

Fachgebiet Pathologie der Waldbäume

**Ökophysiologische und phytopathologische  
Untersuchungen an mit *Phytophthora alni* (Brasier)  
infizierten Schwarzerlen (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.)**

**Christian Clemenz**

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Jörg Fromm

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Oßwald  
2. Univ.-Prof. Dr. Rainer Matyssek  
3. Univ.-Prof. Dr. Hardy Pfanzen, Universität Duisburg-Essen

Die Dissertation wurde am 28.02.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 18.04.2007 angenommen.





## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Zielsetzung .....	10
1.2 Zentrale Fragestellungen.....	11
<b>2 Material</b>	<b>12</b>
2.1 Freilandstandort.....	12
2.1.1 Lage des Versuchsstandortes und Beschreibung der Probebäume.....	12
2.1.2 Auswahlkriterien .....	13
2.1.3 Brusthöhendurchmesser und Baumlänge.....	13
2.1.4 Versuchsaufbauten.....	14
2.2 Infektionsversuche.....	15
2.2.1 Pflanzenmaterial und Bodensubstrat.....	15
2.2.2 Sprosslänge und Durchmesser der Erlenstopfpflanzen .....	16
2.3 Laborarbeiten .....	17
2.3.1 Chemikalien.....	17
2.3.2 Selektivmedium für die Isolierungen des Pathogens .....	18
2.3.3 Nährmedium für Pathogenkulturen.....	19
2.3.4 Gelelektrophorese .....	19
<b>3 Methoden</b>	<b>20</b>
3.1 Ökophysiologische Messungen.....	20
3.1.1 Gaswechsellmessungen.....	22
3.1.1.1 Gaswechsellmessungen im Freiland bei ambientem Licht.....	22
3.1.1.2 Gaswechsellmessungen während der Infektionsversuche.....	22
3.1.2 Wasserpotentialmessungen .....	24
3.1.3 Xylemflußmessungen .....	24
3.1.3.1 Beschreibung der Konstant-Heizungs-Methode nach Granier.....	25
3.1.3.2 Anordnung der Sensoren am Stamm .....	27
3.1.3.3 Betrieb der Sensoren und Datenerfassung .....	28
3.1.3.4 Berechnung des Xylemflusses .....	29
3.2 Ernte der Versuchsbäume im Freiland .....	31
3.3 Abschätzung der Blattfläche der Versuchsbäume .....	31

---

3.4 Computertomographische Untersuchungen an Stammabschnitten.....	33
3.5 Visuelle Bestimmung der Rinden- und Xylemzerstörung am Stammfuß .....	34
3.6 Kohlenhydratanalytik .....	35
3.6.1 Probennahmen und -lagerung .....	35
3.6.1.1 Freiland.....	35
3.6.1.2 Infektionsversuche.....	35
3.6.2 Probenaufbereitung .....	36
3.6.3 Bestimmung des Zuckergehaltes der Blätter .....	36
3.6.4 Bestimmung des Stärkegehaltes der Blätter.....	37
3.7 Mikro- und Makroelementeanalyse an Blättern .....	38
3.8 Erhebung des Zuwachses an Versuchsbäumen .....	38
3.9 Phytopathologische Arbeiten .....	39
3.9.1 Isolierung des Pathogens aus dem Freiland.....	39
3.9.2 Charakterisierung von <i>Phytophthora alni</i> Isolaten .....	39
3.9.2.1 Kulturwachstumsversuche.....	39
3.9.2.2 Mikroskopische Charakterisierung von Isolaten .....	40
3.9.3 Molekularbiologische Charakterisierung mittels PCR-RFLP-Methoden.....	40
3.9.4 Infektionsversuche in einer Vegetationshalle.....	41
3.9.4.1 Inokulationstechnik .....	42
3.9.4.2 Bestimmung der Temperatur auf der Rindenoberfläche .....	43
3.9.4.3 Bestimmung des Pathogenwachstums.....	43
3.10 Statistische Auswertung .....	44
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>45</b>
4.1 Ergebnisse der Freilandversuche .....	45
4.1.1 Messungen des Blattgaswechsels.....	45
4.1.2 Ergebnisse der Wasserpotentialmessungen .....	50
4.1.3 Visuelle Untersuchungen an Stammscheiben .....	53
4.1.4 Ergebnisse der CT-Aufnahmen an Stammabschnitten.....	56
4.1.5 Abschätzung der Blattmasse der Versuchsbäume .....	59
4.1.6 Abschätzung der Blattfläche der Versuchsbäume .....	62
4.1.7 Verhältnis zwischen Blattfläche und wasserleitendem Querschnitt .....	65
4.1.8 Ergebnisse der Xylemflussmessungen.....	66

4.1.9	Mikro- und Makroelementegehalte der Blätter .....	71
4.1.10	Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen an Blättern .....	73
4.1.10.1	Jahresverlauf 2003 .....	74
4.1.10.2	Tagesgang 20. August 2003 .....	77
4.1.10.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen .....	78
4.2	Ergebnisse der Infektionsversuche .....	79
4.2.1	Phytopathologische Arbeiten .....	79
4.2.1.1	Ergebnisse der Isolierung aus dem Freiland .....	79
4.2.1.2	Charakterisierung der Isolate .....	80
4.2.1.2.1	Physiologische Charakterisierung durch Kulturwachstumsversuche ...	80
4.2.1.2.2	Morphologische Charakterisierung der Isolate .....	81
4.2.1.2.3	Molekularbiologische Charakterisierung mittels PCR-RFLP .....	83
4.2.1.2.4	Zusammenfassung der Charakterisierungsergebnisse .....	85
4.2.1.3	Mortalität der stamminokulierten Erlentopfpflanzen .....	86
4.2.1.4	Pathogenwachstum im Wirtsgewebe .....	87
4.2.1.4.1	Vertikale Läsionsentwicklung stammaufwärts .....	87
4.2.1.4.2	Stammumfassende Läsionsentwicklung (Gürtelung) .....	92
4.2.1.4.3	Rindentemperatur und Pathogenwachstum .....	96
4.2.1.4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse der Läsionsmessungen .....	97
4.2.2	Ergebnisse der ökophysiologischen Messungen .....	98
4.2.2.1	Messungen des Blattgaswechsels .....	98
4.2.2.2	Netto-CO <sub>2</sub> -Assimilation und stammumfassende Rindenzerstörung .....	105
4.2.2.3	Ergebnisse der Wasserpotentialmessungen .....	109
4.2.2.4	Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen .....	112
4.2.2.5	Mikro- und Makroelementeanalysen .....	116
4.3	Ergebnisse der Zuwachsmessungen .....	119

---

<b>5 Diskussion</b>	<b>122</b>
5.1 Einfluss der Erkrankung auf den Blattgaswechsel und die Wasserverfügbarkeit in der Krone infizierter Schwarzerlen.....	122
5.1.1 Freilanduntersuchungen .....	122
5.1.2 Infektionsversuche.....	124
5.2 Einfluss der Erkrankung auf die Belaubung.....	128
5.3 Einfluss der Erkrankung auf den Xylemfluss im Stamm .....	130
5.4 Nährelementausstattung der Blätter erkrankter Erlen.....	131
5.4.1 Freilanduntersuchungen .....	131
5.4.2 Infektionsversuche.....	132
5.5 Pathogenwachstum im Wirtsgewebe und dieses beeinflussende Faktoren .....	133
5.6 Einfluss des Pathogens auf das Wirtswachstum .....	137
5.7 Bedeutung parasitischer Weißfäuleerreger im Rahmen der Erlen- <i>Phytophthora</i> -Erkrankung .....	139
5.8 Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen Freiland- und Infektionsversuchen.....	141
<b>6 Schlussfolgerung</b>	<b>143</b>
6.1 Erklärungsmodell.....	143
6.2 Synopsis .....	145
<b>7 Literaturverzeichnis</b>	<b>147</b>





## Zusammenfassung

Seit Mitte der 1990iger Jahre wurde in ganz Mitteleuropa ein massives Absterben von flussbegleitenden Schwarzerlen (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) beobachtet. Als primär verursachendes Pathogen dieses neuartigen Erlensterbens wurde die vermutlich rezent entstandene Hybride *Phytophthora alni* (Brasier) identifiziert. Dieser landläufig als Erlen-*Phytophthora* bezeichneter Algenpilz (Oomycet) ist optimal an den natürlichen Lebensraum der Schwarzerle (Bruch- und Auwälder) angepasst, da er sich mittels begeißelter Zoosporen im Wasser verbreitet.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen sollten zeigen, welche ökophysiologischen und phytopathologischen Mechanismen dem Absterben von Schwarzerlen, die mit *Phytophthora alni* infiziert sind, auf den verschiedenen bauminternen Skalenebenen zu Grunde liegen. Im Einzelnen sollte der Einfluss der Infektion durch *Phytophthora alni* auf den (1) Blattgaswechsel, (2) Wasser-, (3) Kohlenhydrat- und (4) Nährstoffhaushalt, (5) die Belaubung sowie den (6) Zuwachs befallener Erlen untersucht werden. Darüber hinaus sollte Aufschluss über das (7) Pathogenwachstum im Wirtsgewebe und die (8) Bedeutung sekundär auftretender holzerstörender Weißfäulepilze für das Krankheitsgeschehen gewonnen werden.

Dazu wurde in Freilanduntersuchungen der Einfluss des Pathogens auf den Blattgaswechsel, den Kohlenhydratgehalt und die Nährstoffversorgung der Blätter sowie den Wasserzustand natürlich infizierter Schwarzerlen (ca. 20-jährig) über drei Vegetationsperioden (2003 bis 2005) hinweg untersucht. Die Ergebnisse des Blattgaswechsels wurden mit Messungen des Zweig-Wasserpotentials und des Xylemflusses im Stamm, sowie mit den Kohlenhydratgehalten und der Nährstoffausstattung der Blätter in Bezug gesetzt. Nach Abschluss der Messungen und nach Ernte der Bäume wurde mit Hilfe allometrischer Beziehungen die Transpirationsoberfläche (Laubfläche) der Versuchsbäume abgeschätzt. Computertomographische Untersuchungen an frisch gefällten Stammabschnitten sollten klären, ob es in Folge der *Phytophthora*-Infektion zu einer Beeinträchtigung des wasserleitenden Querschnittes (im Xylem) kommt.

Infektionsversuche (2004 bis 2005) an dreijährigen Erlentopfpflanzen in einer Vegetationshalle (Freilandklima, jedoch Bewässerung und Beschattung der Bäume) mit der aggressiven Unterart des Pathogens *Phytophthora alni* subsp. *alni* sollten zeigen, ob die im Freiland gefundenen Ergebnisse unter künstlichen Bedingungen auf

histologischer, physiologischer und biochemischer Ebene an Jungpflanzen nachvollziehbar sind.

Die Ergebnisse der ökophysiologischen Messungen an erkrankten Erlen im Freiland und die der Infektionsversuche an stamminokulierten Erlentopfpflanzen wiesen große Übereinstimmung auf. Infizierte Schwarzerlen im Freiland und stamminokulierte Erlentopfpflanzen zeigten im Vergleich zu gesunden Kontrollbäumen auf Blattebene eine reduzierte Nettophotosynthese- und Transpirationsrate sowie eine verringerte Blattleitfähigkeit ( $\text{gH}_2\text{O}$ ). Die Beeinträchtigung des Gaswechsels konnte nicht auf eine verringerte Wasserversorgung der Blätter zurückgeführt werden, da infizierte Bäume anhand von Zweig-Wasserpotentialmessungen eine ebenso hohe und teilweise höhere Wasserverfügbarkeit in der Krone aufwiesen.

Bei *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten Erlentopfpflanzen wurde eine Korrelation zwischen dem stammumfassenden Ausmaß der Phloemzerstörung (Gürtelung) am Stammfuß und der Beeinträchtigung der Nettophotosynthese auf Blattebene gefunden. Darüber hinaus wiesen die Blätter infizierter Bäume im Freiland und in Infektionsversuchen erhöhte Zucker- und Stärkeblattspiegelwerte auf. Insbesondere zweifach stamminokulierte Erlentopfpflanzen mit nahezu vollständig den Stamm umfassenden Rindenläsionen zeigten signifikant erhöhte Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte. Dies lässt auf einen infektionsbedingten Assimilatstau im Phloem und eine daraus resultierende Assimilatakkumulation auf Blattebene schließen. Die Beeinträchtigung des Blattgaswechsels infizierter Erlen ließe sich in diesem Fall mit einer Endprodukthemmung der Photosynthese erklären.

Infizierte Erlen im Freiland wiesen im Vergleich zu gesunden Bäumen eine signifikant verringerte Belaubungsdichte (Blattmasse/Astquerschnittsfläche) auf und demzufolge eine geringere Blattmasse und Blattfläche der gesamten Krone. Darüber hinaus zeigten diese Bäume ein signifikant verringertes Verhältnis zwischen Kronenfläche und wasserleitendem Querschnitt, welches auf eine Beeinträchtigung des Xylemflusses im Stamm hindeutete. Xylemflussmessungen bestätigten dies und zeigten bei erkrankten Erlen eine signifikant verringerte Flussdichte im äußeren Splintbereich. Nach Fällung der Versuchsbäume im Freiland zeigten visuelle Analysen und computer-tomographische Untersuchungen von Stammabschnitten, bei infizierten Erlen einen starken Befall des Xylems durch Weißfäuleerreger. Dieser Befall reduzierte einerseits den wasserleitenden Querschnitt, andererseits könnte er zu einer verringerten Wasserleitfähigkeit des verbleibenden noch „intakten“ Leitgewebes geführt haben

(Cavitationen, Embolien). Bei Bezug des Xylemflusses auf die vorhandene Blattfläche der Versuchsbäume im Freiland konnten jedoch keine Unterschiede im blattflächenbezogenen Tageswasserverbrauch ( $\text{kg H}_2\text{O d}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ Blattfläche}^{-1}$ ) erkrankter und gesunder Erlen festgestellt werden. Dies lässt auf eine Anpassung der Belaubung dieser Bäume auf den eingeschränkten Xylemstrom im Stamm schließen. Nährstoffanalysen ergaben eine verringerte Stickstoff-, Phosphor- und Schwefel-Ausstattung der Blätter erkrankter Erlen im Freiland, was auf eine infektionsbedingte, chronische Unterversorgung der Wurzel und vergesellschafteter Symbionten (Actinomyceten, Mykorrhiza-Pilze) mit Assimilaten hindeutet. Stamminokulierte Erlentopfpflanzen hingegen zeigten gegenüber Kontrollen eine Unterausstattung der Blätter an leicht pflanzenverfügbaren Nährelementen (Calcium und Magnesium), welches auf eine Beeinträchtigung des Xylemstromes infolge der Infektion schließen lässt. Somit deuten die Ergebnisse der Nährelement-Analysen auf einen schnelleren Krankheitsverlauf bei jungen Erlen im Vergleich zu adulten Freilandbäumen hin.

