mg]	22,7±2,9	40,91	20,2±2,6	44,7±3,2		
Wassergehalt [%]	68,7±3,0	67,23	75,1±2,7	74,0±1,6		
[% FG]						
Proteine	8,00±2,13	5,54	4,65±0,35	4,87±0,48		
lösl. Kohlenhydrate	2,21±0,17	2,39	2,00±0,21	1,42±0,12		
Glykogen	0,77±0,52	0,34	0,29±0,06	0,17±0,02		
Lipide	7,71±1,04	6,03	1,00±0,18	1,32±0,11		
[% TG]						
Proteine	21,78±1,49	40,52	19,43±1,51	18,81±1,63		
lösl. Kohlenhydrate	7,51±0,52	4,47	8,39±0,96	5,45±0,41		
Glykogen	0,91±0,27	0,62	1,25±0,27	0,67±0,08		
Lipide	14,59±0,29	13,3	4,03±0,74	5,08±0,32		

Bei der Analyse aller Eonymphen (Varianten Freiland und Klimaschrank gemeinsam) konnten bei allen vier gemessenen Nährstoffklassen signifikante Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen festgestellt werden. Der deutlichste Unterschied war bei den Lipiden zu beobachten. Der Gehalt an Lipiden (4,60±0,34% FG) war bei den Weibchen signifikant (t=-2.024; p=0,044) niedriger als bei den Männchen (5,60±0,35% FG). Zwischen dem Glykogengehalt der Weibchen (0,64±0,06%) und dem der Männchen (0,82±0,05%) bestand ebenfalls ein signifikanter (t=-2,245; p=0,026) Unterschied. Der Proteingehalt der Weibchen lag bei 6,74±0,23%, während der der Männchen mit 6,02±0,19% signifikant (t=2,417; p=0,017) geringer war. Der Zuckergehalt der Weibchen (1,96±0,07%) war dagegen höchst signifikant (t=-5,229; p=0,000) niedriger als der der Männchen (2,51±0,08%) (vgl. Abb. 35; Tab. 17).

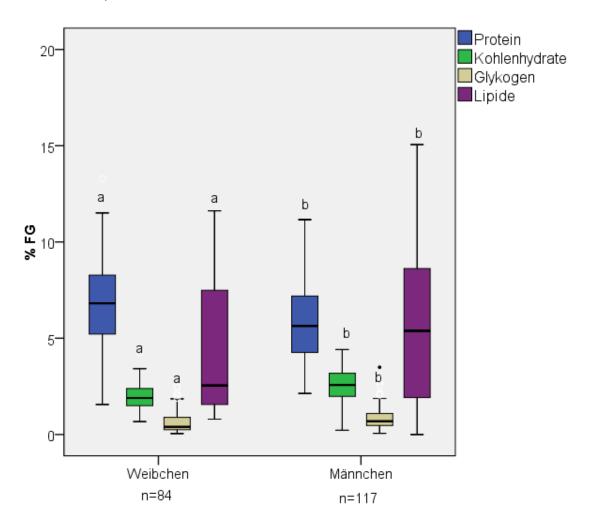


Abbildung 35: Biochemische Parameter (in % FG) von Eonymphen-Männchen und Eonymphen-Weibchen (Varianten Freiland und Klimaschrank) (t-Test, p<0,05)

Unterschiedliche Buchstaben über den Boxplots stehen für signifikante Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen Boxplots: Die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar.

Ein T-Test für die biochemischen Parameter der gelb gefärbten Tiere (Männchen) zeigte einen höchst signifikant (t=-12,487; p=0,000) höheren Lipidgehalt bei Eonymphen aus dem Freiland (7,63±0,96% FG) im Vergleich zu Tieren aus dem Klimaschrank (1,14±0,16% FG). Die drei weiteren Parameter (Protein, Glykogen; Kohlenhydrate) zeigten keine signifikanten Unterschiede in den beiden Varianten. Da nur sehr geringe Anzahlen gelber Tiere vorliegen, besteht eine statistische Unsicherheit.

5.3.3. Unterkühlungspunkt

Der Unterkühlungspunkt wurde an insgesamt 16 weiblichen und 21 männlichen Eonymphen der Variante Freiland (Oktober 2016) bestimmt. Der Unterschied war nicht signifikant (t= 0,145, p=0,885). Die Männchen hatten mit -17,4±0,8°C einen geringfügig tieferen Unterkühlungspunkt als die Weibchen (-17,3±0,7°C) (vgl. Abb.36).

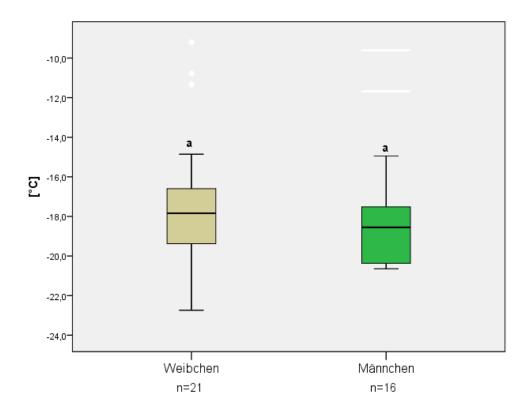


Abbildung 36: Boxplots der Unterkühlungspunkte [°C] der Eonymphen aus dem Freiland (Männchen und Weibchen) (t-Test, p<0,05)

Erklärung: Ungleiche Buchstaben über den Boxplots kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern; Bei den Boxplots stellt die gefettete Linie stellt den Median, die beiden äußeren Linien der Boxen die 25- bzw. 75-Perzentile und die Enden der Antennen die Minima bzw. Maxima dar.

5.4. Luft- und Bodentemperaturen im Bestand

Sowohl Boden- als auch Lufttemperaturen wurden als stündliche Mittelwerte während des Beobachtungszeitraums von August 2016 bis Mitte Mai 2017 aufgezeichnet (Abb. 37).

Trotz des beständig kalten und schneearmen Winters 2016/17 fiel die Temperatur im Boden (in 20 cm Tiefe) nie unter 0°C. Sie stagnierte von Anfang Dezember bis Anfang März bei etwa 2°C. Ab Ende Februar stieg die Bodentemperatur über die für die Verpuppung von Pronymphen wichtige Temperaturschwelle von 3°C, während die Temperaturschwelle für die Entwicklung der Eonymphen zu Pronymphen (13°C) erst wieder in der 2.Maihälfte erreicht wurde. Im Spätsommer 2016, als die Larven sich noch in den Kronen befanden, wurde bis zum 18. September eine Lufttemperatur jenseits von 13°C gemessen. Allgemein fallen eine im Vergleich zu den Lufttemperaturen wesentlich geringere Schwankungen der Bodentemperaturen (Abbildung 37) auf. Zum Vergleich sind noch Temperaturmittel, Maximal- und Minimaltemperaturen sowie die Niederschläge der der Untersuchungsfläche nächstgelegenen Wetterstation abgebildet (Tabelle 19). Hierbei handelt es sich um die vom ZAMG betriebene und rund 10 Kilometer entfernte Station "Stift Zwettl". Im Untersuchungszeitraum treten sehr geringe Niederschläge und markante Extremwerte auf. Diese Extremwerte sind ausgeprägter als im Bestand, der offenbar eine temperaturausgleichende Wirkung hat.

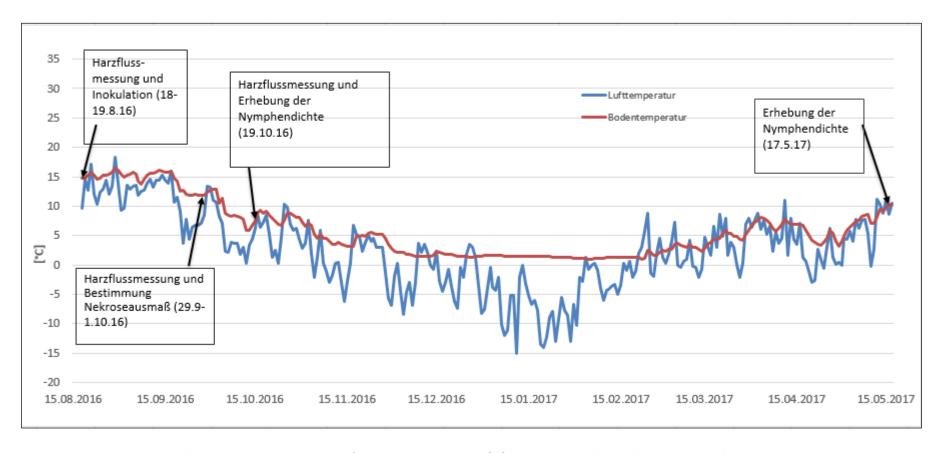


Abbildung 37: Tagesmittelwerte von Luft- und Bodentemperaturen [°C] im Untersuchungsbestand von August 2016 bis Mai 2017

Anmerkung: Wichtige Termine der Freilanduntersuchungen sind eingezeichnet

Tabelle 19: Messwerte der Station Stift Zwettl im Untersuchungszeitraum August 2016-Mai 2017

	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Jän	Feb	Mär	Apr	Mai
Monatsmittel [°C]	15,8	13,3	6,6	1,8	-1,3	-6,6	0,1	4,9	6,2	13,0
Temp. Max [°C]	30,3	28,4	23,4	14,3	10,9	4,2	16,8	20,8	22,4	32,3
Temp. Min [°C]	4,8	1,0	-2,8	-10,1	-12,2	-21,5	-10,2	-5,2	-3,7	-1,6
Niederschlag in [mm]	36	14	59	38	26	14	16	34	56	24

6. Diskussion

Diese Masterarbeit wurde auf einer Versuchsfläche in einem Fichtenaltbestand im Revier Heubach des Stifts Zwettl im Waldviertel durchgeführt, auf der seit 2013 eine Massenvermehrung der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* (L.) beobachtet wurde. Die Untersuchungsfläche ist rein mit Fichten bestockt und liegt auf einer Seehöhe von 780 m. Diese Kriterien prädisponieren den Bestand stark für einen Befall durch *C. abietis* (Führer und Nopp, 2001). In Fortsetzung vorhergehender Arbeiten (Gober 2017, Zelinka 2017, Antonitsch 2017) wurde die Populationsdynamik der Blattwespen auf der Fläche untersucht, der Schwerpunkt der Versuche lag jedoch auf den konstitutiven und induzierten Abwehrmechanismen der von den Blattwespen befallenen Fichten. Diese sind die für das Abwehrsystem von Koniferen entscheidenden Mechanismen (Lieutier, 2004; Franceschi et al, 2005). Die konstitutive Abwehr ist sozusagen eine "Versicherung" gegen Angriffe, die zum Beispiel aus dem Primärharzfluss und der Einlagerung von Lignin und Suberin in häufig betroffene Gewebe besteht (vgl. Kapitel 3.1.). Die induzierte Abwehr ist als präzise Reaktion des Baumes auf einen Angriff zu verstehen. Sie zeichnet sich durch sekundären Harzfluss, die hypersensitive Wundreaktion (Nekrosebildung um Infektion einzudämmen) und den Einsatz von Mono- und Sesquiterpenen aus.