Im Vergleich zu Kontrollpflanzen wiesen stamminokulierte Erlentopfpflanzen ein signifikant verringertes Höhen- und Dickenwachstum des Sprosses auf, welches wohl auf den infektionsbedingt reduzierten Kohlenstoffgewinn aus der Photosynthese zurückgeht.

Im Zuge der Infektionsversuche an Erlentopfpflanzen zeigten das vertikale Pathogenwachstum im Wirtsgewebe und die stammumfassende Läsionsentwicklung erhebliche saisonale Unterschiede. Höchste vertikale Wachstumsraten des Pathogens wurden im April sowie im September und Oktober verzeichnet. Der Vergleich der Rindenoberflächentemperatur in der Vegetationsperiode 2004 mit dem Wachstum des Pathogens ließ anhand der Tagesmittelwerte keinen direkten Zusammenhang erkennen. Es ist zu vermuten, dass, sofern die Rindentemperatur nicht dauerhaft (Tage bis Wochen) außerhalb der oberen und unteren Temperaturgrenzen für das Kulturwachstum von *Phytophthora alni* subsp. *alni* lag, das Pathogenwachstum maßgeblich von anderen Einflussgrößen als der Gewebetemperatur bestimmt wurde. Als Gründe für die wechselnde Aggressivität werden saisonale Schwankungen im Wassergehalt des Bastes und die jahreszeitlich unterschiedliche Fähigkeit des Wirtes Kohlenhydrate und fungitoxische Metabolite für die Pathogenabwehr zu mobilisieren, diskutiert. Infektionsversuche an dreijährigen Erlenpflanzen zeigten darüber hinaus, dass bereits eine einseitige Stamminfektion durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* ausreichte, um den Wirt zum Absterben zu bringen. Die Besiedelung der Wurzel durch

das Pathogen ist damit zumindest bei jungen Erlen nicht unbedingt nötig, um den Wirt zu töten.

Die Ergebnisse der Freilanduntersuchungen und Infektionsversuche zeigten, dass die Infektion am Stammfuß durch *Phytophthora alni* primär zu einer lokalen Zerstörung des lebenden Rinden- und Kambialgewebes von Erlen führte, welches systemische Auswirkungen auf die gesamte Baumphysiologie hatte. Aufgrund der verursachten Rindenläsionen und Schwächung der Abwehr des Wirtes begünstigte die *Phytophthora*-Infektion den Befall der Erlen durch Wund- und Schwächepathogene (z.B. Weißfäulepilze). Diese sollten i.d.R. zu einer Beschleunigung und Verschärfung des Krankheitsprozesses führen.

## Abstract

In 1993 a previously unknown *Phytophthora* pathogen was discovered in the United Kingdom and subsequently shown to cause death of riparian alder (*Alnus* spp.) all over Europe. This new destructive Alder-*Phytophthora* comprised a group of emergent heteroploid hybrids and was recently designated as species *Phytophthora alni*. The pathogen is highly adapted to riparian ecosystems because of its ability to spread by motile zoospores in water.

The aim of this study was to elucidate the ecophysiological and pathological mechanisms on different tree levels that lead to death of alder plants infected by *Phytophthora alni*. Specifically the influence of infection on leaf gas exchange, on water and carbon hydrate contents, on nutrient supply as well as on foliage and biomass increment of host plants were investigated. Moreover, insight was attempted on the growth of *Phytophthora alni* in host tissue and on the significance of secondary wood decaying fungi (e.g. white rot fungi) for disease progress.

Therefore, investigations on diseased adult (20-year-old) black alder (*Alnus glutinosa*) trees in the field and on *Phytophthora alni* subsp. *alni* stem inoculated potted juvenile (3-year-old) plants were carried out. Infection by *Phytophthora alni* caused strong bark lesions on the stem base of adult trees in the field and on inoculated juvenile plants. On the leaf level, the infection resulted in a reduction of stomatal conductance, net CO<sub>2</sub> uptake and transpiration rates. Minimum levels of twig water potential were less negative in infected than in control trees, reflecting stomatal narrowing and no direct impact of infection on water availability of plants. In infection experiments on juvenile alders, a correlation between circumferential phloem destruction in the stem cortex by the pathogen and the decrease of net CO<sub>2</sub> uptake was found. In addition starch levels in leaves of infected trees were enhanced relative to healthy control trees, possibly indicating a blockage of phloem transport from leaves to roots and consequently a down-regulation of photosynthesis.

Infected trees in the field showed diminished foliage density and reduced rates of xylem flow in the trunk. Lowered flow densities in the water conductive xylem of infected trees might also be due to partial colonization by white rot fungi. Diseased trees in the field exhibited reduced leaf contents of nitrogen, phosphorus and sulphur. Hence, it could be suggested, that the infection leads to a permanent carbon shortage of the roots and associated symbiotic partners, as there are actinomycets and mycorrhiza.

Stem inoculated juvenile plants displayed a depression of shoot length and diameter increment compared with control plants. That might be caused by impaired carbon gain.

During stem infection experiments lesion development in the cortex tissue varied highly over the growing season (April-October) and between plants. Highest vertical and circumferential pathogen growth was measured in April, September and October. Pathogen growth was not related to bark surface temperature during the vegetation period. Therefore, growth of *Phytophthora alni* subsp. *alni* during the vegetation period might mainly be attributed to other parameters than temperature. The seasonal change in water status of cortex and the varying ability of host tissue to mobilize and synthesize toxic compounds for defence may be determinative. Nevertheless experiments showed that stem infection with *Phytophthora alni* subsp. *alni* is already sufficient to kill juvenile alder trees. Therefore, infection of the root system by the pathogen is not mandatory death of the host.

Results of investigations in the field and of infection experiments suggest, that the link between the destruction of the stem cortex caused by *Phytophthora alni* and overall tree vitality is in the assimilation and allocation of carbon within the plant. Therefore, primary infection by *Phytophthora alni* may lead to an impaired ability of defence in diseased alders and consequently favour infestation by wound and weakness pathogens (e.g. parasitic white rot fungi)

# 1 Einleitung

*Phytophthora*-Pathogene sind seit langem als aggressive, meist bodenbürtige Wurzelzerstörer sowohl an krautigen als auch an vielen Holzpflanzen bekannt und sind weltweit im Pflanzenbau als Schadorganismen von Bedeutung (Erwin and Ribeiro, 1996). De Bary prägte bereits 1876 den Namen *Phytophthora*, welches im Altgriechischen „Pflanzenzerstörer“ bedeutet, als er den Erreger der Kraut- und Knollenfäule als *Phytophthora infestans* benannte (Erwin & Ribeiro, 1996).

Die Gattung *Phytophthora* (Familie: *Pythiaceae*) gehört taxonomisch zum Stamm der *Oomycota* (Algenpilze) innerhalb des neu geschaffenen Reiches der Chromista (Cavalier-Smith 1992; Hawksworth 1995). Dieses Reich der Chromista umfasst im Rahmen eines modernen Acht-Reiche-Systems eine neu geordnete Gruppe von eukaryotischen Organismen, die vor allem aus niederen und pilzähnlichen Algen besteht (Campbell 1997). Demnach stehen die Algenpilze entwicklungsgeschichtlich den Braunalgen (*Phaeophyta*), Goldalgen (*Chrysophyta*) und Kieselalgen (*Bacilliarophyta*) am nächsten; phylogenetisch enge Verwandtschaft zu den echten Pilzen (Reich: *Fungi*) besteht nicht. Der Stamm der Algenpilze hat im Laufe der Phylogenese seine Chloroplasten und damit die Fähigkeit zur Autotrophie verloren, welches vermutlich zur Entwicklung einer parasitischen Lebensweise dieser Organismengruppe führte (Campbell 1997)

Namengebendes Charakteristikum der *Oomycota* ist die sexuelle Bildung von Überdauerungsstrukturen, den sogenannten Oosporen. Darüber hinaus haben die *Oomycota* einen Thallus, der aus einem unseptierten, coenocytischen (vielkernigen) Myzel besteht. Die Zellwände enthalten als Hauptkomponenten Cellulose und Hemicellulose im Gegensatz zu Chitin bei echten Pilzen. Zudem sind sie, wegen des Fehlens der Squalenoxidase, nicht in der Lage die für die Vertreter der echten Pilze typische Membrankomponente Ergosterol zu synthetisieren. Viele der Algenpilze zeigen eine an aquatisches Milieu angepasste Lebensweise. Sie bilden durch asexuelle Vermehrung doppelt begeißelte Zoosporen, die sich im Wasser selbständig fortbewegen können und als wesentliche Infektions- und Dispersionsorgane der Pathogene fungieren. Bei einigen Gattungen (z. B. *Bremia* und *Peronospora* spp.) ist jedoch eine Anpassung an das Landleben unter Rückbildung der mobilen Stadien der Zoosporen zu beobachten (Schlösser 1997).

In der mitteleuropäischen Forstwirtschaft ist seit langem *Phytophthora cactorum* der Erreger der Buchenkeimlingskrankheit bekannt (Hartig 1880 aus Hartmann 1998), welche in Baumschulen zu erheblichen Schäden an Laubholzsämlingen führen kann (Butin 1989). An älteren Buchen wurden Wurzelfäuleschäden durch *Phytophthora*-Arten (*Phytophthora cambivora*, *Phytophthora syringae*) bereits in den 30iger Jahren des letzten Jahrhunderts aus England beschrieben (Day 1938). In der jüngeren Vergangenheit wurde aus Nord- und Süddeutschland (Niedersachsen und Bayern) über das vermehrte Auftreten von Wurzelfäulen und Stammnekrosen an Altbuchen infolge von *Phytophthora*-Infektionen berichtet (Jung & Blaschke 1996, Hartmann & Blank 1998, Jung 2004). Als maßgebliche Ursache der Schäden werden die Oomyceten *Phytophthora cambivora*, *Phytophthora citricola* und *Phytophthora syringae*, sowie die Häufung klimatischer Extreme in den letzten Dekaden genannt. Es wird vermutet, dass der Wechsel zwischen extremen Trocken- und Nässeperioden zu einer erhöhten Prädisposition der Bäume und einem erhöhten Infektionsdruck durch die *Phytophthora*-Pathogene führte. Darüber hinaus tritt *Phytophthora cambivora* als Erreger der "Tintenkrankheit" der Edelkastanie (*Castanea sativa*) im maritimen Klimabereich Europas und der USA seit geraumer Zeit in Erscheinung (Day 1932, Millburn & Gravatt 1932, Peace 1962, Vettrano 2002). *Phytophthora citricola* ist seit längerem als Verursacher einer Wurzel- und Rindenfäule an Rosskastanie mit nachfolgendem Blatt- und Zweigsterben bekannt (Brasier & Strouts 1976). Ein weiteres Beispiel für das außergewöhnliche hohe zerstörerische Potential von *Phytophthora*-Pathogenen an Waldbäumen ist das durch *Phytophthora cinnamomi* verursachte großflächige Absterben von Eukalyptus-Wäldern (*Eucalyptus marginata*, Jarrah) im Westen Australiens (Old 1979, Weste & Marks 1987, Shearer & Tippett 1989). *Phytophthora cinnamomi* verfügt über ein sehr weites Wirtsspektrum. Das Pathogen vermag mehr als 2000 Pflanzenarten zu befallen (Erwin & Ribeiro 1996). In Europa ist es im westlichen Mittelmeerraum, auf der iberischen Halbinsel und in Süd-Frankreich ursächlich für das Absterben von Kork- und Steineichenbeständen (*Quercus suber* bzw. *Q. ilex*) verantwortlich (Brasier 1992, 1996; Robin et al. 2001).

In der jüngsten Vergangenheit wurde immer wieder von neuen *Phytophthora*-Arten oder Hybriden berichtet, die wegen der geringen Anpassung ihres Wirtes diesen schnell zum Absterben bringen. In diesem Zusammenhang ist das seit Mitte der 90iger Jahre auftretende und als „Sudden Oak Death“ (SOD) beschriebene schnelle Sterben von *Lithocarpus densiflorus*, *Quercus kelloggii*, *Quercus agrifolia* und *Quercus parvula*



var. *shrevei* in Kalifornien zu nennen (Barett et al. 2006), welches durch die neue Art *Phytophthora ramorum* (Werres 2001, Rizzo et al. 2002) verursacht wird. Dieses Pathogen wurde über bereits infizierte Rhododendren aus Baumschulen in die Ökosysteme eingeschleppt. In Mitteleuropa sind als neu entdeckte und invasive Arten an Waldbäumen das aggressive Eichen-Wurzelpathogen *Phytophthora quercina* (Jung et al., 1999), die geringer aggressive Art *Phytophthora pseudosyringae* an Eiche, Buche und Erle (Jung 2003) sowie die Arten *Phytophthora ramorum* und *Phytophthora kernoviae* zu nennen. Letztere beiden wurden bisher nur in Großbritannien im Freiland an Waldbäumen bestätigt (Brasier 2004, Brasier 2005) und verursachen Stammnekrosen an Eiche (*Quercus spp.*) und Buche (*Fagus sylvatica*) sowie einigen weiteren Laubbaumarten (Brown & Brasier 2007). *Phytophthora ramorum* war bis dahin in Europa nur in Baumschulen, Parkanlagen und privaten Gärten an *Rhododendron* und *Viburnum sp.* durch Triebsschäden und Blattnekrosen in Erscheinung getreten (Werres & Marwitz 1997, Werres 2001). Gründe für das zunehmende Auftreten von bisher unbekanntem bzw. gebietsfremden *Phytophthora*-Arten weltweit werden in dem stetig wachsenden globalen Pflanzenhandel und der Nutzung symptomunterdrückender mykostatistischer Chemikalien in Baumschulen und anderen pflanzenproduzierenden Betrieben gesehen (Brasier et al. 2005).

Ein sehr aggressiver und ebenfalls neu entdeckter Oomycet ist der Erreger der Wurzelhalsfäule an Erle, die sogenannte „Erlenphytophthora“. Im Jahr 1993 wurde erstmals in Südengland das Absterben vieler flussbegleitender Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*) beobachtet (Gibbs 1995, Brasier et al. 1995). Die Bäume zeigten lichte Kronen mit kleinen chlorotischen Blättern. Teilweise abgestorbene Wurzeln und häufig zu beobachtende zungenförmige, am Stammanlauf beginnende Rindennekrosen mit Schleimfluss und der Bildung dunklen Wundgummis (Teerflecken) zählen ebenfalls zu den typischen Symptomen. Die Krankheit wurde auch an der Grauerle (*Alnus incana*) und an der italienischen Erle (*Alnus cordata*) beobachtet. Sobald die Stammnekrose stammumfassend ist, stirbt der Baum relativ schnell ab. Äußerlich fallen diese Nekrosen als dunkel verfärbte Rinden- und Borkenbereiche auf, die bei älteren Bäumen allerdings schwer zu erkennen sind. Entfernt man die Borke im Bereich des Schleimflusses, so kommen die typisch braun bis rotbraun verfärbten, abgestorbenen Rindenbereiche neben lebendem hellen Gewebe zum Vorschein (Jung und Blaschke 2001, Werres 1998, Hartmann 1995). Diese Nekrosen haben in der Regel ihren Ursprung an der Stammbasis und breiten sich stammaufwärts aus. Sie sind teilweise

auch an den Hauptwurzeln zu finden. Typische Symptome der Erlenphytophthora-Erkrankung sind in Abbildung 1-1 dargestellt.

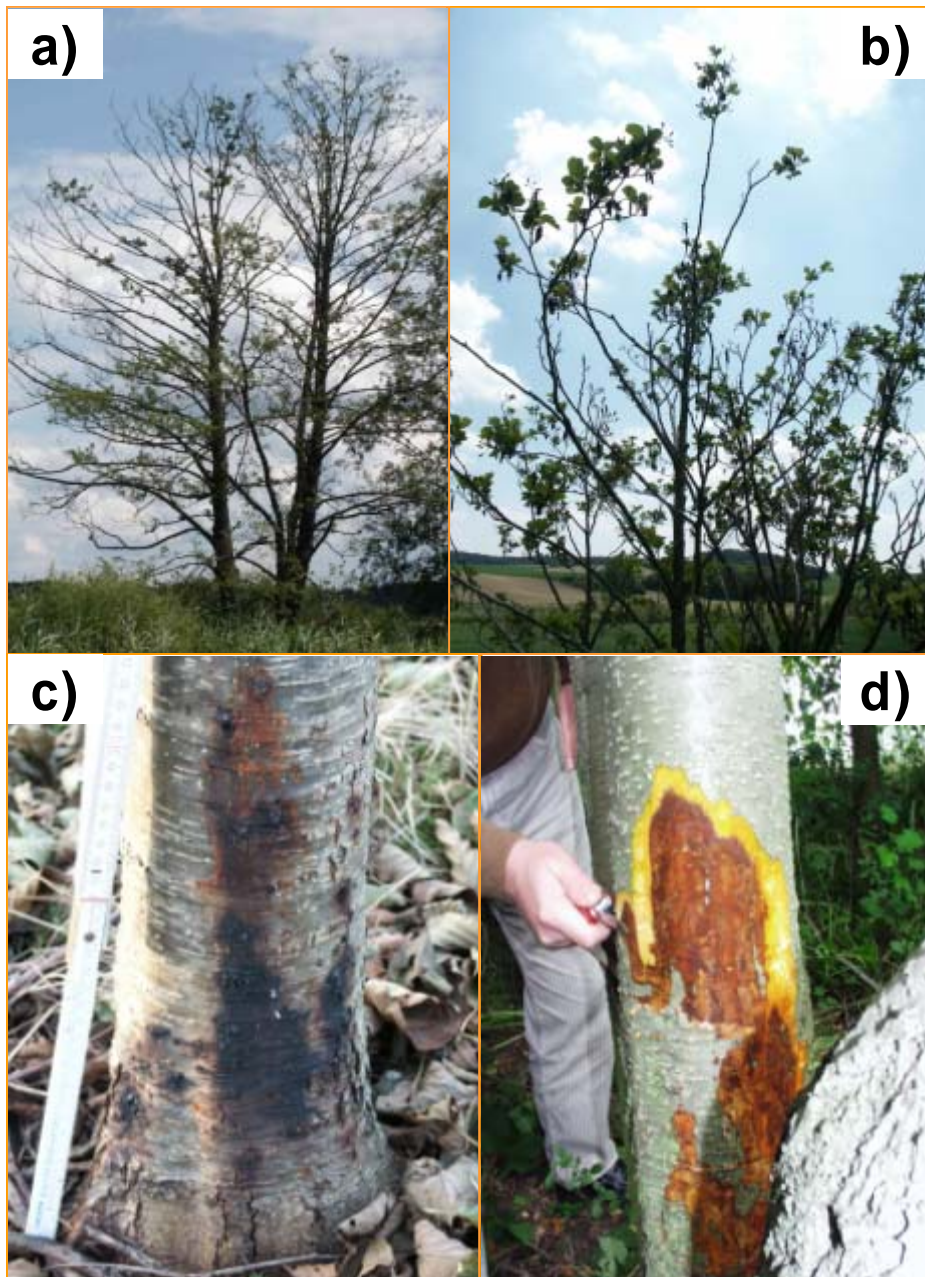


Abbildung 1-1 a-d: Typische Symptome der Erlenphytophthora-Erkrankung. a) Extreme Kronenverlichtung im Endstadium der Krankheit. b) Kleinblättrigkeit (Mikrophyllie) und Feinreisigverlust in der zurückstehenden Krone. c) Teerfleckenbildung am Wurzelhals und Stammfuß durch Austritt von Wundexudaten infolge der Rindennekrose d) Zungeförmige Nekrose des Rinden- und Kambiumgewebes an einer erkrankten Schwarzerle aus dem Münsterland (Bildquelle Abb. d: Prof. Dr. H. Pfanz, Universität Duisburg-Essen).

Brasier und Mitarbeiter isolierten aus diesen Nekrosen ein bis dahin noch unbekanntes homothallisches (selbstfertiles) *Phytophthora*-Pathogen (Brasier et al. 1995). Diese neue destruktive *Phytophthora* umfasst eine Gruppe heteroploider Hybride zwischen *Phytophthora cambivora*, einem bedeutenden Pathogen an europäischen Laubbaum-

arten, und einer *Phytophthora fragariae* (Erreger der „Roten Wurzelfäule“ der Erdbeere) nahestehenden noch unbekanntem Art. Weitere molekularbiologische Untersuchungen von einer Vielzahl gewonnener Isolate bestätigen, dass es sich bei der neuen „Erlenphytophthora“ um eine Hybride handelt, welche möglicherweise erst kürzlich entstand, sich kontinuierlich weiterentwickelt und sehr instabil ist (Brasier et al. 1999). Anhand physiologischer und morphologischer Charakteristika und mit Hilfe von PCR-RFLP-Methoden können die Varianten „Swedish“, „Dutch“, „German“, „UK“ und „Standard“ unterschieden werden, von denen Letztere am häufigsten vorkommt.

Es wird vermutet, dass die Hybridisierung in Baumschulen vonstatten ging und dieses Ereignis noch nicht lange zurück liegt (vermutlich Anfang der 80er Jahre). Diese neue Erlenkrankheit ist in Mitteleuropa weit verbreitet. Funde des Pathogens aus absterbenden, flussbegleitenden Erlen in den Niederlanden, Belgien, Frankreich, Irland, Schweden, Estland, Lettland, Deutschland, Österreich, Ungarn und Italien belegen dies eindrücklich (Hartmann 1995, Mathieu 1996, Cech 1997, Werres 1998, Gibbs et al. 1999, 2003, Olsson 1999, Streito & Gibbs 2000, Szabo et al. 2000, Santini et al. 2001, Streito et al. 2002, Brasier & Jung 2003, Nagy et al. 2003). Auch in ganz Bayern gelang der Nachweis dieser neuen *Phytophthora* an absterbenden Erlen entlang von Flüssen (Jung et al. 2000, Oßwald et al. 2001, Jung & Blaschke 2003).

Feldstudien zeigten, dass das Pathogen örtlich äußerst aggressiv und zerstörerisch sein kann (Gibbs, Van Dyck & Webber 2003, Jung & Blaschke 2004). Es stellt eine ernsthafte Bedrohung natürlicher und künstlich begründeter Erlenbestände in Europa dar und gefährdet erheblich die Stabilität von natürlichen Flussökosystemen. Des Weiteren geht von diesem Pathogen eine latente Gefahr für Erlenpopulationen auf anderen Kontinenten, wie bspw. Asien und Amerika, aus (Brasier et al. 2004 a).

In Laborversuchen erwiesen sich die Oosporen der Erlenphytophthora als nicht keimfähig, welches auf Unregelmäßigkeiten bei der meiotischen Zellteilung zurückgeführt wird (Delcan & Brasier 2001). Das Myzel der Erlenphytophthora bildet im Gegensatz zu vielen anderen *Phytophthora*-Pathogenen keine asexuelle Dauersporen, sogenannte Chlamydosporen (Brasier et al. 2004a). Geringe Isolationserfolge an Bodenproben befallener Erlenbestände im Freiland (Jung & Blaschke 2004) deuten darauf hin, dass die Erlenphytophthora mangels funktionsfähiger Überdauerungsstrukturen über sehr geringe Konkurrenzkraft gegenüber anderen Boden-Mikroorganismen verfügt und außerhalb von Wirtsgewebe nicht lange zu überleben vermag.

Dementsprechend sind das Myzel und die Zoosporen für das Überleben und die Ausbreitung der Erlenphytophthora im Freiland verantwortlich. Ein vereinfachter Lebenszyklus der Erlenphytophthora ist in Abbildung 1-2 dargestellt.

Der natürliche Standort der Schwarzerle entlang von Fließgewässern ist auf Grund der Dynamik dieser Ökosysteme eine potentielle Infektionsfalle. Die Erlenphytophthora-Zoosporen sind als doppelt begeißelte, vegetative Ausbreitungsorgane optimal an eine Fortbewegung im (Boden)Wasser angepasst. Sie sind in der Lage, kurze Strecken im aquatischen Milieu eigenständig zurückzulegen (Jüptner 2006). Über längere Strecken erfolgt die Ausbreitung der Zoosporen innerhalb der fließenden Welle betroffener Gewässer. Eine weitere Verbreitungsmöglichkeit ist der Ferntransport von Myzel durch von Zoosporen infizierten Rindendebries welche auf der Gewässer Oberfläche schwimmen. Neben diesen Möglichkeiten ist eine Dispersion des Pathogens mit Hilfe tierischer Vektoren (Fische, Wasserschnecken oder Wasservögel) wahrscheinlich (Jung & Blaschke 2003).

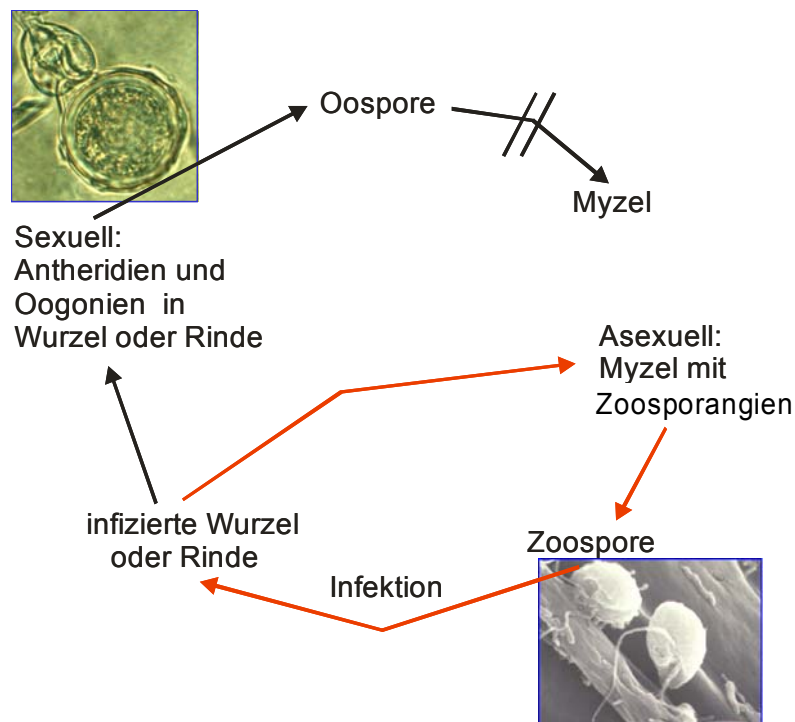


Abbildung 1-2: Schematischer Lebenszyklus von *Phytophthora alni*. Die durchgestrichene Phase vermag die Erlen-Phytophthora wegen ihres unvollständigen Zyklus nicht zu durchlaufen. Der asexuelle Zyklus (rot) ist für die Verbreitung und Infektion im Freiland verantwortlich.

(Quelle der Rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme von *Phytophthora* sp. Zoosporen: <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Phytophthora/motilezoospores.jpg>)

Somit ist dieses neue *Phytophthora*-Hybrid, zumindest was den Verbreitungsmodus angeht, mit *Phytophthora lateralis* zu vergleichen, einem Pathogen, das für das Absterben von *Chamaecyparis lawsoniana* (Port-Orford-Cedar) entlang von Flussläufen in Oregon verantwortlich gemacht wird (Hansen et al. 2000). Als hauptsächlichster Infektionsweg unter natürlichen Bedingungen im Freiland dienen der Erlenphytophthora Lentizellen des Rindengewebes und nicht suberinisierte Adventivwurzeln am Wurzelhals der Erlen oder an freiliegenden Grobwurzeln (Jung & Blaschke 2004). Von dort aus breitet sich das Pathogen meist sprossaufwärts im lebenden inneren Rindengewebe und Kambium aus. Eine Besiedelung des Xylems wurde bisher nicht beobachtet und erscheint anhand der vermutlich hemibiotrophen Ernährungsweise des Pathogens (Jüptner 2006), mit Ausnahme lebender Parenchymzellen im Holz, als unwahrscheinlich. Bei befallenen Erlen-Baumschulpflanzen ist häufig das Wurzelsystem (inklusive der Feinwurzeln) durch die Erlenphytophthora infiziert, was auf einen hohen Infektionsdruck auf kontaminierten Baumschulflächen durch ständige Anwesenheit des Pathogens im Bodenwasser zurückzuführen ist.

Daten von Brasier & Kirk (2001) zeigten, dass die Standardvariante der Erlenphytophthora im Stamminokulationstest an *Alnus glutinosa* die aggressivste war. Zudem zeigte die Erlenphytophthora auch ein enges Wirtsspektrum. Das Inokulum breitete sich nicht in der Borke von *Quercus*, *Castanea*, *Fagus*, *Acer*, *Chamaecyparis* und *Taxus* aus, wohingegen sich *Phytophthora cambivora*, *Phytophthora citricola* und *Phytophthora cinnamomi* sehr wohl in diesen Gehölzen etablierten. Diese Versuche zeigten eindrucksvoll, dass die neue „Erlenphytophthora“ ein reines Erlenpathogen ist und als primärer Verursacher der im Freiland beobachteten Erlenerkrankung angesehen werden muss.