Zunächst mussten auf der Untersuchungsfläche verschiedene Schädigungsgrade der Fichten durch die Blattwespen bestimmt werden. Der Nadelverlust der Fichten bedeutet auch einen Verlust an Assimilationsfläche. Durch die eingeschränkte Verfügbarkeit von Kohlenstoff werden ihre Abwehrmechanismen beeinträchtigt und es entsteht eine Befallsdisposition für Sekundärschädlinge. Offenkundig wurde diese Möglichkeit in den Jahren 2015 und 2016 als auf der Untersuchungsfläche einige Bäume, auch Probebäume aus dem Transekt, Stehendbefall vom Buchdrucker (*Ips typographus*) zeigten und gefällt werden mussten.

Zwei Hypothesen waren daher Ausgangspunkt für diese Arbeit: Stark geschädigte Bäume zeigen ein verringertes Abwehrvermögen, während schwach geschädigte Bäume und ungeschädigte Kontrollbäume eine hohe Abwehrbereitschaft aufweisen. Die Verhaltensmuster der Pflanzenabwehr (Herms & Mattson 1992, Stamp 2003) sind sehr komplex aufgebaut und daher nicht mit einzelnen Modellen bzw. Ansätzen zu erklären. Konstitutive Abwehrmechanismen sind am ehesten witterungsbeeinflusst, während induzierte Abwehrmechanismen hauptsächlich mit der Kronenentwicklung des Baums zusammenhängen und als Reaktion auf eine Verletzung prioritär werden (Lombardero et al., 2000). Kohlenstoffüberschüsse, die nicht für das Wachstum gebraucht werden, werden in die induzierte Abwehr investiert. Es ist zu erwarten, dass starke Nadelverluste die Photosynthese einschränken und sich negativ auf die Kohlenstoffvorräte auswirken.

Diese Hypothesen schlugen sich auf den Versuchsaufbau nieder: Basierend auf Nadelverlusten der Versuchsbäume im Jahr 2013 und der im Jahr 2014 erhobenen Nymphendichte (Steyrer et al., 2014) im Boden wurden drei Baumkollektive definiert: Bäume mit starken Nadelverlusten und Belagsdichten über 470 Nymphen pro m² (Baumkollektiv stark befallen) befanden sich im Zentrum der Versuchsfläche. Die Bäume, die im äußeren Bereich der Transekte und auf dem neu ausgeschiedenen, staunassen Standort am nordöstlichen Rand der Transekte stockten, zeigten geringe Nadelverluste und Belagsdichten unter 380 Nymphen pro m² (Baumkollektiv schwach befallen). Die Kontrollbäume ohne sichtbare Nadelverluste und ganz wenigen Nymphen (≤ 30 Nymphen/m²) im Boden wurden östlich der Forststraße ausgewählt. Des Weiteren wird vor allem die induzierte Abwehr durch von Borkenkäfern eingeschleuste Bläuepilze beeinflusst. Um die induzierte Abwehr zu testen, wurden drei im Labor gezüchtete Bläuepilze und ein steriles Nährmedium ("Agarkontrolle") künstlich inokuliert und die durch sie verursachte hypersensitive Wundreaktion ausgewertet.

Wichtige Aspekte neben der Baumabwehr stellte die Populationsentwicklung von *C.abietis* dar: Wie hat sich die Nymphendichte im Boden nach dem Hauptschwärmjahr 2016 entwickelt? Aufschluss darüber gaben zwei Bodenprobennahmen im Oktober 2016 und Mai 2017. Wie unterscheiden sich die biochemischen Eigenschaften von Nymphen, die sich auf die Überwinterung im Waldboden vorbereitet hatten, von Nymphen die im Labor bei Bodentemperaturen jenseits des Entwicklungsnullpunkts gehalten werden?

Abwehrmechanismen

Der Harzfluss der Versuchsbäume wurde Mitte August direkt vor Inokulation der Bläuepilze, 6 Wochen nach Inokulation Ende September und 9 Wochen nach Inokulation Mitte Oktober 2016 gemessen. Bei der Kontrolle der Nekroseflächen wurde davon ausgegangen, dass die Wundreaktion der Fichten schon längere Zeit (Mindestzeit von 5-20 Tagen, Lieutier et al., 2009) abgeschlossen war.

Im gesamten Baumkollektiv war ein höherer Harzfluss bei den östlich exponierten als bei den westlich exponierten Messungen zu erkennen. Nach dem Trend der Messetermine im August und September war der Unterschied bei der Oktobermessung signifikant. Erklärungen für diese Unterschiede sind kaum greifbar. Bei *Pinus contorta* und *Pinus banksiana* in Kananda konnte auf der licht- und temperaturbegünstigten Südseite des Stammes eine signifikant wirksamere Wundreaktion nachgewiesen werden (Lusebrink et al., 2016). Da die Untersuchungsfläche in östlicher Richtung von einem Jungbestand begrenzt wird, könnte erhöhter Lichteinfall auch hier den Harzfluss begünstigen.

Zwischen den Messungen vor und nach der Inokulation war ein leichter Anstieg, jedoch kein signifikanter Unterschied im gesamten Baumkollektiv feststellbar. Der fehlende signifikante Unterschied ergibt sich durch hohe konstitutive und geringe induzierte Harzflüsse. Mehrere Studien zeigen, dass der konstitutive Harzfluss bei Fichten und Kiefern witterungs- und temperaturbeeinflusst wird. Im Frühjahr und in Zeiten von Wasserknappheit ist er daher besonders hoch (Paine et al. 1997, Lombardero et al. 2000, Baier et al. 2002). Daten der Wetterstation "Stift Zwettl" (Tab. 19, S.70) zeigen für den August 2016 Niederschlagsmengen von lediglich 36 mm. Dies entspricht 36 % der üblichen Regenmenge im August (ZAMG, 2016). Die Wasserknappheit wird standortbedingt verschärft (Standortbeschreibung auf S. 19). Der induzierte Harzfluss ist neben der Kronenentwicklung auch von der Jahreszeit abhängig. Im Frühsommer ist er höher als im Spätsommer (Lombardero et al., 2000). Die Bäume im Bestand waren vielen negativen Einflüssen ausgesetzt. Bis 2013 herrschte extremer Dichtstand (Duhan, pers. Mitteilung), es folgte die Gradation von *C. abietis* (Steyrer et al., 2014) und Eisbruchschäden im Dezember 2014 (Steyrer et al., 2014) sowie der trockene und heiße Sommer 2015.

Die Harzfluss-Raten aller Probebäume sanken im Oktober signifikant. Die Witterungsbedingungen an diesem Termin unterschieden sich stark von jenen der vorhergehenden Messaktionen. Während die mittleren Tagestemperaturen am 19. August und 30. September bei 19 bzw. 17°C lagen, wurden die Messungen am 19. Oktober bei 9°C und Nebel durchgeführt. Die Lufttemperaturen im Bestand lagen in der gesamten Vorwoche unter 5°C. Jahreszeitliche Schwankungen im Harzfluss sind sehr eng mit der Temperatur verbunden (Baier et al., 2002). Niedrige Temperaturen schränken die Viskosität des Harzes deutlich ein (Pollak, 1993; Kraus, 1995). Da die Messergebnisse damit hauptsächlich von der Temperatur und weniger vom Abwehrstatus der Fichten beeinflusst waren, werden in weiterer Folge nur die Daten vom August und September zur Interpretation von Zusammenhängen herangezogen.

Im Baumkollektiv "schwach befallen" war der Harzfluss vor der Inokulation am niedrigsten und zeigte eine geringe Streuung. Stark befallene Bäume und Kontrollbäume zeigten etwas höhere Harzflüsse und höhere Streuungen. Die Unterschiede waren nicht signifikant. Die Harzflüsse an beiden Terminen nach der Inokulation unterschieden sich von denen vor der Inokulation in den einzelnen Baumkollektiven bei einer ANOVA nicht signifikant. Ein T-Test ("Harzfluss vorher" vs. "Harzfluss nachher" (30. September)) ergab einen signifikanten Unterschied nur in der Gruppe der stark befallenen Bäume. Der Anstieg zeigte sich zum großen Teil auch bei den Einzelbäumen dieser Gruppe. In den beiden anderen Gruppen waren die Harzflüsse generell niedriger und gingen bei vielen Bäumen nach der Inokulation zurück. Wenige Bäume der Gruppe "schwach befallen" zeigten deutliche Anstiege.

Stress aufgrund verschiedener abitioscher und biotischer Ursachen kann bis zu einem bestimmten Grad Abwehrmechanismen von Pflanzen aktivieren (Herms und Mattson, 1992; Stamp, 2003). Als Ursachen für Stress von Wirtspflanzen kommen zum Beispiel Blattfraß durch Insekten, Trockenheit (Netherer et al., 2016) oder Sturm- und Eisbruchschäden (Steyrer et al., 2014) in Frage. Laut der "Carbon-Nutrient-Balance"-Hypothese wird Kohlenstoff, wenn Pflanzennährstoffe und Feuchtigkeit in ausreichender Menge verfügbar sind, zunächst in Wachstum investiert und nur überschüssiger Kohlenstoff gespeichert (Herms und Mattson, 1992; Stamp, 2003). Diese Vorräte werden zusätzlich zu aktuellen Ressourcen aus der Photosynthese mobilisiert. Die Mobilisierung von Abwehrstoffen gilt insbesondere für leicht gestresste Bäume (Lombardero et al., 2000). Demzufolge war in der Befallsklasse "schwach" sowohl eine erhöhte konstitutive als auch induzierte Abwehrreaktion in Form von höherem Harzfluss zu erwarten, was sich in den Versuchsergebnissen jedoch nicht bestätigte.

Nadelbäume, insbesondere Fichten, reagieren sehr sensibel auf den Verlust ihrer Blattmasse, weil sie einen großen Anteil ihrer Kohlenstoffreserven in den Nadeln speichern (Stamp, 2003). Baier et al. (2002) stellten sowohl in durchforsteten als auch undurchforsteten Beständen sehr variable Reaktionen der Fichten fest, die mit E. polonica inokuliert worden waren. Der induzierte Harzfluss war in undurchforsteten Beständen signifikant höher als in durchforsteten. Wachstum und Harzkanaldichte der Fichte korrelierten deutlich; bei wüchsigen, vitalen Bäumen wiesen die Autoren einen signifikant negativen Zusammenhang zur Querschnittsfläche der Harzkanäle nach, womit der konstitutive Harzfluss entsprechend niedrig ausfallen sollte. In einer Studie von Waring und Pitman (1985) wiesen stark durchforstete Kiefernbestände von Pinus contorta eine höhere Baumvitalität auf als Bäume aus nicht durchforsteten Beständen und zeigten eine signifikant geringere Befallsdisposition gegenüber der Borkenkäferart Dendroctonus ponderosae. Durch das aufgelichtete Kronendach gelangte mehr Licht in die Kronen der verbliebenen Bäume, die ihre Photosyntheseleistung deutlich steigern und offenbar ihre Abwehr verbessern konnten. Dazu wurde der Holzzuwachs in Relation zur Blattoberfläche berechnet ("Tree-Vigor-Index"). Dies ist insofern aussagekräfig, da der Holzzuwachs in seiner Priorität hinter Blatt-, Wurzelzuwachs und der Kohlenstoffspeicherung steht (Waring und Pitman, 1985). Bäume mit einem hohen Tree-Vigor-Index haben demnach hohe Kohlenstoffspeicher.

Insgesamt zeigen die beiden Fallstudien, dass verschiedene Stressursachen an unterschiedlichen Baumarten, nicht leicht zu definieren sind. Die Reaktionen der Bäume können daher in jeder Fallstudie unterschiedlich ausfallen. Offenbar wurde in der vorliegenden Fallstudie der Stress durch

den Blattwespenbefall leicht überschätzt, so dass "schwach" befallene Bäume keinen Stress und "stark" befallene Bäume milden Stress empfanden und ihre Abwehr entsprechend anpassten.

Auch auf der Versuchsfläche fand im Herbst 2014 ein Lichtungshieb statt (Duhan, pers. Mitteilung), gefolgt von Sanitätshieben nach den dramatischen Eisbruchschäden vom Dezember 2014 (Steyrer et al., 2014) sowie einer Entnahme von Einzelbäumen, die vom Buchdrucker befallen waren. Dadurch wurde die Stammzahl drastisch reduziert. Die verbliebenen Bäume profitierten offenbar nicht nur von der stark geminderten Konkurrenz um Wasser, sondern auch vom aufgelichteten Kronendach (Waring und Pitman, 1985). Trotz des trocken-heißen Sommers 2015 und mäßigen Fraßschaden von C. abietis im Jahr 2016 konnte wieder genügend neue Nadelmasse aufgebaut werden. Es ist anzunehmen, dass sich die Assimilationsleistung deutlich gesteigert und neue Reserven gebildet werden konnten (Baier, 1993). Eine Bestandesauflichtung bringt in der Regel weitere indirekte Folgen mit sich: Wärme auf der Bodenoberfläche sorgt für eine Mineralisierung der (Roh)Humusschicht (vgl. Kapitel 4.1.) und damit für eine verbesserte Versorgung der Bäume mit Stickstoff, der das Wachstum ankurbelt. Jene Bäume, die ihre Holzzuwächse im Vergleich zur Blattmasse erhöhen, wachsen effizienter ("Tree-Vigor-Index") und sind besonders abwehrstark (Waring und Pitman, 1985). Auch Lombardero et al. (2000) konnten nachweisen, dass jene Kiefern (Pinus taeda), die über den Sommer gute Wachstumsbedingungen hatten, eine starke induzierte Abwehr zeigten. Stamp (2003) führt an, dass Bäume auf gut lichtversorgten Standorten auch eine höhere Plastizität in ihren Abwehrmechanismen aufweisen. Die wirksame induzierte Wundreaktion bei der Mehrheit der Einzelbäume wird sehr wahrscheinlich durch die jüngere Bestandesentwicklung unterstützt.

Eine eindeutige Entwicklung war nur innerhalb des stark fraßgeschädigten Baumkollektivs erkennbar. Sie bestand aus einem signifikanten Anstieg der Harzflussraten infolge der Wundreaktionen. Der Harzfluss sechs Wochen nach der Inokulation zeigt eine große Spreitung. Für ein Trockenstress-Experiment im Lehrforst der Universität für Bodenkultur wurden drei Gruppen von Fichten ausgeschieden: Nur Bäume deren Wurzelraum ganz abgedeckt war, konnten ihren Harzfluss nach der Inokulation von *E. polonica* signifikant steigern. Halb abgeschirmte Bäume und Kontrollbäume zeigten sogar Rückgänge ihres Harzflusses. Wasserzufluss in den Wurzelraum konnte nicht ausgeschlossen werden bzw. war bei halb abgedeckten Bäumen dennoch möglich. So wirkte der (Wasser)stress milder und sorgte für eine Sensibiliserung der Abwehr der abgedeckten Fichten (Netherer et al., 2016). Moderater Trockenstress führt dazu, dass Photosyntheseprodukte bevorzugt in die Harzkanalanlage und Harzproduktion investiert werden (Paine et al., 1997). Die Untersuchung der Abwehrmechanismen von beschädigten und unversehrten Fichten am Rand einer Lawinenbahn im Wildnisgebiet Dürrenstein zeigte eine höhere Abwehrbereitschaft (höhere Phloemdicke und

signifikant höherer Harzfluss) bei den beschädigten Bäumen auf. Auch hier hatte Stress zur Sensibilisierung der Abwehr geführt und verzögerte den Befall der Fichten mit Borkenkäfern (Blackwell, 2011). Im vorliegenden Experiment verursachte die Sensibilisierung der Baumabwehr die rasche, erhöhte Abwehrbereitschaft der "stark" mit *C. abietis* befallenen Fichten. Bäume mit optisch erkennbaren Rindenschäden an Stamm und Wurzeln (Notizen bei Anlage des Versuchs) zeigten keine auffälligen Harzflüsse.

Ein weiterer guter Indikator für die Effektivität der Baumabwehr ist das Ausmaß der hypersensitiven Wundreaktionszone nach einer Bläuepilzinfektion. Generell ist ein Erreger pathogen, wenn er krankhafte Veränderungen in seinem Wirt auslöst. Je virulenter ein Bläuepilz ist, desto aggressiver etabliert er sich und breitet sich auch in abwehrstarken Wirten aus (Francheschi et al., 2005). Die durch Endoconiophora polonica, Grosmannia penicillata und Leptographium sp. hervorgerufenen Nekrosen lassen daher Rückschlüsse einerseits auf die Resistenz der Versuchsbäume, andererseits auf die Pathogenität der Pilzarten zu. Aufgrund einer langen Koevolution zwischen Pilz und Wirtsbaum konnten sich systemische und lokale Resistenzmarker bilden, die bei einer Infektion aktiviert werden (Lieutier et al., 2009). So kann aus der Effektivität der Baumabwehr auf die aktuelle Empfindlichkeit und die zukünftige Disposition für biotische Schäden geschlossen werden (Netherer et al., 2016). Masseninokulationen, die letztendlich zum Absterben eines Baumes durch Verschluss der Leitungsbahnen (Vertrocknen) führen können (Paine et al., 1997; Lieutier et al., 2009) bewirken eine Verblauung des Splintholzes. Die Tiefe dieser Verblauung kann nur destruktiv (Fällung der Bäume) ausgewertet werden (Krokene et al., 2012) und kam in dieser Arbeit nicht zur Anwendung. Bei Inokulationen in geringer Dichte überlebt der Baum die Bläuepilz-Infektion und die Intensität der Wundreaktion rund um den Inokulationspunkt kann als Maß für die Abwehrbereitschaft des Baumes herangezogen werden (Lieutier et al., 2009). Meist wird die Länge der Wundreaktionszone als Indikator genommen (Kirisits und Angelberger, 1999; Lieutier, 2004; Lieutier et al., 2009; Krokene et al., 2012), aber auch Breite und Fläche der Nekrosen geben Auskunft über die Effizienz der Baumabwehr (Netherer et al., 2016). Im Inokulationsversuch wurden die drei Bläuepilzarten und steriler Agar (als Kontrolle) zufällig auf die kardinalen Richtungen am Stamm verteilt und in zwei Ringen in das Kambium der Probebäume inokuliert.

Diese durch den Versuchsaufbau bedingten, möglichen Ursachen für unterschiedliche
Nekroseausmaße können statistisch ausgeschlossen werden. Sowohl zwischen den beiden
Inokulationsringen als auch zwischen den Kardinalrichtungen wurden keine signifikanten
Unterschiede der Nekroseausmaße festgestellt. Aufgrund signifikanter Unterschiede der Längen,
Breiten und Flächen der Nekrosen aller drei Pilzarten im Vergleich zur Agarkontrolle konnten zufällige

Effekte ausgeschlossen werden. Dies gilt auch innerhalb der einzelnen Befallsklassen. Die Inokulation der Agarkontrolle verursachte immer die kleinsten Reaktionszonen (Länge, Breite, Fläche). Die unterschiedliche Virulenz der inokulierten Pilzstämme hat zu unterschiedlichen Abwehrreaktionen geführt. Unter den drei Pilzarten verursachte *E. polonica* die geringsten Reaktionen bei den Versuchsbäumen. Während sich die mittleren Längen, Breiten und Flächen der Nekrosen nach Inokulation von *E. polonica* und *Leptographium* sp. nicht signifikant unterschieden, hob sich das Ausmaß der Wundreaktion auf *G. penicillata* signifikant ab. Auffallend in den vorliegenden Untersuchungen waren die großen Unterschiede in der Reaktion der Bäume innerhalb einer Befallsklasse mit ähnlicher Schädigung durch die Fichtengespinstblattwespe. In der Klasse "schwach befallen" zum Beispiel war die kleinste von *G. penicillata* verursachte Nekrose 6 cm, die größte 36 cm lang. Eine große Streuung trat auch bei den Breiten und Flächen, aber auch bei anderen Befallsklassen und Pilzarten auf. Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Inokulationsversuche eine deutliche Reihung in der Pathogenität der drei verwendeten Pilzarten: *G. penicillata > Leptographium* sp. ≥ *E. polonica*.

Endoconidiophora polonica ist eine in Europa weit verbreitete Bläuepilzart, die im Kambium der Fichte (Picea abies KARST.) eine sehr deutliche hypersensitive Wundreaktion auslöst (Kirisits, 2009 Krokene et al., 2012; Netherer et al., 2016). Diese Wundreaktion äußert sich in der Ausbildung einer großen Nekrosefläche und -länge. Die Pilzart wurde neben Österreich auch von Fichten in Polen, Norwegen, Slowenien und Finnland isoliert (Kirisits und Anglberger, 1999; Kirisits, 2009; Krokene et al., 2012; Repe et al., 2015; Linnakoski et al. 2016), was allen wichtigen Verbreitungsgebieten der Fichte in Mittel- und Nordeuropa entspricht. Endoconidiophora nutzt den Buchdrucker als Vektor (Kirisits, 2009), der Pilz tritt aber auch als Partner von Ips duplicatus SAHLB. und Ips amitinus EICHH. auf (Kirisits und Anglberger, 1999). Mit dem Buchdrucker sind neben E. polonica sind auch noch einige Arten der Gattungen Ophiostoma und Grosmannia, Ceratocystiopsis, Ceratocystis, Pesotum und Leptographium vergesellschaftet. Kirisits (2009) bezeichnet E. polonica als Primärbesiedler und bezieht sich dabei auf die nachgewiesene Virulenz des Pilzes, die es ihm ermöglicht bei Masseninokulationen den Baum zum Absterben zu bringen (Kirisits und Anglberger, 1999; Repe et al. 2015). Ascosporen und Konidien von E. polonica wurden stets tiefer im Splintholz gefunden als die Sporen anderer Bläuepilzarten (Kirisits, 2009). Die unerwartet geringe Wundreaktion der Fichten auf E. polonica in der vorliegenden Studie liegt möglicherweise an der geringeren Virulenz des verwendeten Pilzstammes, die bereits im Zuge eines Inokulationsversuchs an Fichte in Oberösterreich beobachtet wurde (Kirisits und Anglberger, 1999). Andererseits sollte die Tatsache, dass das im Versuch verwendete Isolat mehr als 20 Jahre alt ist, keine Rolle für seine Wirkung spielen (Kirisits, pers. Mitteilung). Im Versuch von Netherer et al. (2016) rief dasselbe Isolat sehr wohl

großflächige Wundreaktionen bei wassergestressten Fichten hervor. Des Weiteren waren die Lagerungs- und Anzuchtbedingungen für alle drei verwendeten Pilzarten vergleichbar (Kirisits, pers. Mitteilung). Damit leitet sich die geringere Virulenz von *E. polonica* im Vergleich zu *G. penicillata* sehr wahrscheinlich von anderen Faktoren, wie von der Jahreszeit, in der die Inokulation stattfand und dem unterschiedlichen Wuchsverhalten der Pilzarten ab.