Das Hybridpathogen wird mittlerweile taxonomisch als eigene Spezies mit dem Namen *Phytophthora alni* angesehen, eine Artbeschreibung erschien unlängst von Brasier et al. (2004). Danach umfasst die Art drei Unterarten die sich im Grad ihrer Polyploidie unterscheiden. Die häufigste (80 bis 90% aller Isolate) und aggressivste, nahezu tetraploide Standardhybride wird demnach fortan als *Phytophthora alni* subsp. *alni* bezeichnet. Weitere Varianten (s.o.) mit geringeren Chromosomenzahlen sind zukünftig den beiden Unterarten *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* und *Phytophthora alni* subsp. *multiformis* zuzuordnen.

Zur Entwicklung adäquater Managementstrategien wurden in Bayern in den Jahren 2001 und 2002 in Zusammenarbeit von Forst- und Wasserwirtschaftsverwaltung flächendeckende Freilandhebungen zur Verbreitung des Pathogenes in flussbegleitenden und forstlich begründeten Erlenbeständen durchgeführt (Jung & Blaschke 2003). Diese Untersuchungen zeigten, dass mehr als 50% der Gewässer erster und zweiter Ordnung in Bayern von der Erkrankung betroffen sind. Hinzu kommen zahlreiche Gewässer dritter Ordnung und Uferzonen vieler Seen im Alpenvorland mit infizierten Zuläufen (Chiemsee, Ammersee, Starnberger See u.a.). An befallenen Flussabschnitten waren teilweise mehr als die Hälfte der Erlen deutlich geschädigt oder bereits abgestorben.

Die forstliche Schadenskartierung zur Erlenphytophthora-Erkrankung in Bayern (2002) ergab, dass mehr als 32% der landesweit begutachteten Bestände (1041 von 3247) bzw. 45% der kartierten Fläche (~1700 Hektar) einen Befall durch *Phytophthora alni* aufwiesen. Darüber hinaus wurden in Bayern wiederholt Baumschulen begutachtet die Erlenpflanzen vertreiben. Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten, dass Baumschulen eine wesentliche Verbreitungsquelle für das Pathogen darstellen (Jung & Blaschke 2004). Baumschulen werden zur Vermeidung weiterer Verschleppung der Erlenphytophthora angehalten, Erlenpflanzen aus Samen zu ziehen, den Einsatz von Fluss- oder Oberflächenwasser zur Beregnung zu vermeiden und auf Erlenfeldern keine anderen Pflanzenarten zu kultivieren mit denen das Pathogen eingetragen werden könnte (Jung & Blaschke 2003, 2004).

Für den Freilandanbau der Erle auf unvernässten Standorten wird die Verwendung von Baumschulpflanzen, die unter Beachtung o.g. Kriterien produziert wurden, empfohlen. Auf permanent vernässten oder temporär überfluteten Standorten besteht das Infektionsrisiko über sich im Wasser fortbewegende Zoosporen. Ein Anbau der Erle ist dort nur mit resistenten Klonen sinnvoll. Ein „Auf-den-Stock-setzen“ infizierter flussbegleitender Erlenbestände erwies sich als nur bedingt erfolgreiche Managementmaßnahme, da der Neuaustrieb mittelfristig wieder befallen wurde (Jung & Blaschke 2004).

Wie die vorausgehende Zusammenstellung zeigt, wurde in den letzten Jahren viel zur Morphologie, Genetik, Ökologie und Epidemiologie wichtiger *Phytophthora*-Pathogene, erarbeitet. Allerdings ist nur wenig über die Einflussnahme der Pathogene auf die Physiologie der Wirtspflanze und zu den Mechanismen des Absterbens im Freiland bekannt. Einige Untersuchungen in den 70iger Jahren ergaben, dass viele Pflanzen,

die mit *Phytophthora*-Arten an den Wurzeln infiziert waren, typische Wassermangel-Symptome an den oberirdischen Organen zeigten bevor die ganze Pflanze abstarb. Sterne et al (1978) berichteten, dass Blätter von Avocadobäumen, die an den Wurzeln mit *Phytophthora cinnamomi* infiziert waren, im Vergleich zu Blättern gesunder Pflanzen eine drastisch reduzierte Transpiration und deutlich geringere stomatäre Leitfähigkeiten aufwiesen. Besonders gravierend waren die Unterschiede im Wasserpotential der Blätter am Morgen und am Abend. Die Werte infizierter Pflanzen lagen bei  $-8$  bis  $-9$  bar, wogegen sich die Potentiale von Blättern gesunder Pflanzen bei  $-1$  bis  $-2$  bar stabilisierten. Die Autoren schlossen daraus, dass die Wurzelschädigung durch *Phytophthora cinnamomi* zu solch massiven Veränderungen im Wassertransportsystem geführt haben müsse, dass normale Kontrollmechanismen der Pflanzen, wie der Schluss der Spaltöffnungen, nicht ausreichten um, das Wasserdefizit zu begrenzen. Der Einfluss von *Phytophthora cinnamomi* auf die Photosynthese bei Avocado wurde von Ploetz und Schaffer (1989) untersucht. Sie zeigten, dass die Photosynthese von Avocadopflanzen, die mit *Phytophthora cinnamomi* inokuliert waren, nach einem Flutungsereignis innerhalb von sieben Tagen auf Null absank. Mehr Licht in das Zusammenspiel zwischen einer Wurzelinfektion und dem Absinken des Wasserpotentials in den Blättern brachten die Versuche von Dawson und Weste (1984). Sie berichteten, dass allen Veränderungen innerhalb der Blätter, einschließlich der Welke, immer eine massive Reduktion in der Wasserleitfähigkeit der Wurzeln vorausging. Interessanterweise war die Leitfähigkeit der Wurzeln für Wasser bereits bei einer geringen Infektion von 8-15% deutlich reduziert.

Die Durchsicht der Literatur zum Themenkomplex Erlensterben und *Phytophthora* verdeutlicht, dass Vieles zum Erreger selbst, der *Phytophthora alni*, ihrem Wirkkreis und ihrer Verbreitung sowie den Möglichkeiten ihres Nachweises in Europa publiziert worden ist (Gibbs 1995, Brasier et al. 1995, Gibbs et al. 1999, Delcan & Brasier 2001, Brasier & Kirk 2001, Brasier et al. 2004, Jung & Blaschke, 2003, 2004, De Merlier et al. 2005, Ios et al. 2005, 2006, Bakonyi et al. 2006). Es existieren allerdings keine umfassenden Untersuchungen über das Wachstum des Pathogens im lebenden Wirt, die Art und das Ausmaß seiner Einflussnahme auf den Wassertransport und die Nährstoffversorgung sowie die physiologischen Auswirkungen des Pathogens auf Photosynthese und Transpiration. Genau diese Fragen stehen im Zentrum dieser Arbeit.

## 1.1 Zielsetzung

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen sollten zeigen, welche ökophysiologischen und phytopathologischen Mechanismen dem Absterben von Schwarzerlen (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.), die mit der vor einigen Jahren entdeckten Hybride *Phytophthora alni* (Brasier) infiziert sind, auf den verschiedenen, baum-internen Skalenebenen zu Grunde liegen.

Dazu wurde in Freilanduntersuchungen der Einfluss des Pathogens auf die Photosynthese, Transpiration, stomatäre Leitfähigkeit und die Nährstoffversorgung der Blätter sowie den Wasserzustand natürlich infizierter Schwarzerlen über drei Vegetationsperioden (2003 bis 2005) hinweg untersucht. Die Ergebnisse des Blattgaswechsels wurden mit Messungen des Zweig-Wasserpotentials und des Xylemflusses im Stamm, sowie mit den Kohlenhydratgehalten und der Nährstoffausstattung der Blättern in Bezug gesetzt. Nach Abschluss der Messungen und nach Ernte der Bäume wurde mit Hilfe allometrischer Beziehungen die Transpirationsoberfläche (Laubfläche) der Versuchsbäume abgeschätzt. Computertomographische Untersuchungen an frisch gefällten Stammabschnitten sollten klären, ob es in Folge der *Phytophthora*-Infektion zu einer Beeinträchtigung des wasserleitenden Querschnitts (im Xylem) kommt.

Infektionsversuche an dreijährigen Erlentopfpflanzen in einer Vegetationshalle (Freilandklima, jedoch Bewässerung und Beschattung der Bäume) mit der aggressiven Unterart des Pathogens *Phytophthora alni* subsp. *alni* sollten zeigen, ob die im Freiland gefundenen Ergebnisse künstlichen Bedingungen auf histologischer, physiologischer und biochemischer Ebene an Jungpflanzen nachvollziehbar sind.



## 1.2 Zentrale Fragestellungen

### I. Freilandversuche

- (1) *Welchen Einfluss hat die Infektion auf den Gasaustausch der Blätter?*
- (2) *Kommt es durch die pathogenbedingte Zerstörung des Phloems am Stammfuß zu einer Beeinträchtigung des Assimilatstromes (Phloemstau) und demzufolge zu einer Endprodukt-Hemmung der Photosynthese auf Blattebene?*
- (3) *Geht die infektionsbedingte reduzierte Belaubung und das Vertrocknen der Äste in der Krone auf einen reduzierten Wassertransport im Xylem und/oder auf Störungen der stomatären Regulation zurück?*
- (4) *Wird ein chronischer Wassermangel durch einen abnehmenden Quotienten zwischen Laub- und wasserleitender Stamm-Splintfläche angezeigt?*
- (5) *Manifestiert sich eine Infektion am Stammfuß in einer Verringerung der Nährstoffausstattung der Blätter?*
- (6) *Welche Bedeutung haben an durch die Erlenphytophthora vorgeschädigten Bäumen oft auftretende Holzerstörer für das Krankheitsgeschehen?*

### II. Infektionsversuche

- (7) *Wie schnell wächst das Pathogen im Wirtsgewebe und welches sind die beeinflussenden Faktoren für das Wachstum?*
- (8) *Vermag eine Stamminfektion mit Phytophthora alni ohne gleichzeitige Wurzelinfektion die Wirtspflanze zum Absterben zu bringen?*
- (9) *Wie schnell wirkt sich eine Infektion auf die physiologischen Leistungen auf Blattebene aus?*

## 2 Material

### 2.1 Freilandstandort

#### 2.1.1 Lage des Versuchsstandortes und Beschreibung der Probebäume

Der Standort für die Freilanduntersuchungen befand sich an einem Altarm des Flusses Glonn (48°25'12"N, 11°30'12"O, WGS 84, 468 m ü. N.N.) in Höhe der Ortschaft Herschenhofen (Gemeinde Hohenkammer), ca. 20 km westlich von Freising, direkt an der Landkreisgrenze zwischen Freising und Dachau gelegen (Abbildung 2-1).

Am Versuchsstandort wurden im April 2003 jeweils vier charakteristische symptomtragende und symptomlose, ca. 20-jährige Schwarzerlenbäume (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) für die Untersuchungen ausgewählt. Bei den Versuchsbäumen handelte es sich um Stockausschläge. Die ausgewählten Erlen waren nahezu gleichaltrig, da nach Angaben des Flächeneigentümers der ca. 100 Meter lange Uferabschnitt am Versuchsstandort im Rahmen einer Pflegemaßnahme zum gleichen Zeitpunkt auf den Stock gesetzt wurde.



Abbildung 2-1:  
Lage des Versuchsstandortes im Freiland, 20 km westlich von Freising/Oberbayern. Rote Pfeile deuten auf die Ortslage hin [Ausschnitte aus dem amtlichen Topographischen Kartenwerk Bayern (Süd), Top 50 CD-ROM, Serie der deutschen Landesvermessung].

### 2.1.2 Auswahlkriterien

Die zu untersuchenden vier symptomtragenden Erlen wurden anhand des für *Phytophthora*-Infektionen typischen Krankheitsbildes der voranschreitenden Kronenverlichtung sowie Rindennekrosen und Schleimfluss in Stammfußnähe ausgewählt. Dementsprechend zeigten diese Versuchsbäume allesamt in der Vegetationszeit deutliche Kronentransparenz und trugen am unteren Stammabschnitt Schleimflussflecken oder zeigten zumindest eingefallene Rindenpartien am Stammfuß, die auf eine zurückliegende Infektion hindeuteten. Die symptomlosen Versuchsbäume (vier Kontrollen) zeichnen sich hingegen durch volle Belaubung, reiche Verzweigung der Kronen und ungeschädigte Stammfüße aus (Abbildung 2-2). Von dem symptomtragenden Baum (-)B2 wurde im Herbst 2004 *Phytophthora alni* ssp. aus einer Rindenläsion in ca. 1,80 m Stammhöhe isoliert.

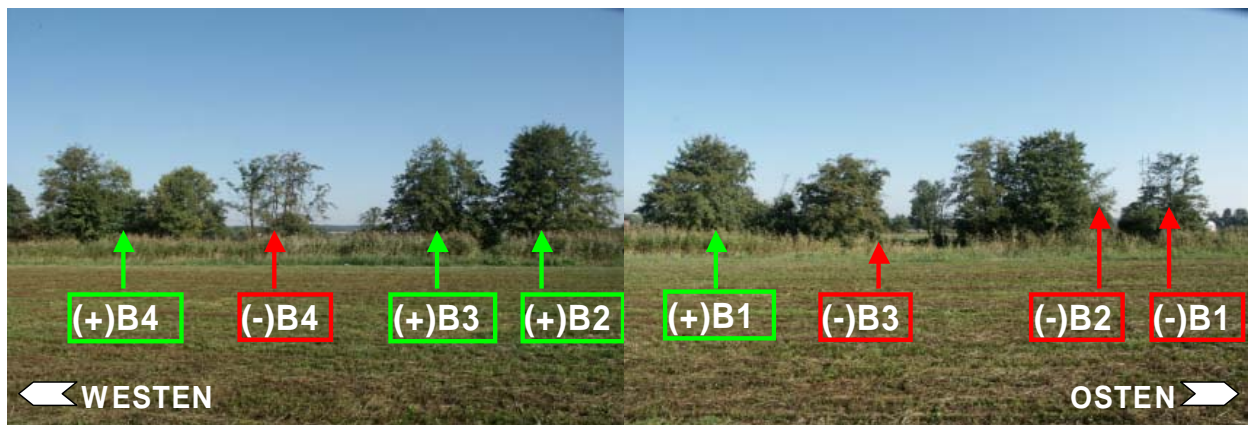


Abbildung 2-2: Gesamtansicht der im Freiland untersuchten ca. 20jährigen Schwarzerlen, Mitte August 2004. Symptome der Erlen-*Phytophthora*-Erkrankung tragenden Bäume (symptomtragende) sind mit roten Pfeilen versehen sowie mit einem Minuszeichen (-) vor der Baumnummer, wie z.B. (-)B2. Auf symptomlose Erlen deuten grüne Pfeile hin, die Baumbezeichnung ist um ein Pluszeichen ergänzt.