Linnakoski et al. (2016), die in einem Befallsgebiet in Finnland die Pilzflora auf Borkenkäfern aus der Streu und unterhalb der Rinde von bebrüteten Fichten untersuchten, stellten fest, dass *E. polonica* vor allem im Frühjahr und Sommer zusammen mit anderen Bläuepilzen auftritt. Eine Inokulation an Fichtenjungpflanzen verursachte zum Austriebszeitpunkt größere Nekrosen als vor und nach dem Austrieb (Krokene et al., 2012). Der Nadelaustrieb von Fichten geht mit einem hohen Verbrauch an Reservestoffen, vor allem Stärke, einher. Entsprechend der "Carbon-Nutrient-Balance" Hypothese stehen Bäumen in dieser Zeit wenige Ressourcen für Abwehrmechanismen zur Verfügung.

G. penicillata zeigt generell ein anderes Wuchsverhalten als E. polonica: Dieser Bläuepilz breitet sich rasch im Phloem aus und tritt eher während der Latenzphase in der Populationsdynamik der Borkenkäfer auf (Paine et al., 1997; Lieutier et al, 2009). Beobachtungen von Linnakoski et al. (2016) zufolge benötigt G. penicillata ältere Stadien der Brutbilder für einen optimalen Wuchs und ist daher bevorzugt an überwinternden Käfern zu finden. Eine Nutzung der jahreszeitlich unterschiedlichen Nischen kann somit eine Erklärung für die Virulenz der in diesem Inokulationsversuch verwendeten Pilzarten darstellen. E. polonica nutzt vorzugsweise das Zeitfenster, in dem die Stärke für den Austrieb der Nadeln gebraucht wird und nicht für den Aufbau von Abwehrmechanismen zur Verfügung steht, während G. penicillata aufgrund seiner geringeren Virulenz erst im Herbst durch die jahreszeitlich bedingte verringerte Abwehr der Bäume optimale Entwicklungsbedingungen findet. Auf benachbarten Flächen und selbst auf ein und derselben Fläche kommen in verschiedenen Jahreszeiten unterschiedliche Bläuepilzarten vor (Lieutier et al., 2009). Neben der Virulenz sind für die Wirkung noch weitere Faktoren verantwortlich: Die genetische Variabilität und Vitalität der Wirtsbäume, die Dichte der sich einbohrenden, mit Pilzsporen behafteten Käfer, die Gesamtmenge an inokulierten Sporen spielen eine Rolle (Berryman et al., 1989; Paine et al., 1997). Durch die in der vorliegenden Arbeit im August durchgeführten Pilzinokulationen waren die Entwicklungsmöglichkeiten für G. penicillata offenbar wesentlich günstiger als für die beiden anderen im Versuch eingesetzten Pilzarten.

Über die Pathogenität von *Leptographium sp.* sind sehr wenige Informationen verfügbar. In einer Fallstudie mit Inokulationen niedriger Dichte an vierjährigen Fichtenjungpflanzen waren die Nekrosen eines *Leptographium sp.*- Bläuepilzes signifikant geringer ausgeprägt als jene von *E*.

polonica. Zu G. penicillata konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei der Fallstudie handelt es sich um die Ersteinschätzung der Pathogenität von Leptographium sp. (Repe et al., 2015). Die kritischen Dichten bei einer Masseninokulation von Leptographium wingfieldii in Waldkiefern werden doppelt so hoch als jene für die Masseninokulation von E. polonica in Fichte angegeben (Lieutier et al., 2009). Die mittelstarke Pathogenität im vorliegenden Experiment entspricht den Literaturangaben.

Zwischen den Befallsklassen innerhalb einer Pilzart konnten keine signifikanten Unterschiede der Nekroseausmaße, bei *G. penicillata* aber deutliche Trends festgestellt werden. Kontrollbäume zeigten relativ große Längen, Breiten und Flächen der Wundreaktionszonen, während stark befallene Bäume eher kleine Wundreaktionszonen aufwiesen. Zwischen Harzfluss und Wundreaktion waren weder bei *Leptographium sp.* noch bei *E. polonica* Zusammenhänge erkennbar. Eine Ausnahme, die signifikante Korrelation zwischen der Agarkontrolle und dem Harzfluss nach der Inokulation im Kollektiv der stark befallenen Bäume (r= -0,574; p=0,040) ist zufällig begründet und nicht weiter aussagekräftig. Daher wird nachfolgend nur über Zusammenhänge des Harzflusses vor und nach der Wundreaktion von *G. penicillata* diskutiert.

Die schwach befallenen Bäume zeigten vor und nach der Inokulation keinen Zusammenhang von Nekroseausmaßen und Harzflüssen. Bei den Kontrollbäumen korrelierte der Harzfluss vor der Inokulation signifikant positiv mit der Länge der Wundreaktion. Der Harzfluss stark befallener Bäume nach der Inokulation zeigte bei Längen und Flächen der Nekrosen signifikante, negative Zusammenhänge, während bei Kontrollbäumen positive und bei der Breite der Wundreaktion sogar signifikant positive Zusammenhänge nachgewiesen wurden. Die Differenz des Harzflusses (Harzfluss nach der Inokulation minus Harzfluss vor der Inokulation) lässt einen schwachen, negativen Zusammenhang erkennen. Ein relativ starker Harzflussanstieg in Verbindung mit einer relativ kleinen Nekrosefläche in der Gruppe stark befallener bedeutet eine wirksame induzierte Abwehrreaktion.

Dieses Ergebnis entspricht den früheren Fallstudien an Fichte (Christiansen und Glosli, 1996; Blackwell 2011), und Kiefer (Lusebrink et al., 2016), dass milder Stress, obwohl er verschiedene Ursachen hat (Trockenheit, Rindenbeschädigung durch Lawine) relativ hohe Harzflüsse in Verbindung mit relativ kleinen Nekrosen nach einer Bläuepilz-Infektion an verschiedenen Baumarten verursacht. Diesen Studien stehen die Ergebnisse des Trockenstressexperiments in der Rosalia gegenüber: Nekrosefläche und Harzflussanstieg korrelierten nach der Inokulation von *E. polonica* bei ganz von der Wasserzufuhr abgeschirmten Bäumen höchst signifikant positiv miteinander. Die Verwundung und die Nekrosen hatten die Bildung traumatischer Harzkanäle verursacht und somit einen hohen induzierten Harzfluss ermöglicht (Netherer et al., 2016). Ebenda wir auf eine hohe genetische

Variabilität der Fichten hingewiesen: Bäume in der selben Population empfinden Stress individuell unterschiedlich.

Wie akut die Versuchsbäume in der vorliegenden Studie gestresst waren, ist jedoch schwer einzuschätzen. Die Befallsklassen orientierten sich lediglich am Nadelverlust der Bäume im Jahr 2013 und der Belagsdichte der *C. abietis* Nymphen im Boden im Frühjahr 2014. Die fehlende Konkurrenz der im Zuge der Auflichtung entnommenen Nachbarbäume bedeutete für die verbliebenen Fichten sicherlich eine bessere Versorgung mit Wasser und Nährstoffen (Waring und Pitman, 1985), wodurch sich Bäume weitgehend erholen konnten. Selbst im Sommer 2016 war – trotz Hauptschwärmjahr – die Dichte an Gespinsten bei allen Fichten auf der Untersuchungsfläche gering. Ehemals schwach befallene Bäume und Kontrollbäume erschienen kaum gestresst bzw. zeigten praktisch keine Symptome. Traumatische Harzkanäle wurden offenbar durch die Verwundung induziert (positive Korrelation Harzfluss nach der Inokulation und Nekrosebreite, vgl. Netherer et al., 2016).

Es lässt sich zusammenfassen, dass stark befallene Bäume durch den Nadelfraß im Jahr 2013 sensibilisiert waren und eine Bläuepilzinfektion mit relativ hohen induzierten Harzflüssen rasch eindämmen konnten. Sie sind damit am ehesten gegen Borkenkäferbefall geschützt. Eine individuell unterschiedliche Stresswahrnehmung der Fichten im Bestand verhinderte deutlichere Ergebnisse. Um diese festzustellen hätte das Experiment mit weiteren Messungen ergänzt werden müssen (verfügbare Kohlenstoffe, Phenolgehalt im Phloem; vgl. Netherer et al., 2016). Bei Kontrollbäumen fehlte die Sensibilisierung und die hypersensitive Wundreaktion verspätete sich. Daraus ergibt sich eine hohe Befallsdisposition für den Borkenkäfer, die auch zu erkennen war, als während der Feldarbeit 2016 in den Nachbarbeständen vom Borkenkäfer befallene Bäume gefällt werden mussten.

Populationsentwicklung der Fichtengespinstblattwespe auf der Befallsfläche

Gradationen der Fichtengespinstblattwespe entstehen sehr unregelmäßig und sind entsprechend schwer prognostizierbar, weil sie durch eine Reihe von Faktoren ausgelöst werden. Zunächst spielt der Bestand der Fichten, ihrer einzigen Wirtsbäume, eine Rolle. Reinbestände über 60 Jahren in Höhenlagen zwischen 600 und 1200 m Seehöhe und auf unnatürlichen Standorten werden bevorzugt befallen. Warmes und trockenes Wetter während des Schwärmfluges und bei der Larvenentwicklung beschleunigen die Populationsdynamik. Oft überlagern sich unter solchen Bedingungen ein- und mehrjährige Entwicklungszyklen und natürliche Gegenspieler können die Entwicklung von *C. abietis* nicht mehr kontrollieren. Für ihre Generationsdauer ist die Temperatur der bestimmende Faktor. Die untersuchte Blattwespenpopulation im Waldviertel hat einen 3-jährigen Generationszyklus (Antonitsch, 2017), d.h. es kommt alle drei Jahre zu einem Hauptschwärmjahr, in dem die Masse der

Tiere ihre Entwicklung zum Adulttier im Boden beendet, während in den Zwischenjahren nur wenige Individuen als Wespen im Frühjahr schlüpfen. Im letzteren Fall handelt es sich entweder um eine eigene Subpopulation mit einem "verschobenen" Entwicklungszyklus gegenüber der Hauptpopulation oder um Tiere, die ihre Entwicklung schon nach zweimaligen Überwintern (einmal als Eonymphe, einmal als Pronymphe in Diapause) abschließen. Diese Individuen erreichen früher als der Rest die für die Gesamtentwicklung vom Ei bis zum Adulttier notwendige Wärmesumme (siehe unten), was zum Beispiel bei jenen Larven der Fall ist, die sich früh am Baum entwickeln und dann auch deutlich vor der Masse ihrer Artgenossen als Nymphen in den Boden gelangen (Ende Juli, Anfang August). Die Beobachtungen auf der Befallsfläche bestätigen diese Annahmen: Nach dem Hauptschwärmjahr 2013, in dem der Massenbefall der Fichten stattfand, schlüpften im Frühling 2014 und 2015 nur wenige Wespen (Gober, 2017). Erst im Herbst 2015 hatten sich die im Boden liegenden Eonymphen zu über 90% in das Pronymphenstadium weiterentwickelt (Gober, 2017; Zelinka, 2017). Aus diversen Freiland- und Laborversuchen über die Temperaturabhängigkeit der Eonymphen-Pronymphenumwandlung im Boden ergab sich ein Schwellenwert von +13°C (Baier, 1990); diese Werte werden auf der Befallsfläche von etwa Ende Mai bis Mitte September erreicht bzw. überschritten (Antonitsch, 2017; eigene Temperaturmessungen).

Damit sich die Tiere vom Eonymphen- in das Pronymphenstadium entwickeln, müssen sie eine Wärmesumme von etwa 550 Gradtagen im Boden aufnehmen (Antonitsch, 2017); die Mehrheit der Tiere aus der Blattwespenpopulation erreichte dies erst zwei Jahre nach dem Abbaumen als Larven aus der Fichtenkrone. In weiterer Folge durchlaufen die Pronymphen ein genetisch bedingtes Diapausestadium; um dieses zu beenden, ist ein Kältereiz (Winter) nötig, damit sich die Tiere im darauffolgenden Frühjahr verpuppen. Wie prognostiziert kam es 2016 zu einem neuerlichen Schwärmjahr (Antonitsch, 2017), das allerdings aufgrund der über die Jahre dramatisch gesunkenen Nymphendichte im Boden und einer für die Tiere ungünstigen Witterungsperiode im Frühsommer viel schwächer ausfiel als jenes 2013. Die Untersuchungen der Belagsdichten im Boden, die parallel zu den Inokulationsversuchen im Spätsommer und Herbst 2016 bzw. im Frühjahr 2017 durchgeführt wurden, ergaben einen weiteren Rückgang der Population auf der Befallsfläche, mit durchschnittlich 50 Nymphen pro Quadratmeter im Oktober 2016 und 30 Nymphen pro Quadratmeter im Mai 2017. Dieser letztgenannte Wert entspricht etwa einem Zwanzigstel der im Frühjahr 2014 erhobenen Belagsdichte, bei dem die durchschnittlichen Befallszahlen bei über 660 Individuen pro Quadratmeter lagen (Steyrer et al., 2014). In dieser Größenordnung stellt die Gespinstblattwespe für den Fichtenbestand keine Gefahr mehr dar.

Das dreimalige Überwintern der Blattwespen im Boden lässt die Energiereserven der Tiere schwinden. So nehmen die Nymphen, sobald sie sich im Boden ein Höhlchen gegraben haben, keine Nahrung mehr auf, d.h. sie sind auf ihre während des Larvenstadiums gespeicherten Reserven aus dem Nadelfraß angewiesen. Diese Depots decken einerseits den Energiebedarf für die Entwicklung und Metamorphose, andererseits wird auch Energie benötigt, wenn die Tiere ihren Stoffwechsel nach einer aktiven Phase während der Sommermonate auf ein Niveau bringen, das ihnen das Überleben der Wintermonate bei sehr niedrigen Temperaturen erlaubt. Fichtengespinstblattwespen sind – im Gegensatz zu den heimischen Vertretern aus der Familie der Echten Blattwespen (Tenthredinidae) wie zum Beispiel Pristiphora abietina (Kleine Fichtenblattwespe) (Rosner und Führer, 1996) oder Pachynematus montanus (Fichtengebirgsblattwespe) (Schebeck et al., 2015) nicht gefriertolerant. Das bedeutet, dass die Tiere beim Erreichen des Unterkühlungspunktes sterben, wenn das Körperwasser friert und sich Eiskristalle in den Geweben bilden. Während Eiskristalle bei Nymphen von P. abietina bzw. P. montanus schon bei Temperaturen von -4 bis -8°C entstehen, ist das bei Nymphen der Fichtengespinstblattwespe ganzjährig erst bei Temperaturen unter -16°C der Fall (Gober, 2017; Zelinka, 2017; eigene Messungen). Wie sich anhand der Bodentemperaturen im Jahresverlauf zeigte, wurden solche Temperaturen auf der Versuchsfläche jedoch bei weitem nicht erreicht. Zwischen Ende November 2016 und Ende Februar 2017 lagen die Werte in 25 cm Bodentiefe bei durchschnittlich +2°C, die Temperatur fiel nie unter den Gefrierpunkt, selbst dann nicht, wenn die Lufttemperaturen in einem Meter Höhe über dem Boden für mehrere Tage im Mittel -10 bis -15°C betrugen. Nicht bekannt ist, ob Tiere, die nur wenige Zentimeter unterhalb der Bodenstreu in einem Erdhöhlchen überliegen, bei länger andauernden Kälteperioden Minusgraden ausgesetzt sind. Es darf aber davon ausgegangen werden, dass sie durch ihren sehr niedrigen Unterkühlungspunkt bestens vor dem Gefriertod geschützt sind. Allerdings ist für diese Anpassungsmechanismen des Stoffwechsels sicherlich Energie nötig, die die Nymphen aus ihren gespeicherten Reserven entnehmen müssen.

In den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich, welch maßgeblichen Einfluss die Temperatur auf den Energiestatus der Tiere während des Überliegens hat. Eonymphen, die ab dem Herbst für fünf Monate (September bis Jänner) bei +15°C im Klimaschrank gehalten wurden, wiesen signifikant niedrigere Gehalte an Lipiden und Glykogen auf als Tiere, die zu Beginn des Versuches aus dem Freiland (Oktober) entnommen und auf ihren Energiegehalt untersucht wurden. Die direkt nach dem Abbaumen gemessenen Werte der Lipid- und Glykogenreserven der Tiere stellen sozusagen den Maximalgehalt dar. Auf die Menge an freien Zuckern bzw. Proteinen hatte die Temperatur dagegen keine wesentliche Auswirkung.

Der deutlich niedrigere Gehalt an Lipiden bei den Tieren, die unter künstlich hoch gehaltenen Bodentemperaturen (15°C im Klimaschrank) überwinterten, könnte eine Ausschüttung des Hormons Octopamin mit nachfolgender Mobilisierung der Energiereserven ausgelöst haben (Arrese und Soulages, 2010). Tiefe Temperaturen wie sie die Tiere im Freiland erfahren, sparen dagegen Energie (Hahn und Denlinger, 2007). Ein Verbrauch der Lipidreserven etwa durch eine gesteigerte Atmungsaktivität der Eonymphen kann allerdings ausgeschlossen werden, da sich der Sauerstoffverbrauch bei Eonymphen selbst während der Sommermonate bei Messtemperaturen zwischen +15°C und +22°C (Antonitsch, 2017) nicht wesentlich von den Wintermessungen bei niedrigen Messtemperaturen (+10°C) (Zelinka, 2017) unterschied. Reserven werden sicherlich zum Graben des Erdhöhlchens verbraucht, das bei den im Jänner untersuchten Tieren zwei Mal angelegt werden musste.

Interessante Ergebnisse stammen auch aus dem Vergleich der Geschlechter: So hatten Eonymphen-Weibchen einen signifikant höheren Gehalt an Lipiden und Proteinen als Männchen, aber einen signifikant niedrigeren Gehalt an Zucker und Glykogen. Ausdifferenzierte Fichtennadeln, wie sie von den Larven der Gespinstblattwespe bevorzugt gefressen werden, enthalten Mono- und Disaccharide (z.B. Glukose, Saccharose) und als Speicherkohlenhydrat Stärke, daneben sind in geringer Konzentration Triglyceride vorhanden (Schopf, 1986). Larven bzw. Nymphen speichern insbesondere im Fettkörper Lipide (mehr als 50% des Trockengewichts vom Fettgewebe) und Glykogen, die bei Bedarf (z.B. Metamorphose, Eivorrat) mobilisiert werden (Hahn und Denlinger, 2007; Arrese und Soulages, 2010). Lipide werden vor allem bei Temperatur- und Trockenstress verbraucht (Hahn und Denlinger, 2007). Ein hoher Verbrauch an Reserven führt in Folge auch zu höherer Mortalität nach der Diapause und verringertem Fortpflanzungserfolg (Hahn und Denlinger, 2007).

Lipide sind wichtige Bausteine der Zellmembranen, während die Energieversorgung Triglyceride und freie Fettsäuren übernehmen (Ziegler, 2003). Lipide sind etwa sechsmal so energiereich wie Kohlenhydrate. Für die Fortpflanzung sind sie extrem wichtig; Eizellen weisen einen Lipidgehalt von bis zu 40% auf (Arrese und Soulages, 2010), was den deutlich höheren Gehalt an Lipiden bei weiblichen Nymphen erklärt. In den Nymphenstadien werden Lipide auch zur Immunabwehr eingesetzt. Lipide werden dazu in die Hämolymphe eingeschleust. Wie dieser Prozess ausgelöst wird und wo die Lipide nach ihrem Einsatz verbleiben ist ungeklärt (Arrese und Soulages, 2010).

Proteine werden mithilfe von Proteasen in freie Aminosäuren gespalten und dann in den Citratzyklus eingeschleust. Dabei wird eine ähnliche Energiemenge wie beim Kohlenhydratabbau freigesetzt (Ziegler, 2003). Proteine können auch für die Aufrechterhaltung der Atmung während der Diapause herangezogen werden und stellen die Wiederaufnahme der Entwicklung der Insekten nach der

Diapause sicher (Hahn und Denlinger, 2007). Der hohe Proteingehalt bei den Weibchen stellt die künftige Bildung des Eivorrats sicher; je größer der Proteinmenge desto mehr Dotterprotein gelangt in die Eier, umso größer sind die Chancen der Blattwespe ein hohes Vermehrungspotenzial auch tatsächlich zu realisieren. Wie Antonitsch (2017) eindrücklich zeigen konnte, liegt die Zahl der reifen Eier bei frisch geschlüpften Wespen im Schnitt bei 31±1, die Menge an unreifen Eiern ist noch wesentlich größer (105±3); mit genügend vorhandenen Energiereserven und eine entsprechend lange Lebensdauer der Weibchen vorausgesetzt, könnte die Mehrheit noch ausdifferenzieren. Nach Schwenke (1982) wird je nach Witterung, Prädation der Adulttiere und anderen Faktoren lediglich ein Drittel bis maximal die Hälfte des vorhandenen Eivorrats (dementsprechend 30-50 Eier) abgelegt.

Zucker werden zur Bildung von Glukose, Trehalose und Chitin verwendet oder in die Glykolyse zur Energiegewinnung eingeschleust (Ziegler, 2003). Bei der Glykolyse wird die wichtigste energetische Verbindung der Zelle, Adenosintriphosphat (ATP), gewonnen. ATP liefert Energie für alle physiologischen Prozesse der Zelle. Glykogen hat eine geringere Energiedichte als Lipide, allerdings bindet es mehr Wasser. Insekten benötigen Glykogen unter anderem um Glycerin zu synthetisieren, das als Gefrierschutzmittel in der Hämolymphe eingelagert wird (Ziegler, 2003). Allgemein ist der Glykogengehalt bei Insekten wesentlich niedriger als ihr Gehalt an Lipiden, allerdings reagiert Glykogen sehr sensibel auf bestimmte Umweltbedingungen (Arrese und Soulages, 2010). Der "Verbrauch" der Glykogenreserven bei den Blattwespen unter erhöhten Temperaturen im Klimaschrank könnte daraus erklärt werden.