### 2.1.3 Brusthöhendurchmesser und Baumlänge

Der mittlere Brusthöhendurchmesser (BHD) der beiden Baumkollektive unterschied sich zu Versuchsbeginn im Jahr 2003 (Stand 31.07.2003) kaum und belief sich bei symptomtragenden Bäumen auf 14,8 cm (9,8 bis 21,0 cm) bei symptomlosen Bäumen auf 15,2 cm (12,2 bis 17,9 cm). Zum Ende der Untersuchungen hin im September 2005 belief sich der mittlere BHD der symptomtragenden Bäume auf 15,8 cm (11,5 bis 22,8 cm) bei symptomlosen Bäumen auf 16,9 cm (12,9 bis 19,2 cm).



Die mittlere Baumlänge (liegend vermessen) der vier symptomführenden Erlen betrug Ende September 2005 zum Zeitpunkt der Baumernte 9,5 m (8,6 bis 10,2 m), die Baumlänge der symptomlosen Bäume betrug im Mittel 12,7 m (10,7 bis 15,4 m). Damit waren die symptomtragenden Bäume durchschnittlich 2,2 m kürzer. Dies deutet auf eine Verringerung des Höhenwachstums infolge der Infektion bei symptomtragenden Bäumen hin.

#### 2.1.4 Versuchsaufbauten

Am Versuchsstandort wurden im April 2003 acht Metallgerüste auf der Nordseite der Versuchsbäume errichtet (Abbildung 2-3 a), um ökophysiologische Messungen in der Vegetationsperiode 2003 und 2004 an lichtexponierten Ästen (Sonnenästen) der acht Erlen durchführen zu können. Die Plattformhöhe der Gerüstbauten betrug zwischen 2 und 6 m. Darüberhinaus wurde für den Betrieb der Xylemfussmessanlage vom nahegelegenen Sägewerk eine permanente Stromversorgung zur Versuchsfläche gelegt. Zur Erhebung des Xylemflusses wurden ebenfalls im April 2003 am unteren Stammabschnitt der Versuchsbäumen vier Granier-Xylemflusssensoren installiert, welche bis zum Ende der Versuche im Herbst 2005 betrieben wurden (Abbildung 2-3b).

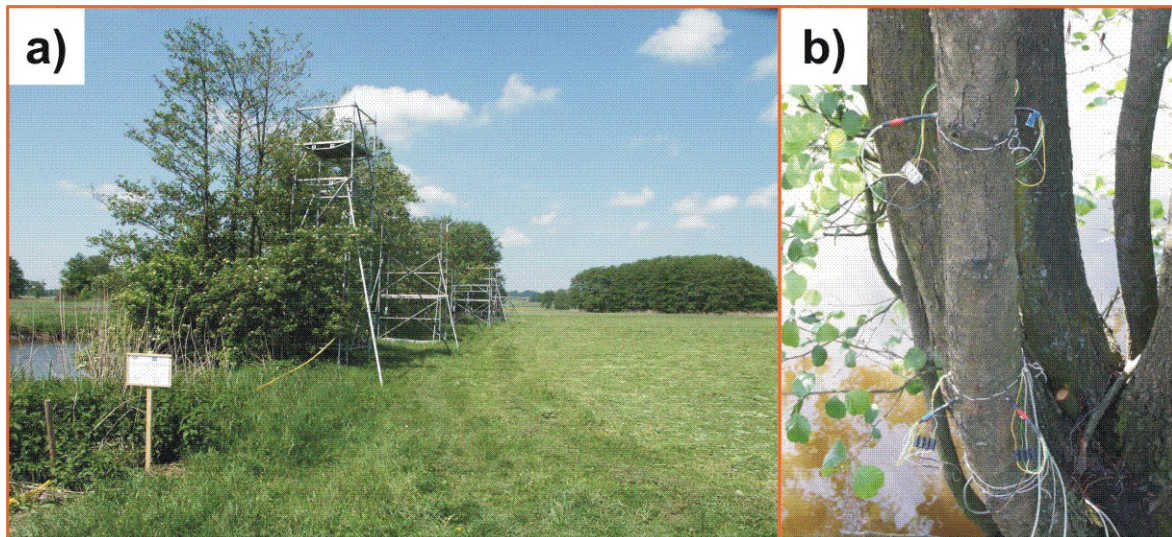


Abbildung 2-3: a) Gerüstaufbauten am Versuchsstandort in Herschenhofen/Glonn b) Im unteren Stammabschnitt auf ca. 0,80 m und 1,20 m Stammhöhe des Versuchsbauemes (-)B3 installierte Xylemflusssensoren (Bauweise Granier).

## 2.2 Infektionsversuche

### 2.2.1 Pflanzenmaterial und Bodensubstrat

Für die Durchführung von Stamm-Infektionsversuchen Anfang April 2004 wurden 24 gesunde dreijährige Erlenpflanzungen (*Alnus glutinosa*) verwendet. Die Pflanzen wurden zuvor im eigenen Gewächshaus aus Samen der Sonderherkunft Landsberg am Lech (Wuchsgebiet 80208 Alpen und Alpenvorland) gezogen. Vor Beginn der Versuche wurden die dreijährigen Sämlinge in 15 Liter fassende Pflanzen-Container (Ø 32 cm) verpflanzt um ausreichend Wurzelraum zu gewährleisten. Das verwendete Bodensubstrat bestand zu gleichen Volumenanteilen aus Kalksand, Torferde, Vermiculite (0-2 mm Körnung) und Lehmboden (Herkunft: Versuchsgut Dürnast der TU München bei Freising). Der Lehmboden wurde zuvor durch Dämpfen sterilisiert. Die Container wurden in Untersetzer aus Kunststoff gestellt um ein Abfließen des Gießwassers zu verhindern. *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierte Pflanzen und mit sterilen Agarplugs beimpfte Kontrollpflanzen wurden räumlich getrennt (mindestens 4 Meter Abstand) und auf Kunstrasen gestellt (Juni 2004) um einer Verschleppung des Pathogens über Gießwasser zu vermeiden. Während der Versuche wurden die Erlenpflanzungen täglich per Hand gegossen, sodass der Wurzelraum stetes ausreichend wassergesättigt war. Düngung der Pflanzen erfolgte während der Versuche nicht. Zum Schutz der Pflanzenwurzel vor Überhitzung im Sommer wurden die schwarzen Container im Juni 2004 mit hellblauer Schattierfarbe (Nixol, Firma Farball, Etten-Leur/NL) eingefärbt, darüber hinaus wurde die Vegetationshalle im Bereich der Versuchsbäume mit weißen Vliesstoffbahnen überspannt um eine Beschattung zu gewährleisten. Bei Ernte der noch lebenden Versuchspflanzen im Herbst des Folgejahres 2005 wiesen alle Erlen eine Mykorrhizierung der Feinwurzeln und Rhizothamnieen (Wurzelknöllchen) an oberflächennahen Grob- und Strukturwurzeln auf.

## 2.2.2 Sprosslänge und Durchmesser der Erlentopfpflanzen

Zum Zeitpunkt der Inokulation (7. und 8. April 2004) wies sowohl das Kollektiv der sechs einfach stamminokulierten als auch das der sechs zweifach stamminokulierten Erlentopfpflanzen keine signifikanten (Mittelwertvergleich durch t-Test) Unterschiede hinsichtlich der mittleren Sprosslänge und des mittleren Wurzelhalsdurchmessers gegenüber den jeweiligen Kontrollen (je sechs pro Variante) auf. Die Sprosslänge der 24 Versuchsbäume lag zwischen 1,40 m und 2,16 m die Wurzelhalsdurchmesser der Erlentopfpflanzen lagen zwischen 15 und 22 mm. Die Stammdurchmesser der *Phytophthora alni* subsp. *alni* inokulierten Erlen waren zu Versuchsbeginn durchschnittlich sogar geringfügig größer (um ca. 1 mm) im Vergleich zu den Kontrollpflanzen.



Abbildung 2-4: Stamminokulierte Erlentopfpflanzen zu Beginn der Infektionsversuche nach Verbringen in eine Vegetationshalle mit klimatischen Freilandbedingungen im Mai 2005.

## 2.3 Laborarbeiten

### 2.3.1 Chemikalien

Substanz	Bezugsquelle	Bestellnummer
$\alpha$ -Amylase aus <i>Bacillus licheniformis</i>	Sigma-Aldrich	A-4551
$\alpha$ -D(+)-Glucose Monohydrat	Roth	6887
100 bp-DNA-Leiter für Gelelektrophorese	New England Biolabs	N3231S
Agar (Bacto-Agar)	DIFCO Labs., Michigan, USA	0140-01
Agarose	Life Technologies	15510-027
Ampicillin (D-[-]- $\alpha$ -Aminobenzylpenicillin)	Sigma-Aldrich	A-9518
Amyloglucosidase aus <i>Aspergillus niger</i>	Sigma-Aldrich	A-7420
Borsäure krist. reinst ( $H_3BO_3$ )	Merck	160
Bromphenolblau ( $C_{19}H_9Br_4NaO_5S$ )	Merck	111746
Calciumcarbonat ( $CaCO_3$ )	Merck	1.02066
D(-) Fructose >99,5%	Roth	4981
D(+) Xylose >99%	Roth	5537
D(+)-Saccharose $\geq$ 99,7%	Roth	9286
DNeasy Kit	Qiagen	69104
dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)	Roth	K 0351, K 0361, K 0371, K 0381
Ethanol, absolut	Roth	5054.1
Ethidiumbromid	BioRad	161-0433
Ethylendiamintetraacetat (EDTA) ( $C_{10}H_{16}N_2O_8$ )	Sigma	E-9884
Hot Star Taq-Polymerase	Qiagen	1007837
Hymexazol (Tachygaren) 99,5%	SANKYO, Tokio, Japan	o.A.
NuSieve GTG Agarose	BMA, Rockland, USA	1-800-341-1574

Nystatin (Mycostatin) Suspension	Sigma-Aldrich	N-1638
PCR-Puffer	Qiagen	1005479
Pentachlornitrobenzene 99% (PCNB) syn. Quintozene	Sigma-Aldrich	P-3395
Pimaricin (syn. Natamycin) aus <i>Streptomyces chattanoogensis</i> , 2,5% aquos	Sigma-Aldrich	P-0440
Primer für qualitative PCR: DC6, ITS 1, ITS 4, ITS 6,	Metabion	o.A.
Rifampizin (3 - [4-Methylpiperazinyliminomethyl] rifamycin SV)	Sigma-Aldrich	R-3501
Tris(hydroxymethyl)aminomethane 99+%	Sigma-Aldrich	T8, 760-2
Wizard DNA clean up System	Promega	A 7280

### 2.3.2 Selektivmedium für die Isolierungen des Pathogens

#### PARPNH-Medium (Hymexazol-Agar, H-Agar)

Gemüse-/ Karottensaft	100 ml
CaCO <sub>3</sub> gefällt	3 g
Agar	16 g
H <sub>2</sub> O <sub>dest</sub>	650 ml

Bei 120 °C und 1,2 atü 30 min autoklavieren.

In 10 ml Ethanol 80% lösen und anschl. mit 100ml H<sub>2</sub>O<sub>dest</sub> auffüllen

PCNB	10 µg
Pimaricin	5 ml
Ampicillin	250µg
Rifampizin	100µg

In 100 ml H<sub>2</sub>O<sub>dest</sub> lösen

Hymexazol (Tachygaren)	50µg
------------------------	------

In 50 ml H<sub>2</sub>O<sub>dest</sub> lösen

Nystatin (Mycostatin)	50µl
-----------------------	------

Autoklaviertes Agarmedium auf 40°C abkühlen lassen und mit gelösten Antibiotika auf einem Magnetrührgerät gut vermischen. Anschließend Selektivagarmedium mit dem Dispenser (Dosierhilfe) auf Petrischalen abfüllen, 15 bis 20 ml je Schale (9 mm Durchmesser).



### 2.3.3 Nährmedium für Pathogenkulturen

#### Karottenmedium (Karotten-Agar, CA)

Karottensaft	100 ml
CaCO <sub>3</sub> gefällt	3 g
Agar	16 g
ad 1 l H <sub>2</sub> O <sub>dest</sub>	

Bei 120 °C und 1,2 atü 30 min autoklavieren.

Vor dem Abfüllen in Petrischalen auf ca. 60 bis 70°C abkühlen lassen.

### 2.3.4 Gelelektrophorese

#### Agarosegel 1,5%ig

Agarose	0,9 g
TBE-Puffer	60 ml

mischen und aufkochen (Mikrowelle) lassen. Nach einigen Minuten Abkühlungszeit

Ethidiumbromid	1 µl
----------------	------

zugeben und mischen. Das Gemisch in eine passende Form mit eingesetztem Kamm gießen und abkühlen lassen.

Abgekühltes Gel in die Elektrophoreseapparatur stellen.

#### 0,5 x TBE-Puffer

Tris(hydroxymethyl)aminomethan 99+%	54 g
Borsäure	27 g
EDTA (0,5 M)	20 ml (2,922 g)
ad 1 l H <sub>2</sub> O	

Lösung mit H<sub>2</sub>O auf 10 l auffüllen.

#### Bromphenolblau (Farbmarker)

Bromphenolblau	1 mg
0,5 x TBE-Puffer	1 ml

Mischen und im Gefrierschrank aufbewahren.

### 3 Methoden

#### 3.1 Ökophysiologische Messungen

Eines der zentralen Ziele dieser Studie war es, die Wirkung der Erlen-*Phytophthora*-Infektion auf die Blattphysiologie und den Wasserhaushalt der befallenen Bäume zu klären. Dazu wurden Photosynthese (Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahme), Transpiration, stomatare Leitfähigkeit und Zweig-Wasserpotentiale, die Nährstoffausstattung und der Kohlenhydratgehalt der Blätter sowie der Xylemfluss der acht Versuchsbäume am Freilandstandort an der Glonn im Zeitraum 2003 bis 2005 untersucht. Die verwendeten Methoden, Messgeräte sowie die Häufigkeit der ökophysiologischen Messungen sind in Tabelle 3-1 wiedergegeben.

Freilanduntersuchungen			
Methoden	Messgerät	Häufigkeit	Termine
<b>Gaswechselformung</b> bei gegebener PAR und konstantem CO <sub>2</sub> von 360 ppm	Porometer, LI 6400 (Fa. LI-COR)	- monatlich - alle 8 Bäume - 5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2003</b> - Juni, - Juli/August, - September
<b>Zweig-Wasserpotential- Messung</b> - predawn ( $\Psi_{\text{predawn}}$ ) - Minimum ( $\Psi_{\text{min}}$ ) - Tagesgangmessung	Scholander- Druckkammer (Fa. Eijkelkamp)	<b>2003</b> - monatlich - alle 8 Bäume - 2-3 Zweige/Baum (Sonnenkrone) <b>2004</b> - Tagesgang - ein erkrankter u. ein symptomloser Baum	<b>2003</b> - Juni, - Anfang August, - Ende August, - September <b>2004</b> - 23. August - 01:00-23:00 h (MEZ)
<b>Xylemflussmessung</b> in ca. 1,0 m Stammhöhe	Xylemflusssensoren nach GRANIER	- fortlaufend - alle 8 Bäume - 4 Sensoren je Baum	<b>2003, 2004 und 2005</b> - April - September
<b>Kohlenhydratanalysen</b> der Blätter - Mittagsprobenahmen - Tagesgangmessungen	HPLC (Biorad, Germany)	- monatlich - Tagesgang - alle 8 Bäume - 5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2003</b> - Juni, Juli, - August (Tagesgang) - September
<b>Mikro- und Makroelementanalysen</b> der Blätter durch C-N-Elementaranalyse ICP-AES	C-N-Analysator, (C-N 1000, Fa. Leco) Spektrometer (OPTIMA 300, Fa. Perkin-Elmer)	- einmal jährlich - alle 8 Bäume - 5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2003</b> - Ende Juli

Tabelle 3-1: Im Freiland verwendete ökophysiologische Methoden und Messgeräte, sowie Zeitpunkte der Messungen und Anzahl der Wiederholung.

Die im Freiland gesammelten Ergebnisse zur Beeinträchtigung der Baumphysiologie durch die Erlen-*Phytophthora* wurden in Infektionsversuchen in der Vegetationsperiode 2003 und 2004 an dreijährigen Erlentopfpflanzen auf ihre Nachvollziehbarkeit hin geprüft. Die im Rahmen der Infektionsversuche durchgeführten ökophysiologischen Messungen und deren Häufigkeit sind in Tabelle 3-2 aufgelistet.

Infektionsversuche			
Methoden	Messgerät	Häufigkeit	Termine
<b>Gaswechselformel</b> bei Lichtsättigung, (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD) und konst. CO <sub>2</sub> (360ppm)	siehe oben	- 14-täglich - alle 24 Bäume - 3-5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2004</b> - Mai - August, <b>2005</b> - Juli - September
<b>Zweig-Wasserpotential-Messung</b> - predawn ( $\Psi_{\text{predawn}}$ ) - Minimum ( $\Psi_{\text{min}}$ )	siehe oben	- einmal jährlich - alle 24 Bäume - 2-3 Zweige/Baum (Sonnenkrone)	<b>2004</b> - Ende Juli <b>2005</b> - Mitte August
<b>Kohlenhydratanalysen der Blätter</b> Mittagsprobenahmen	siehe oben	- zweimal jährlich - alle 24 Bäume - 5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2004 und 2005</b> - Anfang Juni - Mitte August
<b>Mikro- und Makroelementanalysen</b> der Blätter durch C-N-Elementaranalyse ICP-AES	siehe oben	- zweimal jährlich - alle 24 Bäume - 5 Blätter/Baum (Sonnenkrone)	<b>2004</b> - Anfang Juni - Mitte August

Tabelle 3-2: Im Zuge der Infektionsversuche verwendete ökophysiologische Methoden und Messgeräte sowie Zeitpunkte der Messungen und Anzahl der Wiederholung.

### **3.1.1 Gaswechselfmessungen**

#### **3.1.1.1 Gaswechselfmessungen im Freiland bei ambientem Licht**

Am Freilandstandort wurden in der Vegetationsperiode 2003 an allen acht ausgewählten Versuchsbäumen der Blattgaswechsel in der Sonnenkrone von den Gerüstplattformen aus erhoben. Dazu wurden im Juni, Juli/August und September pro Baum an jeweils fünf Blättern bei den am Standort herrschenden natürlichen Lichtverhältnissen der Blattgaswechsel mit einem CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-Diffusionsporometer mit Standardkammer (LI-6400, std. 2x3 chamber, LI-COR, Nebraska, USA) bei einer konstanten Gasflussrate von 500 µmol s<sup>-1</sup> ermittelt. Die Messungen wurden zwischen 9:00 und 16:00 Uhr (MEZ) durchgeführt. Während der Gaswechselfmessungen wurde die CO<sub>2</sub>-Konzentration der in die Messkammer einströmenden Luft (c<sub>a</sub>) mittels geräteintegrierter CO<sub>2</sub>-Mischapparatur bei 360 ppm konstant gehalten, während die Lufttemperatur automatisch auf 20 bzw. 25°C (je nach Außentemperatur) mittels integrierter Peltier-Element reguliert wurde. Die relative Luftfeuchtigkeit in der Blatt-Messkammer wurde auf 35 bis 45 % manuell eingeregelt. Im Zuge der Messungen wurde jeweils zwischen einem symptomtragenden und einem symptomlosen Baum gewechselt, um möglichst vergleichbare Bedingungen während der Messungen für beide Kollektive zu gewährleisten.

#### **3.1.1.2 Gaswechselfmessungen während der Infektionsversuche**

Auf Grund der im Freiland bei den Gaswechselfmessungen gemachten Erfahrungen, dass die Blätter symptomtragender Erlen im Vergleich zu denen symptomloser Erlen insbesondere bei hohem Lichtgenuss deutlich reduzierte Raten hinsichtlich der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation, Transpiration und Blattleitfähigkeit für Wasserdampf aufweisen, sollte aus diagnostischen Gründen, während der Infektionsversuche an Erlen topfpflanzen der Blattgaswechsel bei konstanter Lichtsättigung der Blätter gesunder Bäume erhoben werden. Aus dem Freiland lagen bereits Erfahrungswerte für den Lichtsättigungsbereich adulter Bäume vor (ambient Messungen 2003), welcher bei 1200 bis 1500 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> photosynthetisch aktiver Photonenflussdichte (PPFD) lag. Daher wurden die Gaswechselfmessungen während der Inokulationsversuche an dreijährigen Erlen topfpflanzen bei konstantem Lichtgenuss von 1500 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> photosynthetisch aktiver Photonenflussdichte (PPFD) im Mai 2003 begonnen. Ergänzend dazu wurde Anfang Juli 2004 an einer dreijährigen Kontrollpflanze der

einfachen Stamminokulation eine Lichtabhängigkeitskurve der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation bei konstanter CO<sub>2</sub>-Konzentration von 360 ppm des Gasgemischs in der Messkammer ( $c_a$ ) erstellt. Diese Messungen bestätigten, dass die Blatt-Netto-Photosynthese dreijähriger Erlentopfpflanzen (bei ambianter CO<sub>2</sub>-Konzentration der Außenluft) bei ca. 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PPFD Lichtsättigung erreicht (vgl. Abbildung 3-1).

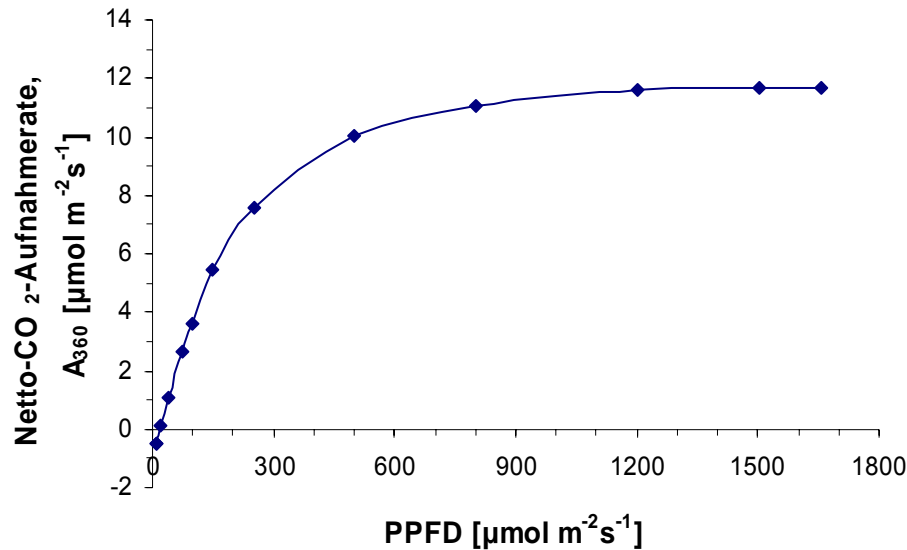


Abbildung 3-1: Abhängigkeit der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahmerate von der photosynthetisch aktiven Photonendichte bei einer dreijährigen gesunden Erlentopfpflanze im Juli 2004 bei 360 ppm CO<sub>2</sub> ( $c_a$ ) 20°C Blatttemperatur .

Außer der Lichtintensität blieben die übrigen Parameter der Gaswechsellmessung in Bezug auf die zuvor beschriebenen Freilandmessungen nahezu unverändert. Die Blatttemperatur wurde während der Messungen auf 20 bzw. 25°C (je nach herrschender Lufttemperatur) eingeregelt. Die Gaswechsellmessungen wurden bei den Inokulationsversuchen mit zwei baugleichen Diffusions-Porometern (LI-6400, Fa. Licor) parallel an stamminfizierten und Kontrollbäumen durchgeführt, um eine gute Vergleichbarkeit der Messungen zwischen den beiden Kollektiven zu gewährleisten. Die Porometer-Messköpfe waren mit einer LED-Lichtquelle ausgestattet (Messkammer: 6400-02 LED Light Source). Die Messungen wurden im Zeitfenster zwischen 9 und 15 Uhr (MEZ) von Mai bis Ende August mehrmals monatlich durchgeführt (s. Tabelle 3-2).

### **3.1.2 Wasserpotentialmessungen**

Zweig-Wasserpotentiale wurden an kurzen Zweigabschnitten (Kurztriebe) der Erlen nach dem Druckkammerverfahren von Scholander et al. (1965) ermittelt. An den beprobten Zweigabschnitten befanden sich i.d.R. 3 bis 5 Blätter. Die Wasserpotentialproben wurden im Freiland aus der Sonnenkrone der Versuchsbäume (in 4 bis 7 m Baumhöhe) mit Hilfe einer Astschere mit Teleskopstange von den Gerüsten aus gewonnen. Für die Messung des Predawn-Potentiales (Dämmerungswasserpotential) wurden Zweigproben vor Sonnenaufgang zwischen 3 und 4 Uhr (MEZ) gesammelt. Das Minimumwasserpotential wurde zwischen 12 und 14 Uhr (MEZ) bestimmt. Nach der Probennahme wurden die Abschnitte in befeuchteten Plastiktüten aufbewahrt und bis zur Messung in einer Kühlbox mit Kühlspeichern zwischengelagert, um den Wasserverlust der Proben gering zu halten.

Die Predawn- und Minimumpotentialmessungen erfolgten in der Vegetationsperiode 2003 an allen acht Versuchsbäumen des Freilandstandorts einmal monatlich, von Juni bis September. Ergänzend wurde Mitte August 2004 der Tagesgang des Zweig-Wasserpotentials eines symptomtragenden (-B2) und eines symptomlosen Versuchsbäumchen (+B3) erhoben. Im Zuge der Infektionsversuche wurde das Predawn- und Minimumpotential von zwei bis drei Zweigabschnitten aus der oberen Kronenhälfte an allen stamminokulierten Containerpflanzen und den dazugehörenden Kontrollen Ende Juli 2004 und Mitte August 2005 bestimmt.

### **3.1.3 Xylemflussmessungen**

Die Xylemflussmessungen dienten der Quantifizierung des Wasserflusses innerhalb des wasserleitenden Gewebes des Stammes der acht Versuchsbäume im Freiland. Für diese Untersuchungen wurde das thermoelektrische Messprinzip der Konstant-Heizungs-Methode nach Granier (1985) angewendet. Die Messung erfolgte von Anfang Mai 2003 bis September 2005 in der Vegetationsperiode fortlaufend.

### 3.1.3.1 Beschreibung der Konstant-Heizungs-Methode nach Granier

#### Technischer Aufbau der Sonden und des Sensors

Ein Xylemflusssensor der Messapparatur nach Granier (Granier 1985, Granier 1987a, Granier 1987b) besteht üblicherweise aus zwei baugleichen Sonden von 2,0 cm Länge und 2 mm Durchmesser (Abbildung 3-2). Die Sonden werden aus medizinischen Kanülen mit 0,9 mm Durchmesser angefertigt, die zuvor auf ein Verwendungsmaß von ca. 2,5 cm bzw. 4,5 cm Länge gekürzt wurden. In 1 cm Entfernung vom Kanülenende wird eine Kupfer-Konstantan-Thermokupplung (Typ T) zur Messung der Sondentemperatur eingebaut. Die obersten 2 cm der Sonde werden mit einem Teflon-isolierten Konstantan-Heizdraht umwickelt. Diese Wicklung (Heizspirale) ermöglicht die Erwärmung der Sonde. Die Anschlusskabel der einzelnen Bauelemente (Thermokupplung und Heizspirale) werden über den Kunststoffsockel der Kanüle abgeführt.

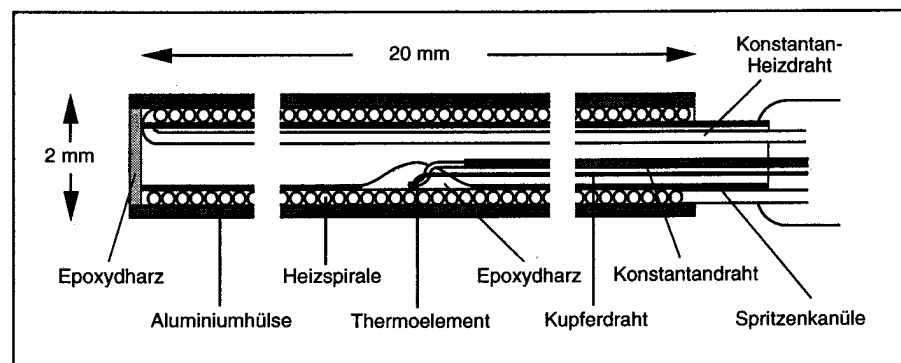


Abbildung 3-2: Schematische Darstellung einer Sonde der Xylemflussmessung nach Granier (Abbildung aus Alsheimer 1997, unverändert).