Die Unterschiede im Lipid- bzw. Proteingehalt zwischen Weibchen und Männchen wurden auch in vorangegangenen Untersuchungen bei verschiedenen Entwicklungsstadien der Gespinstblattwespe (Eonymphe, Pronymphe, Puppe, adulte Wespe) beschrieben (Gober, 2017; Zelinka, 2017; Antonitsch, 2017). Weibchen benötigen diese Vorräte zur Bildung von Eiern, während Männchen eher rasch verfügbare Kohlenhydrate und Glykogen zur Energiegewinnung für die Fortbewegung (Schwärmflug) verbrauchen (Antonitsch, 2017).

Steigende Luft- und Bodentemperaturen aufgrund der Klimaveränderungen könnten in naher Zukunft dazu führen, dass sich die Generationsdauer der Blattwespenpopulation im Waldviertel von drei auf zwei Jahre verkürzt. Nach Berechnungen von Antonitsch (2017) wäre dazu ein Anstieg der Lufttemperaturen um durchschnittlich 2°C und der Bodentemperaturen um lediglich 1°C notwendig. Unter solchen Bedingungen könnte die Embryonal- und Larvalentwicklung am Baum, aber auch die Nymphenentwicklung und Verpuppung der Tiere im Boden wesentlich rascher ablaufen. In einer verkürzten Zeitspanne wäre eine geringere Ausfallrate von Larven in der Krone und an Überliegern im Boden durch biotische (Gegenspieler wie Parasiten, Pathogene, Prädatoren) und abiotische

(Wetter) Faktoren zu erwarten als das mit einer derzeit dreijährigen Entwicklungsdauer der Fall ist. Zusätzlich könnten die Energiereserven der Nymphen geschont und für die Ausbildung von mehr Eiern (Weibchen) oder höhere Energiedepots für die Flugaktivität (Männchen) zur Verfügung stehen. Dies könnte sich günstig auf die Vermehrungsrate der Blattwespen auswirken und häufiger zu Gradationen führen, in deren Folge die Fichten geschwächt und für Borkenkäfer attraktiv werden. Insgesamt werden bei fortschreitendem Klimawandel also Borkenkäfer und Fichtengespinstblattwespe profitieren. Vielfältige waldbauliche Maßnahmen (z.B. Mischbestände, Standortangepasste Bestockung, regelmäßige Waldpflege...), deren Rahmen über diese Arbeit hinausgeht sind zu empfehlen. Jedenfalls sollen sich Gegenspieler positiv entwickeln können, die Bestände widerstandsfähig werden und die Risiken überschaubar gehalten werden.

7. Zusammenfassung

Die Fichtengespinstblattwespe Cephalcia abietis L. ist ein Primärschädling an der Fichte. Im 2013 trat auf der Untersuchungsfläche im Waldviertel nahe Zwettl (Niederösterreich) eine Massenvermehrung des Insekts auf. Im Frühjahr 2014 wurde ein Transekt mit Probebäumen eingerichtet und seitdem vom Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz der Universität für Bodenkultur Wien, laufend untersucht. Auf der Befallsfläche fand im Herbst 2014 ein Lichtungshieb statt, nach einem massiven Eisbruchschaden im Dezember desselben Jahres mussten nochmals Bäume entnommen werden, ebenso wurden vereinzelt Bäume entfernt, die vom Buchdrucker befallen waren und abstarben. Im Sommer 2014 und 2015 kam es zu keinem nennenswerten Wespenschlupf, erst 2016 war wieder ein Hauptschwärmjahr, das jedoch wesentlich weniger intensiv ausfiel als 2013. Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Auswirkungen des Nadelfraßes auf die Anfälligkeit der betroffenen Fichten für Sekundärschädlinge (Borkenkäfer) anhand von Merkmalen der konstitutiven und induzierten Baumabwehr zu untersuchen. Als Parameter der konstitutiven Abwehr wurde der Harzfluss der Bäume bewertet, die induzierte Abwehr wurde als Ausmaß der Wundreaktion des Gewebes nach Pilzinokulation bestimmt. Bei den verwendeten Pilzarten handelt es sich um sogenannte Bläuepilze, die mit Borkenkäfern vergesellschaftet sind und eine auffällige Verfärbung des Splintholzes verursachen. In der Natur werden die Pilzsporen vom Käfer beim Einbohren in den Stamm eingebracht und wachsen als Mycel im Brutsystem des Käfers. Es wird vermutet, dass der Pilz durch Abbau Nährstoffe des Baumes für den Borkenkäfer verfügbar macht, gleichzeitig aber auch die Baumabwehr schwächt und den Folgebefall für weitere Käfer erleichtert.

Im Herbst 2016 wurden drei annähernd gleich große Befallsklassen an Fichten ausgeschieden. Dreizehn Bäume mit Belagsdichten von 470 oder mehr Nymphen pro Quadratmeter und deutlichen Kronenverlichtungen wurden dem Baumkollektiv "stark befallen", 11 Bäume mit ehemals geringen Nadelverlusten und weniger als 380 Nymphen pro Quadratmeter dem Baumkollektiv "schwach befallen" und 12 Bäume ohne sichtbare Symptome im benachbarten Bestand dem Baumkollektiv "Kontrollen" zugeordnet. Mitte August 2016 wurde bei allen Bäumen der Harzfluss in 1,45 m Höhe am Stamm (ost- und westseitig) gemessen. Parallel dazu wurden an jedem Baumindividuum Inokulationen mit drei häufig mit Borkenkäfern vergesellschafteten Bläuepilzarten, Grosmannia penicillata, Endoconidiophora polonica und Leptographium sp. sowie sterilen Nährmedium (Eschenblatt-Malzextrakt-Agar) als Kontrolle in zwei Ringen um den Stamm durchgeführt. Die Bläuepilze stammten aus der institutseigenen Pilzzucht (T. Kirisits) und wurden ursprünglich aus mit Buchdrucker bzw. Kupferstecher besiedelten Fichtenstammstücken unterschiedlicher Herkünfte in Österreich (Urwald Rothwald, Lockenhaus, Kobernaußerwald) isoliert. Sechs Wochen nach der Inokulation (Ende September) wurde der Harzfluss nochmals bestimmt, die Ränder der dunkel verfärbten Nekrose im Stamm auf Transparentfolie übertragen und nach Länge, Breite und Fläche ausgewertet. Neun Wochen nach der Inokulation (Mitte Oktober) erfolgte eine finale Bestimmung des Harzflusses.

Im Oktober 2016 wurden Nymphen aus den Bodengrabungen und solche, die in Fangtrichtern direkt nach dem Abbaumen in Auffangbehältern mit Erde gesammelt wurden, auf ihren Gehalt an Protein, Zucker, Glykogen und Fett untersucht. Die Energiereserven und der Unterkühlungspunkt der Nymphen wurden direkt nach der Entnahme aus dem Waldboden bestimmt, die Nymphen aus den Fangtrichtern wurden für fünf Monate im Klimaschrank bei konstant 15°C gehalten und erst danach analysiert. Im Herbst 2016 sowie im Frühjahr 2017 erfolgte ergänzend eine Berechnung der Populationsdichte der Blattwespen auf der Befallsfläche.

Über alle Befallsklassen der Bäume hinweg konnte kein signifikanter Anstieg der Harzflussintensität sechs Wochen nach Inokulation mit den Bläuepilzen beobachtet werden. Neun Wochen nach Inokulation war der Harzfluss deutlich niedriger als an den beiden vorangegangenen Terminen, was sich durch die sehr niedrigen Temperaturen beim Messzeitpunkt Mitte Oktober im Vergleich zu den Terminen Mitte August und Ende September erklären lässt.

Nach Befallsklassen getrennt zeigten Bäume der Klasse "stark befallen" nach der Inokulation einen statistisch signifikant höheren Harzfluss als davor. Diese Gruppe wies insgesamt auch den höchsten mittleren Harzfluss auf. Von allen getesteten Bläuepilzarten verursachte *G. penicillata* die signifikant deutlichsten Nekrosen, sie war somit die virulenteste Art. Die Längen, Breiten und Flächen der

Wundreaktionen hatten dieselbe Reihenfolge in der Ausprägung der Nekroseausmaße: *G. penicillata* > *Leptographium sp.* ≥ *E. polonica* > Agarkontrolle.

In der Baumgruppe "stark befallen" korrelierten Länge und Fläche der von *G. penicillata* hervorgerufenen Nekrosen negativ mit dem Harzfluss. Tendenziell zeigten jene Bäume, die ihren Harzfluss nach der Inokulation nicht steigern konnten, intensivierte Wundreaktionen. Bei den Kontrollbäumen waren Harzfluss und Nekrosebreite dagegen signifikant positiv korreliert. Offenbar waren nur die durch Blattwespenfraß ursprünglich stark geschädigten Bäume gegenüber Bläuepilzen sensibilisiert und reagierten rascher auf den Pilzbefall als Bäume der übrigen Befallsklassen. Starke Nadelverluste hatten drei Jahre nach dem Befall offenbar keine negativen Auswirkungen auf die Abwehrbereitschaft der Bäume, ganz im Gegenteil war einer raschere Abwehrreaktion im Vergleich zu ehemals schwach oder nicht befallenen Bäumen erkennbar. Kontrollbäume zeigten relativ große Nekrosen und reagierten auf die Verwundung mit intensiviertem Harzfluss.

Nymphen, die für vier Monate bei 15°C gehalten wurden, das sind 2°C über ihrem Entwicklungsnullpunkt, verbrauchten einen Großteil ihrer gespeicherten Energiereserven in Form von Lipiden und Glykogen, die sie für die Weiterentwicklung (Pronymphe, Puppe, adulte Wespe) benötigen. Zum Zeitpunkt der biochemischen Analysen befanden sich erst 17% der Tiere aus dem Klimaschrank im Pronymphenstadium, bei den übrigen Tieren war noch kein Puppenauge sichtbar, daher wurden sie als Eonymphen ausgewiesen. In beiden Entwicklungsstadien waren die Glykogengehalte jedoch ein Viertel (Eonymphen) bis um die Hälfte (Pronymphen) niedriger, die Lipidgehalte sogar um mehr als Dreiviertel niedriger als bei Tieren, die direkt aus dem Freiland genommen wurden. Hinsichtlich Zucker- und Proteingehalten gab es keine signifikanten Unterschiede. Die Fähigkeit der Tiere, tiefe Temperaturen unbeschadet zu überstehen, ist sehr gut ausgeprägt. Der Unterkühlungspunkt, bei dem das Körperwasser der Nymphen zu frieren beginnt und die Tiere sterben, lag bei durchschnittlich – 17°C, eine Temperatur, die in jenen Bodentiefen, in denen die Tiere überwintern, selbst bei lang anhaltenden Kältephasen im Winter kaum erreicht werden dürfte.