#### Verkabelung der Sonden

Durch Zusammenschluss der Konstantandrahte der Thermokupplungen von zwei Sonden kann die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Sonden in Form einer thermoelektrischen Spannung in  $\mu\text{V}$  gemessen werden. Eine Temperaturdifferenz von einem Grad Kelvin (K) entspricht einem Messwert von  $40 \mu\text{V}$ . Nach Installation der Sonden im Baum werden die Anschlussdrähte des Heizelementes einer Sonde an die Stromversorgung angeschlossen, sodass diese aufgeheizt wird. Die zweite Sonde (Referenz) der Messapparatur hingegen bleibt unbeheizt und nimmt die Temperatur des sie umgebenden Holzes an. Auf Grund der notwendigen thermischen Vergleichbarkeit sollten beide Sonden möglichst baugleich sein (vgl. Abbildung 3-3)

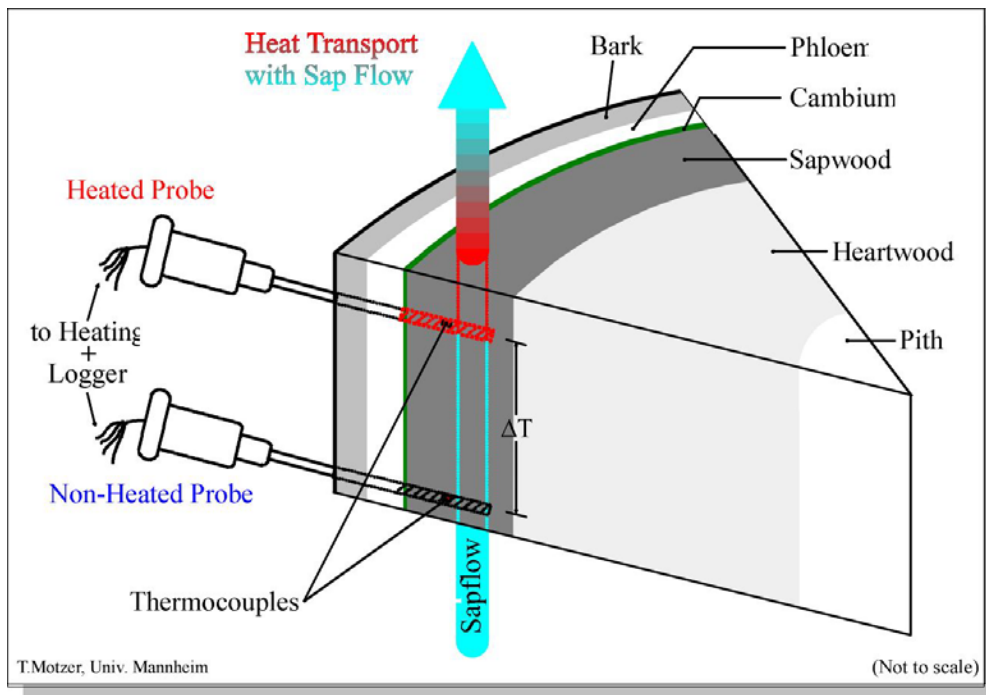


Abbildung 3-3: Schematische Darstellung der Xylemflussmessung durch die Konstant-Heizmethode nach Granier. Quelle: <http://www.geographie.uni-mannheim.de/inst/lpg/motzer/abstract.htm>

### Modifikation der Referenzsonden

Nach Granier (1985) sollte die unbeheizte Sonde zur Erhebung der Referenztemperatur ebenfalls mit einem Heizelement ausgestattet sein, welches jedoch im späteren Betrieb nicht in Funktion ist. Beim Eigenbau der Sonden stellt es jedoch einen erheblichen Mehraufwand dar, die Referenzsonden ebenfalls mit einer Heizung auszustatten. Daher wurde im vorliegenden Fall bei den Referenzsonden auf eine Heizung verzichtet; Anstatt einer Kanülenspitze wurde ein PVC-Schlauch mit ca. 1,5 mm Durchmesser als Aufnahme für die Thermokupplung eingesetzt.

### Installation der Sensoren

Zur Installation der Sonden im Baum wurden mit einem 2 mm Spiralbohrer in radialer Richtung und in 15 bis 20 cm Entfernung (entlang der Stammlängsachse) zwei Löcher übereinander gebohrt. In diese wurden 2,1 cm lange Aluminiumhülsen mit 2 mm Außendurchmesser eingeführt. Diese schützten den empfindlichen Heizdraht der Heizungssonde vor Beschädigung beim Einbau in den Stamm und sorgten darüber hinaus bei Betrieb im Baum für eine homogene Erwärmung der Sonde sowie für eine gleichmäßige Weiterleitung der Heizleistung an das umliegende Holz. Es ist darauf zu achten, dass die Aluminiumröhrchen sich auf der gesamten Länge im Holzkörper befinden und nicht etwa Kontakt zur Rinde haben. Dies würde zu einer zusätzlichen



Wärmeabführung und somit zu Messfehlern führen. Die Aluminiumhülsen wurden zusätzlich mit einer Wärmeleitpaste befüllt, sodass eine gute Wärmeleitung zwischen Heizung und Hülse bzw. Thermokupplung und Hülse gewährleistet war. Beim Einführen der Sonden wurde die beheizbare Sonde oberhalb der unbeheizten angebracht. So wurde sichergestellt, dass die unbeheizte Sonde unbeeinflusst von der darüber liegenden Heizung die Referenztemperatur des umgebenden Holzes annehmen konnte. Zum mechanischen Schutz und zur Feuchtigkeitsisolierung wurden die aus dem Stamm hervorragenden Teile der Sonde mit Karosserie-Dichtmasse (Terostat IX, Teroson, Heidelberg) abgedichtet. Zum Schutz vor Regen und unerwünschter Erwärmung durch Sonneneinstrahlung wurden die Sonden mit einer dachförmigen ca. 30 cm langen und 15 cm breiten Abdeckung aus 2 cm starkem Polystyrol-Hartschaumstoff (Styrodur®, BASF, Ludwigshafen) versehen, die am Stamm mit Hilfe von Gummispannseilen und handelsüblicher Acryl-Dichtmasse befestigt waren.

### **3.1.3.2 Anordnung der Sensoren am Stamm**

Im Freiland wurden an jedem der acht Versuchsbäume vier Xylemflusssensoren am unteren Stammabschnitt installiert. Jeweils zwei Sensoren wurden im 90° Winkel zueinander auf der nördlichen und der südlichen Stammseite der Bäume angebracht (Abbildung 3-4). Pro Stammseite wurden die Sensoren (Fühlerpaar) dermaßen installiert, dass ein Sensor den Fluss in 0 bis 2 cm Splinttiefe und der andere in 2 bis 4 cm Splinttiefe maß. Um eine gegenseitige Beeinflussung der Flusssensoren zu vermeiden, insbesondere der Referenzsonden durch darunterliegende Heizelemente, wurden die Sensoren auf der Nord- und Südseite der Bäume um ca. 40 cm vertikal am Stamm zueinander versetzt angebracht (vgl. Abbildung 3-4). Die beheizten Sonden der Xylemflusssensoren wurden auf der Nordseite der Stämme in ca. 0,80 m Stammhöhe und auf der Südseite in ca. 1,20 m Stammhöhe installiert.

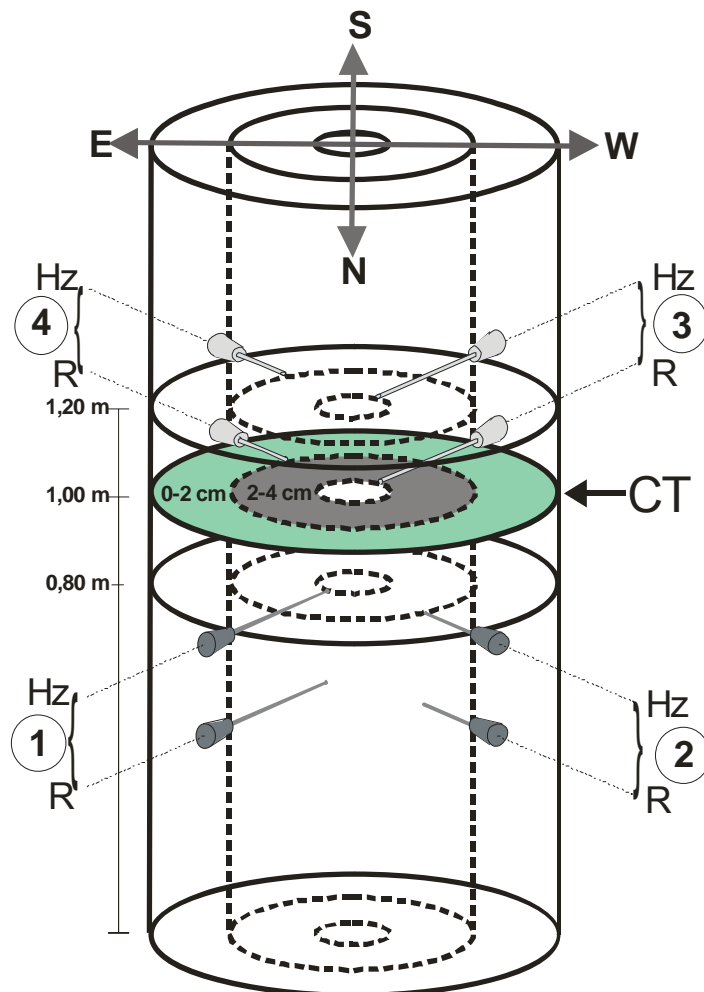


Abbildung 3-4: Schematische Darstellung der Anordnung der vier Xylemflusssensoren (Nr. 1-4 im Bild) am Stamm der Versuchsbäume im Freiland. Hz = Beheizte Sonde, R = unbeheizte Referenzsonde, CT = Computertomographischer Aufnahmen vom leitenden Querschnitt der Bäume in 1,0 m Stammhöhe.

### 3.1.3.3 Betrieb der Sensoren und Datenerfassung

Die Sensoren wurden über ein Kabel, zum einen mit einem Datenerfassungsgerät bzw. Datenmodul (Digitaler Datenlogger IDL 100, Fa. Gantner, Schruns, Österreich) und zum anderen mit einer Steuerelektronik für die Heizung der beheizten Sonde verbunden. Zur Überbrückung der großen Entfernungen zwischen Sensoren und Datenlogger (ca. 100 m vom ersten bis zum letzten Baum auf der Versuchsfäche) wurden bei sieben der acht Versuchsbäume Datenübertragungsmodule (ISM 111, Fa. Gantner) zur Verstärkung und Übertragung des Messsignals zwischengeschaltet, welche über eine Datenleitung die Messwerte zum Datenlogger (am ersten Baum) sendeten. Das Heizelement der Xylemflusssensoren wurde bei 12 V Betriebsspannung und 120 mA Stromstärke betrieben, um eine konstante Heizleistung von 0,2 Watt pro Element zu erzielen. Durch das Beheizen der oberen Sonde können

maximale Temperaturdifferenzen von 10 bis 13 K zwischen der beheizten und der unbeheizten Sonde eines Sensors auftreten, welches einer vom Logger aufgezeichneten Spannungsdifferenz von 400 bis 520  $\mu\text{V}$  entspricht. Während der Xylemflussmessungen wurden vom Datenlogger im 10-Sekunden-Intervall Daten erfasst und als 10-Minuten-Mittelwerte gespeichert.

#### 3.1.3.4 Berechnung des Xylemflusses

Die Messung des Xylemflusses nach Granier beruht auf der beständigen Applikation einer Temperaturdifferenz zwischen den Sensoren durch konstante Beheizung der oberen Sonde. Die Temperaturdifferenz ist am größten wenn kein Transpirationsstrom auftritt und damit die beheizte Messstelle nicht durch vorbeifließenden Xylemsaft gekühlt wird. Da der konvektive Wärmetransport durch Xylemfluss an der beheizten Sonde höher ist als die Wärmeleitung innerhalb des Holzgewebes an beiden Sonden, sinkt die Temperaturdifferenz zwischen den Sonden bzw. steigt der Grad der Abkühlung proportional zur Intensität des Safflusses. Die Formel zur Berechnung des Safflusses beruht auf einer Studie von Granier (1985), dazu führte er mit verschiedenen Baumarten (*Pseudotsuga menziesii*, *Pinus nigra*, *Quercus robur*, *Castanea sativa* sowie an *Prunus* sp. und *Malus* sp.) Durchflusseexperimente an Stammabschnitten durch. Im Zuge dessen fand er bei allen untersuchten Spezies die selben Kalibrierfaktoren, welche für die Flussberechnung notwendig sind. Alle untersuchten Baumarten zeigten die selbe Beziehung zwischen der gravimetrisch bestimmten Xylemflussdichte (Fluss pro Splintfläche und Zeiteinheit) und dem Flussindex  $K$ , wobei:

$$(1) \quad K = (T_{\Delta M} - T_{\Delta a}) / T_{\Delta a}$$

$T_{\Delta M}$  = Temperatur bei Xylemfluss = 0

$T_{\Delta a}$  = aktuelle Temperatur

Aus der von Granier gefundenen Beziehung zwischen Xylemflussdichte  $u$  und Flussdichteindex  $K$  wurde folgende Gleichung abgeleitet:

$$(2) \quad u = 0,0119 \times K^{1,231} \quad (\text{ml cm}^{-2} \text{ s}^{-1})$$

Der gesamte Xylemfluss  $F$  eines Baumes lässt sich durch die Multiplikation der aus Messung und Gleichung (2) ermittelten Flussdichte  $u$  mit der leitenden Splintfläche  $SF$  ( $\text{cm}^2$ ) des Baumes errechnen:

$$(3) \quad F = u \times SF \text{ (ml s}^{-1}\text{)}$$

Die Berechnung des Xylemflusses aus der gemessenen Temperaturdifferenz entsprechenden Thermospannung ( $40 \mu\text{V}$  pro Kelvin) erfolgte in einem Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 2000, Microsoft). Dazu wurden die mit Hilfe des Datenloggers aufgezeichneten 10-Minuten-Werte der Thermospannungen eingelesen und nach Formel (1) und (2) in Flussdichte-Werte umgerechnet. Anhand der kalkulierten 10-minütigen Flussdichte-Werte wurde für jeden der vier Sensoren je Baum die Tagessumme der Flussdichte ( $\text{kg H}_2\text{O d}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) errechnet.

### **Berechnung des täglichen Wasserverbrauchs der Versuchsbäume**

Die ermittelten Tagessummen der Flussdichte in 0,80 m (Stamm-Nordseite) und 1,20 m (Stamm-Südseite) Stammhöhe aus 0-2 cm und 0-4 cm Splinttiefe wurden jeweils gemittelt. Die auf diese Weise errechnete theoretische Flussdichte in 0-2 cm und 0-4 cm Splinttiefe auf 1,0 m Stammhöhe wurde anschließend mit der leitenden Splintfläche der Messbäume multipliziert um den täglichen Wasserverbrauch herzuleiten.