Die Probebäume im Untersuchungsbestand konnten, insbesondere jene mit ehemals starkem Schädigungsgrad, eine gut induzierbare Abwehrreaktion aufbieten, so dass ein Befall dieser Bäume durch Borkenkäfer eher unwahrscheinlich ist. Die Anzahl der untersuchten Bäume ist aus naheliegenden Gründen gering, daher können keine Aussagen darüber getroffen werden, wie die Abwehrreaktion von Bäumen ausgefallen wäre, die von Borkenkäfern befallen wurden. Ganz eindeutig positiv aus Sicht des Waldschutzes hat sich der Lichtungshieb erwiesen, der dazu führte, dass sich die Bedingungen für das Überleben der Blattwespen im Boden deutlich verschlechterten. Darüber hinaus wirkten die Wetterverhältnisse im Schwärmjahr 2016 mit einem kühlen und nassen

Frühsommer der Blattwespenentwicklung entgegen, sodass die Populationsdichte sowohl während des Untersuchungszeitraums vom Sommer 2016 bis Frühjahr 2017 deutlich, im Vergleich zum Jahr nach dem Massenbefall 2013 sogar dramatisch abnahm. Die derzeitige Befallsdichte mit etwa 30 Nymphen pro Quadratmeter stellt mit dem zu erwartenden weiteren Verlust bis zum nächsten Schwärmjahr 2019 selbst bei günstigen Witterungsverhältnissen keine Bedrohung für den Bestand mehr dar.

8. Anhang

8.1. Literaturverzeichnis

Antonitsch A., 2017: Die Populationsstruktur und –dynamik der Großen Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis L.* im Forstrevier Heubach (Waldviertel); Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 142 S.

Arrese E.L., Soulages J.L, 2010: Insect fat body: Energy, Metabolism and Regulation; Annual Review of Entomology 55; 207-225

Baier P., 1993: Untersuchungen zur Indikation der Befallsdisposition der Fichte für rindenbrütende Stammschädlingsarten; Dissertation der Universität für Bodenkultur; 140 S.

Baier P., Führer E., Kirisits T., Rosner S., 2002: Defence reactions of Norway spruce against bark beetles and the associated fungus *Ceratocystis polonica* in secondary pure and mixed species stands; Forest Ecology and Management 159; 73-86

Baier U., Otto L.F., 2000: Untersuchung zur Großen Fichtengespinstblattwespe; Mitteilungen der Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft Gotha 17; 47-68.

Baier U., 1990: Untersuchungen der Pronymphenentwicklung in einer Freilandpopulation der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* L. Beiträge für die Forstwirtschaft 24 (1); 35-39.

Berryman A. A., Raffa K.F., Millstein J.A., Stenseth N., 1989: Interaction dynamics of bark beetle aggregation and conifer defense rates; OIKOS 56; 256-263

Blackwell, E., 2011: Risk assessment of bark beetle outbreaks after an avalanche occurrence in the Dürrenstein Wilderness Area, Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 84 S.

Bohlander F., 1996: Zum energetischen Status des Buchdruckers *Ips typographus L.* (Coleoptera, Scolytidae); Dissertation der Ludwig-Maximilians-Universität München

Christiansen, E., Glosli, A. M., 1996: Mild Drought enhances the Resistance of Norway spruce to a Bark Beetle transmitted Bluestain Fungus. In: Mattson, W. J., Niemelä, P., Rousi M. (Hrsg.): Dynamics of forest herbivory: quest for pattern and principle. USDA Forest Service General Technical Report NC-183, N.C. Forest Experimental Station, St. Paul NM, 55108; 192–199

Christiansen E., Hornvedt R., Solheim H., Wang S., 1983: Artificial inoculation with *Ips typographus* associated blue stain fungi can kill healthy Norway Spruce trees; Reports of the Norwegian Forest Research Institute 38.4; 20 S.

Christiansen, E., Krokene, P., Berryman, A. A., Franceschi, V. R., Krekling, T., Lieutier, F. et al., 1999: Mechanical injury and fungal infection induce acquired resistance in Norway spruce. Tree Physiology, 19; 399–403

Eichhorn O., 1990: Untersuchungen über die Fichtengespinstblattwespen *Cephalcia ssp.* Panz. (Hym., Pamphiliidae); Journal of Applied Entomology 110; 321-345

Eichhorn O.; Pausch K., 1986: Untersuchungen über die Fichtengespinstblattwespen *Cephalcia ssp.* Panz. (Hym., Pamphiliidae); Journal of Applied Entomology 101; 101-111

Eichhorn O.; Gauss R.; Kühlhorn F.; Lange R.; Postner M.; Pschorn-Walcher H.; Schwenke W.; Skatulla U., 1982: Hautflügler und Zweiflügler. In: Schwenke, W. 1983 (Hrsg.): Die Forstschädlinge Europas Bd.4.; Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin; 42-49

Ewald J., 2007: Beurteilung von Waldstandorten und Waldgesellschaften mit Zeigerarten-Ökogrammen; Tuexenia 27; 7-18

Foray V., Pelisson F.P., Bel-Venner M.C., Desouhant E., Venner S., Menu F., Giron D., Rey B., 2012: A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited; Physological Entomology; 1-7

Franceschi, V. R., Krokene, P., Christiansen, E., Krekling, T., 2005: Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. New Phytologist, 167; 353–376

Gober E., 2017: Untersuchungen zur Populationsdynamik der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* L. in einem aktuellen Befallsgebiet im Waldviertel; Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 88 S.

Gruppe A., 1995: Populationsgenetische Aspekte der Präpuppenfärbung bei der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* (Linnaeus 1758) (Hymenoptera, Pamphiliidae); Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie, Band 10; 87-90.

Hahn D.A., Denlinger D.L., 2007: Meeting the energetic demands of insect diapause: Nutrient storage and utilization; Journal of Insect Physiology (2007); 760-773

Herms D., Mattson W., 1992: The Dilemma of Plants: To Grow or Defend, The Quarterly Review of Biology, Volume. 67, No. 3; 283-335

http://www.noe.gv.at/noe/Karten-Geoinformationen/Karten-Geoinformationen.html; abgerufen am 20.07.17 (Abbildung 4)

https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/klimaaktuell/monatsrueckblick/klimawerte?monat=08&x=1& y=3&jahr=2017; abgerufen am 02.10.17 (Abbildung 36)

Kirisits T., 2004: Fungal associates of European bark beetles with special emphasis on the Ophiostomatoid fungi; In: Lieutier F.(ed.), Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe- a Synthesis, Kluwer Academic Publishers Dodrecht, Boston, London; 181-236

Kirisits T., 2009: Fungi isolated from *Picea abies* infested by the bark beetle *Ips typographus* in the Białowieza forest in north-eastern Poland; Forest Pathology 40 (2010); 100-110

Kirisits T., Anglberger H., 1999: Report on a strain of the pathogenic blue-stain fungus *Ceratocystis polonica* with low virulence; Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde 8 (1999); 157-167

Kraus T., 1995: Harzfluss bei *Picea abies* in Abhängigkeit von Rindenanatomie, Wasserhaushalt und Zuwachsleistung, Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 110 S.

Krokene P., Lahr E., Dahlen L.S, Skröppa T., Solheim H., 2012: Effects of phenology on susceptibility of Norway spruce (*Picea abies*) to fungal pathogens; Plant Pathology (2012) 61; 57–62

Lieutier F., 2004: Host resistance to bark beetles and its variations; In: Lieutier F.(ed.), Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe- a Synthesis, Kluwer Academic Publishers Dodrecht, Boston, London; 135-180

Lieutier F., Yart A., Sallé A., 2009: Stimulation of tree defences by Ophiostomaid fungi can explain attack success of bark beetles on conifers; Annals of Forest Science 66; 801-819

Linnakoski R., Mahilainen S., Harrington A., Vanhanen H., Eriksson M., Mehtätalo L., Pappinen A., Wingfield M., 2016: Seasonal succession of fungi associated with *Ips typographus* beetles and their phoretic mites in an outbreak region of Finland; PLOS One; 1-14

Lombardero, M. J., Ayres, M. P., Lorio, P. L., Ruel, J. J., 2000: Environmental effects on constitutive and inducible defences of *Pinus taeda*; Ecology Letters, 3; 329–339

Lusebrink I., Erbilgin N., Evenden M.L., 2016: The effect of water limitation on volatile emission, tree defense response and brood success of *Dendroctonus ponderosae* in two pine hosts; Lodgepole and Jack Pine; Frontiers in Ecology and Evolution; Volume 4; Article 2, 12 S.

Nagy N.E., 2002: Defense Mechanisms in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): Anatomical and mollecular responses to pathogen infection; Doctor Scientiarum Thesis Agricultural University of Norway; 21 S.

Nopp U., Führer E., 2001: Ursachen, Vorbeugung und Sanierung von Waldschäden, Facultas Universitätsverlag, Wien; 363-386

Netherer S., Ehn M., Blackwell E., Kirisits T., 2016: Defence reactions of mature Norway spruce (*Picea abies*) before and after inoculation of the blue-stain-fungus *Endoconidiophora polonica* in a drought stress experiment; Lesnicky Casopis Forestry Journal 62; 169-177.

Paine T.D., Raffa K.F., Harrington T. C., 1997: Interactions among scolytid beark beetles, their associated fungi and live host conifers; Annual Review of Entomology 42; 179-206

Pausch K.L., 1987: Die Fichten-Gespinstblattwespe *Cephalcia abietis* L.; Waldschutzmerkblatt 10, Verlag Paul Parey Hamburg und Berlin; 6 S.

Petercord R., Lemme H., 2010: Weniger und doch genauer-Neues Monitoringverfahren für die Fichtengespinstblattwespe; LWF Waldforschung aktuell 78; 54-55

pohoda.joste.cz; abgerufen am 16.6.17 (Abbildungen 1,2 und 3)

Pollak P., 1993: Untersuchungen zum Harzkanalsystem und der Rinde der Fichte; Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 102 S.

Raffa K.F., Berryman A.A., 1983: The role of host plant resistance in the colonization behavior and ecology of bark beetles (Coleoptera: Scolytidae); Ecological Monographs 53; 27-49

Repe A., Bojovic S., Jurc M., 2015: Pathogenicity of ophiostomatoid fungi on *Picea abies* in Slovenia, Forest Pathology 45; 290-297

Rosner, S., Führer, E., 1996: Zur Überwinterungsstrategie der Kleinen Fichtenblattwespe, *Pristiphora abietina* Christ. (Hymenoptera, Tenthredinidae). J. Appl. Entomol., 120, 225-230

Ryan M.G., Sapes G., Sala A., Hood M.S., 2015: Tree physiology and bark beetles- a commentary; New Phytologist 205; 955-957

Stamp N., 2003: The quagmire of plant defense hypotheses; the Quarterly Review of Biology, Volume 78, No. 1 (March 2003); 23-55

Schafellner C., Antonitsch A., Zelinka P., Gober E., 2016: Die Populationsdynamik der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* L. in einem aktuellen Befallsgebiet im Waldviertel, Poster zur Forstwissenschaftlichen Tagung in Freiburg; 26.-29.9.2016

Schebeck M., Schafellner C., Schopf A., 2015: Overwintering Biology of the Mountain Spruce Sawfly, *Pachynematus montanus* (Zaddach 1883) (Hymenoptera, Tenthredinidae). Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie 20, 229-232

Schmidt A., Hammerbacher A., Nagel R., Gershenzon J., 2013: Verteidigungsstrategien der Gemeinen Fichte bei Borkenkäferbefall; Jahrbuch des Max-Planck-Instituts für chemische Ökologie, Jena; 6 S.

Schopf R., 1986: Zur Kausalanalyse der Disposition von Nadelbäumen für den Befall durch nadelfressende Insekten am Beispiel *Picea abies* (L.) Karst. und *Gilpinia hercyniae* Htg. (Hym. Diprionidae); Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt; 185 S.

Steyrer G., Hoch G., Tomiczek C., 2014: Schwere Eisbruchschäden im Dezember 2014 in Ostösterreich; BFW Forstschutz aktuell 60/61; 48-50

Steyrer G., Perny B., Hoch G., Schafellner C., 2014: Auftreten der Großen Fichtengespinstblattwespe im Waldviertel; BFW Forstschutz aktuell 60/61; 20-23

Wadke N., Kandasamy D., Vogel H., Lah L., Wingfield B.D., Paetz C., Wright P.L., Gershenzon J., Hammerbacher A., 2016: The Bark-Beetle-Associated Fungus, *Endoconidiophora polonica*, Utilizes the Phenolic Defense Compounds of Its Host as a Carbon Source; Plant Physiology 171; 914-931

Waring R., Pitman G., 1985: Modifying Lodgepole Pine stands to change susceptibility to Mountain Pine Beetle attack; Ecology 66(3); 889-897

Zelinka P., 2017: Untersuchungen zur Überwinterung der Fichtengespinstblattwespe *Cephalcia abietis* L. auf einer Befallsfläche im Waldviertel, Diplomarbeit der Universität für Bodenkultur Wien; 93 S.

Ziegler R., 2003: Biochemie und Stoffwechsel in Dettner K. und Peters W. (Hrsg.): Lehrbuch der Entomologie, 2.Auflage; Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin; 75-90

8.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Adulte weibliche <i>C.abietis</i> -Wespe (oben) im Vergleich zur adulten männlichen <i>C.abie</i>	tis-
Wespe (unten)	9
Abbildung 2: Mit Eiern von <i>C. abietis</i> belegte Nadel	. 10
Abbildung 3: Fraßschaden an einem Fichtenzweig mit Gespinsten	. 10
Abbildung 4: Kartenausschnitte aus dem Niederösterreich-Atlas	. 19
Abbildung 5: Skizze der Untersuchungsfläche mit den Bäumen der unterschiedlichen Befallsklasser	121
Abbildung 6: Petrischale mit Pilzmycel, das für den Versuch mit Eschenblatt-Malzextrakt-Agar	
überimpft wurde	. 23
Abbildung 7a, b und c: Eine mit dem Rindenhobel freigelegte Reaktionszone, Abzeichnen der Rinde	е
auf transparente Folie, Flächen-Längen- und Breitenbestimmung mit dem Programm Measure	. 24
Abbildung 8: Bodenprobenahme zur Erhebung der Nymphendichte am 17.05.2017	. 25
Abbildung 9a, b, c: BSA- Standardreihe, aus der Absorption der Standards erstellte Eichkurve und	
Formel zur Berechnung der Proteingehalte	. 27
Abbildung 10a,b und c: Glukose-Standardreihe, aus der Absorption der Standards gewonnene	
Eichkurve und Formel zur Berechnung der löslichen Kohlenhydrate	. 29

Abbildung 11a, b und c: Glukose-Standardreine, Eichkurve und Formel zur Berechnung des	
Glykogengehalts der Einzeltiere3	30
Abbildung 12a, b und c: Standardreihe Ölsäuremethylester (OME), Eichkurve und Formel zur	
Berechnung des Lipidgehalts der Nymphen3	31
Abbildung 13: Das Messsystem (OMEGA OMB-DAQ-56)3	32
Abbildung 14: Unterkühlungspunkte (Pfeile) zweier Ruhelarven 3	33
Abbildung 15a und Abbildung 15b: Datenlogger zur Messung der Lufttemperatur (links); Datenlogge zur Messung der Bodentemperatur (unten)	r
Abbildung 16: Harzflussmengen an West- und Ost-exponierten Stammpositionen (3 Messtermine vo und nach Inokulation). Die 45° Linie zeigt die hypothetische Position der Punkte bei identischen Messwerten	or
Abbildung 17: Harzfluss über alle Befallsklassen an den 3 Messterminen vor und nach Inokulation de Bläuepilze	
Abbildung 18: Vergleich der Harzflüsse nach Messterminen und Befallsklassen der Probebäume Anova; Post-Hoc-Scheffé; p<0,05)	37
Abbildung 19 a,b und c: Entwicklung des Harzflusses in mm³/h (Mittelwerte= Balken, Standardfehler Fühler) an den Einzelbäumen, dargestellt für die drei Befallsklassen "stark", "schwach" und "Kontrolle"	
Abbildung 20 a, b und c: Boxplots mit Median, Minima und Maxima der jeweiligen Pilze für die oberen und unteren Inokulationsringe (a= Nekroselängen, b= Nekrosebreiten, c= Nekroseflächen), Extremwerte= Punkte bzw. Ausreisser= Sternchen	
Abbildung 21 a, b und c: Nekroselängen (a), Breiten (b) und Flächen (c) aller Pilzarten zusammen in Bezug auf die Kardinalrichtungen Nord, Ost, Süd und West; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05) 4 Abbildung 22a, b und c: Nekroselängen (a), -breiten (b) und -flächen (c) in Bezug auf die	12
verschiedenen Pilzarten und die Agarkontrolle; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)	
Breiten, c= Flächen) (t-Test für verbundene Stichp., p<0,05);	
Breiten; (c) Flächen der Reaktionszonen (Anova, Post Hoc-Scheffé, p<0,05) Abbildung 25: Streudiagramme mit Nekroselängen [cm] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h) nokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind	
mmer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen 5 Abbildung 26: Streudiagramme mit Nekrosebreiten [cm] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h)	
nokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind mmer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen 5 Abbildung 27: Streudiagramme mit Nekroseflächen [cm²] und Harzfluss vor (a-d) und nach (e-h)	52
nokulation der verschiedenen Bläuepilze bzw. der Agarkontrolle, Korrelationen (r und p-Werte) sind mmer angegeben, signifikante Korrelationen sind fett gedruckt und mit Bezugslinie versehen 5 Abbildung 28: Streudiagramm zur Nekrosefläche von G. penicillata und der Harzflussdifferenz (HF nachher- HF vorher) in der Befallsklasse stark	54
Abbildung 29: Nymphendichte im Boden von April 2014 bis Mai 2017 (MW±SE)	
Abbildung 30: Frischgewichte [mg] von Eonymphen im Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland	
Abbildung 31: Wassergehalte [%] von Eonymphen im Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland 6	51
Abbildung 32: Verteilung der Eonymphen aus dem Klimaschrank bei 15°C und aus dem Freiland zu 1 ng- Gewichtsklassen von 50 bis 190 mg	.0 51

Abbildung 33: Biochemische Parameter der Eonymphen (Weibchen und Männchen) aus dem Freiland der Veriente Klimasshrank († Tost, n. 60.05)
und der Variante Klimaschrank (t-Test, p<0,05)
Abbildung 34: Biochemische Parameter (in % FG) von Eonymphen (Männchen und Weibchen) der Varianten Freiland und Klimaschrank (t-Test, p<0,05)
Abbildung 35: Biochemische Parameter (in % FG) von Eonymphen-Männchen und Eonymphen-
Weibchen (Varianten Freiland und Klimaschrank) (t-Test, p<0,05)
Abbildung 36: Boxplots der Unterkühlungspunkte [°C] der Eonymphen aus dem Freiland (Männchen
und Weibchen) (t-Test, p<0,05)
von August 2016 bis Mai 2017
8.3. Tabellenverzeichnis
Tabelle 1: Harzflussmengen, an West- und Ost-exponierten Stammpositionen (3 Messtermine vor und nach Inokulation): Mittelwert ± Standardfehler und Signifikanz (t-Test verb. Stichproben p<0,05)
Taballa 2. Hareflera Maranaria ara Maranaria ara di Bafallalla ara dan Varranda la Francia ara Mitabala arti.
Tabelle 2: Harzfluss-Messwerte pro Messtermin und Befallsklasse der Versuchsbäume: Mittelwert±
Standardfehler; Anzahl der Messungen im Baumkollektiv (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05) 30
Tabelle 3: Vergleich der Harzflüsse vor und 6 Wochen nach der Inokulation, getrennt nach
Befallsklassen
Tabelle 4: Harzfluss der Einzelbäume Nr. 1-36 (Mittelwerte aus Ost- und Westexpositon) in mm³/h
vor und nach der Inokulation sowie die Differenz vor und nach der Inokulation
Tabelle 5: Längen[cm], Breiten[cm] und Flächen [cm²] der Reaktionszonen für die verwendeten
Pilzarten und Agarkontrolle: Mittelwert ± Standardfehler aller Maße des oberen bzw. des unteren
Rings, in der nachfolgenden Spalte Wert aus dem T-Test, die Freiheitsgrade und der P-Wert 4:
Tabelle 6: Längen [cm] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen:
Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen; (Anova, Post-Hoc- Scheffé, p<0,05)
Tabelle 7: Breiten [cm] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen:
Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)
Tabelle 8: Flächen [cm²] der Reaktionszonen in Bezug auf Pilz-Inokulate und Kardinalrichtungen:
Mittelwert± Standardfehler; Anzahl d. Messungen (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05) 43
Tabelle 9: Ausmaß der Nekrose (Länge, Breite, Fläche) in Bezug auf die verschiedenen Pilzarten und
die Agarkontrolle; Mittelwert± Standardfehler; (Anova, Post-Hoc-Scheffé, p<0,05)
Tabelle 10: Vergleich der Nekroseausmaße der Pilze und der Agarkontrolle
(Mittelwerte±Standardfehler) (t-Test für verbundene Stichp., p<0,05)
Tabelle 11: Nekroseausmaße versch. Befallsklassen (MW±SE, Anova mit Post Hoc-Scheffé, p<0,05) 4
Tabelle 12: Pearson Korrelation von Harzfluss vor (HF _v) der Inokulation und Nekroselänge,
Nekrosebreite und Nekrosefläche (sign. Zusammenhänge fett markiert) 5
Tabelle 13: Pearson Korrelation von Harzfluss nach (HF _N) der Inokulation und Nekroselänge,
Nekrosebreite und Nekrosefläche sign. Zusammenhänge fett markiert) 50
Tabelle 14: Nymphendichte im Boden von April 2014 bis Mai 2017 (MW±SE)5
Tabelle 15: Belagsdichte der Nymphen je Probebaum (n/0,1m²) zu den Erhebungen im Oktober 2016
und Mai 2017
Tabelle 16: Körperfarben der Eonymphen unterschiedlicher Varianten (Absolute Zahl bzw.
prozentualer Anteil]

Tabelle 17: Biochemische Parameter von Eonymphen- Männchen und Weibchen aus dem Freiland
bzw. Klimaschrank64
Tabelle 18: Biochemische Parameter von Pronymphen- Männchen und Weibchen aus dem Freiland
bzw. Klimaschrank6
Tabelle 19: Messwerte der Station Stift Zwettl im Untersuchungszeitraum August 2016-Mai 2017 6