Dabei wurde vereinfachend die Flussdichte in 2-4 cm Splinttiefe der Einzelbäume auf die gesamte innere Splintfläche (bis zur Markröhre) bezogen. Bei Bäumen die von Holzfäule betroffen waren wurde bei der Berechnung des Wasserverbrauch nur der intakte Anteil des Xylems berücksichtigt. Die Bestimmung der intakten Xylemfäche in 1,0 m Stammhöhe der Versuchsbäume erfolgte anhand von CT-Aufnahmen (siehe Abbildung 3-4 und Kap. 3.4) nach Fällung der Bäume im Herbst 2005. Zur besseren Vergleichbarkeit der Wasserbrauchswerte der Einzelbäume wurden diese auf die Fläche eines fiktiven leitenden Querschnitts von 20 cm Durchmesser normiert.

### 3.2 Ernte der Versuchsbäume im Freiland

Zur Abschätzung der Blattfläche (Kronenoberfläche) und zur Untersuchung des Stammes auf Störungen des wasserleitenden Querschnitts infolge der *Phytophthora*-Infektion wurden Mitte September 2005 alle acht Versuchsbäume im Freiland gefällt. Von allen acht Erlen wurde die Baum- und Kronenlänge erfasst, sowie von allen lebenden Ästen eines Baumes der Astdurchmesser und die Astposition am Stamm (Stammhöhe). Die Astdurchmesser wurden parallel zur Stammlängsachse 1 cm von der Astbasis entfernt mit einer digitalen Schieblehre ermittelt. Anschließend wurden aus jedem Kronendrittel der Bäume drei Probeäste ausgesucht und deren Blattmasse komplett geerntet. Abschließend wurden die Stämme der Versuchsbäume in 0,50 m lange Abschnitte zerteilt und noch am Tag der Ernte bzw. am nächsten Morgen computertomographisch untersucht.

### 3.3 Abschätzung der Blattfläche der Versuchsbäume

Für die Abschätzung der Blattfläche (Kronenoberfläche) der Versuchsbäume wurde bei jedem Baum an jeweils drei Probeästen pro Kronendrittel die gesamte Blatttrockenmasse durch Ernte und Trocknen der Blätter bestimmt. Anhand der gemessenen Astdurchmesser der Probeäste konnte für jeden Baum eine lineare Korrelation zwischen Astquerschnittsfläche (AQF) und Blatttrockenmasse hergeleitet werden, welche über die individuelle Belaubungsdichte der Versuchsbäume Aufschluss gab. Im Anschluss wurde über diese Korrelation die Blattmasse der restlichen Äste jedes Baumes berechnet. Durch Addition der errechneten Astblattmassen konnte dann die Blattmasse der einzelnen Kronendrittel und der gesamten Krone errechnet werden.

Darüber hinaus wurden pro Baum an jedem der neun Probeäste 30 Blätter separat entnommen und deren spezifische Blattfläche (SLA in  $\text{cm}^2 \text{g}^{-1} \text{TS}$ ) bestimmt. Dazu wurde die Blattfläche im frischen Blatzustand eingescannt und anschließend das Gewicht der Blätter nach 48-stündigem Trocknen bei  $60^\circ\text{C}$  durch Wiegen bestimmt. Die Fläche der eingescannten Blätter wurde abschließend mit einem Bildauswertungsprogramm (ImageJ 1.32b) errechnet. Für jedes Kronendrittel wurde anhand dieser Proben die mittlere spezifische Blattfläche berechnet und zur Herleitung der Blattfläche mit der Gesamtblattmasse des jeweiligen Kronendrittels multipliziert. Das Vorgehen zur Abschätzung der Blattfläche der Versuchsbäume ist zur Verdeutlichung in Abbildung 3-5 schematisch dargestellt.

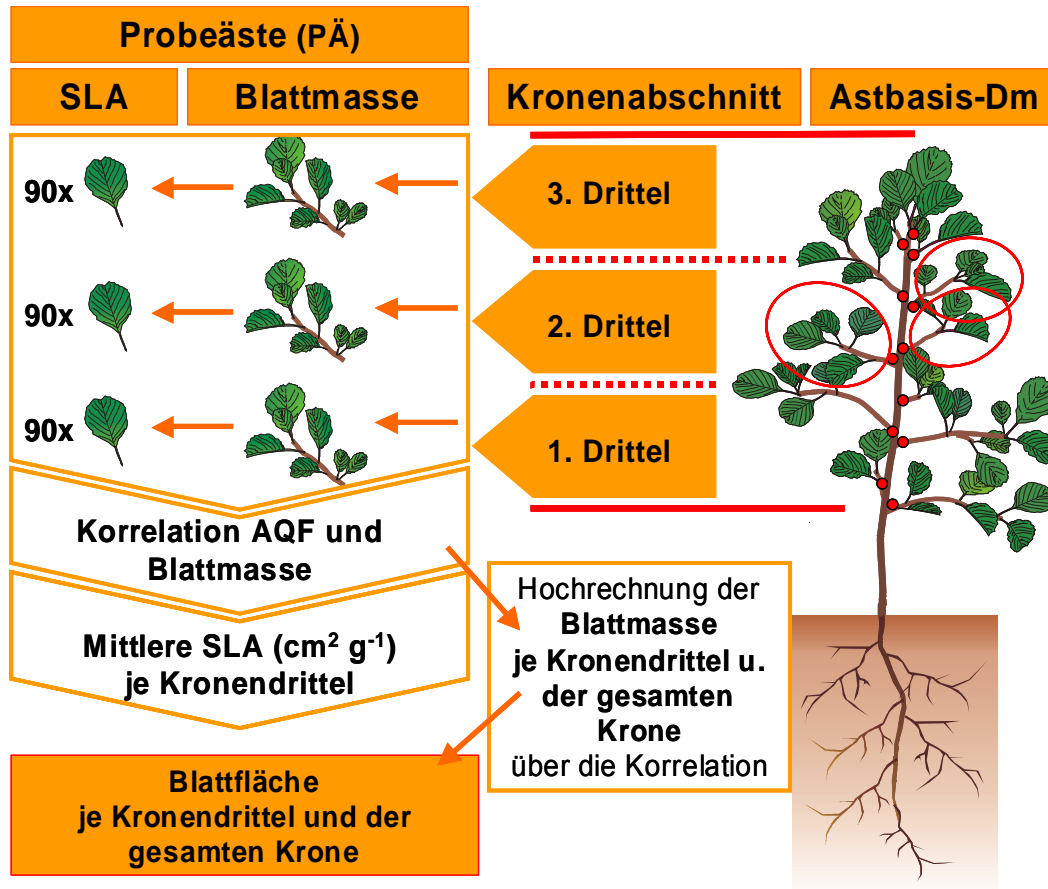


Abbildung 3-5: Schematische Darstellung der Blattmassen- und Blattflächenermittlung an den Versuchsbäumen im Freiland. AQF = Astquerschnittsfläche

### 3.4 Computertomographische Untersuchungen an Stammabschnitten

Computertomographische Analysen an frisch gefällten Stammabschnitten der Versuchsbäume im September 2005 sollten einerseits Aufschluss über die Wassersättigung und -verteilung im Stamm der Bäume erbringen, andererseits dienten sie dazu, die leitendene Querschnittsfläche in Höhe der Xylemflusssensoren (1,0 m Stammhöhe) zu bestimmen. Gleichzeitig sollten dadurch mögliche Beeinträchtigungen des wasserleitenden Querschnitts der Bäume in unterschiedlichen Stammhöhen visualisiert werden. Schließlich wurden die Aufnahmen auch dazu genutzt, die Lage der Xylemflusssonden im Holzkörper zu überprüfen.

Hierfür wurden computertomographische Querschnittsaufnahmen an Stammabschnitten aus dem unteren Stammbereich in Höhe der Xylemflusssensoren (0,5 bis 1,5 m Stammhöhe), sowie an Abschnitten aus dem Kronenansatzbereich und der Kronenmitte der Versuchsbäume angefertigt (Abbildung 3-6). Die CT-Aufnahmen wurden mit einem stationären Computertomographen (Somatom AR.HP, Fa. Siemens, München) am Lehrstuhl für Waldwachstumskunde der TU München (Prof. Dr. H. Pretzsch) durch Dr. T. Seifert angefertigt. Die CT-Aufnahmen wurden bei einer Betriebsspannung von 130 KV und einer Strahlungsintensität von  $2,0/200 \text{ s mA}^{-1}$  erstellt. Die Strahlenbreite („slice thickness“) betrug während der Aufnahmen 1 mm, der Vortrieb an Abschnitten aus dem Stammfußbereich 5 mm, bei Abschnitten aus dem Kronenbereich 10 mm. Je Stammabschnitt (von 0,5 m Länge) aus dem Stammfußbereich wurden 40 CT-Aufnahmen erstellt, an den Abschnitten aus der Baumkrone jeweils 30 Aufnahmen (Abbildung 3-6). Die unteren und oberen 10 cm der Abschnitte wurden nicht gescannt, da zu vermuten war, dass diese bereits über die Verdunstung an den außenliegenden Schnittflächen Wasser verloren hatten.

Zur Bestimmung der beeinträchtigten und intakten Querschnittsflächen im CT-Bild wurden diese mit einer Visualisierungs- und Bildbearbeitungssoftware (Amira 3.0, Mercury Computersystems) in ein TIFF-Format umgewandelt und anschließend im Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop 6.0 die Pixelanzahl der gesuchten Flächen bestimmt. Über die Pixelgröße (voxelsize) im CT-Bild konnte die ursprüngliche Fläche der Stammquerschnitte errechnet werden.

Detaillierte Angaben zu den Grundlagen der Computertomographie und zur CT-Aufnahmetechnik an frischem und getrocknetem Holz verschiedener Baumarten finden sich bei Fromm (2001).

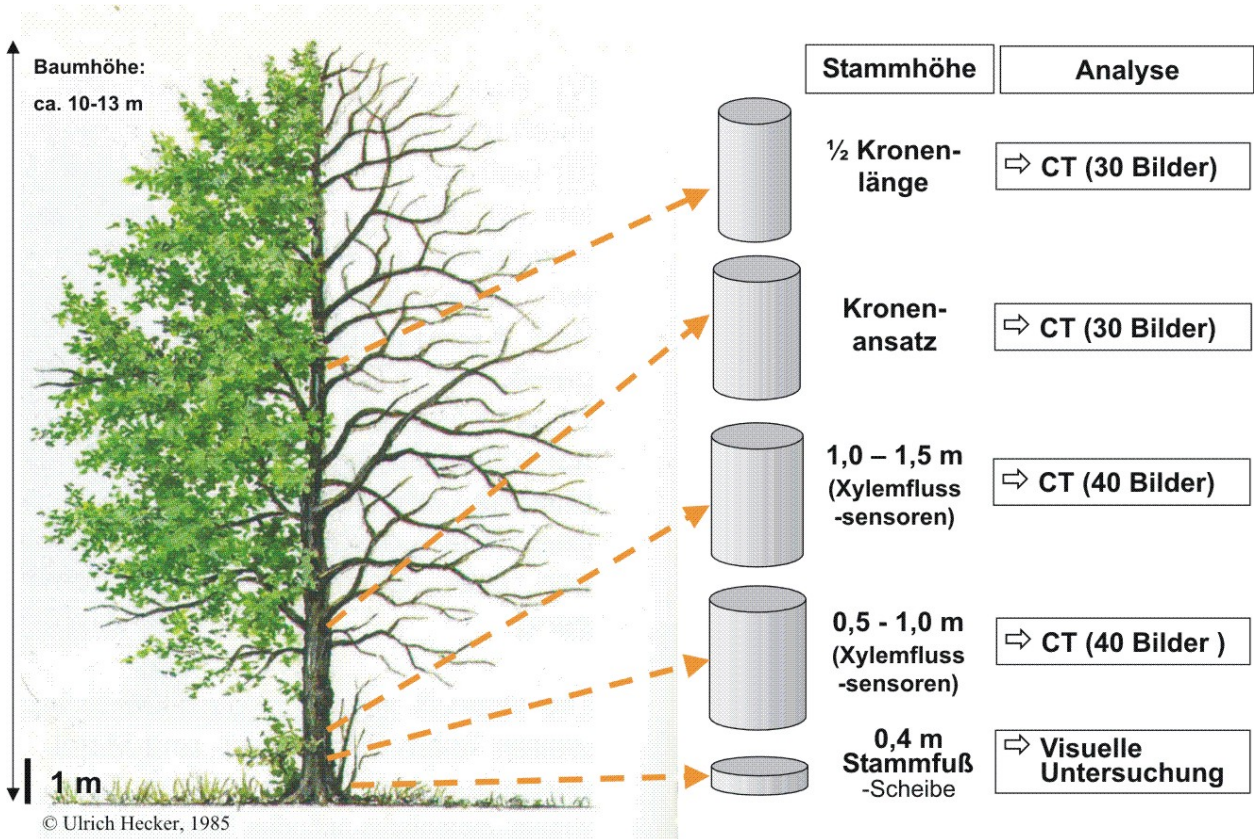


Abbildung 3-6: Schematische Darstellung der durchgeführten CT-Analysen an frischen gefällten Stammabschnitten der Versuchsbäume. Die Abbildung der Erlen-Baumsilhouette wurde aus Hecker (1985) entnommen.

### 3.5 Visuelle Bestimmung der Rinden- und Xylemzerstörung am Stammfuß

Der Anteil nekrotischen Rindengewebes und der von Holzfäulen betroffene Teil des Xylems wurde gravimetrisch (Pergamentpapier-Methode) an Stammfußscheiben (ca. 0,40 Stammhöhe) nach Fällung der Versuchsbäume ermittelt (Abbildung 3-6). Dazu wurden visuell nekrotische und intakte Partien des Rindengewebes an den Stammscheiben markiert und auf Pergamentpapier ( $90 \text{ g m}^{-2}$ ) abgezeichnet. Anschließend wurden die auf Pergament übertragenen Flächen ausgeschnitten und das Gewicht des Papiers auf einer Laborwaage (Sartorius AG, Göttingen) in Milligramm bestimmt. Anhand der ermittelten Gewichte konnten die Fläche und der Anteil des nekrotischen bzw. des intakten Rindengewebes am Stammfuß errechnet werden. In Analogie dazu wurden die Fläche und der Anteil des von Holzfäulen befallenen und des visuell intakten Xylems am Stammfuß der Versuchsbäume bestimmt.



## **3.6 Kohlenhydratanalytik**

### **3.6.1 Probennahme und -lagerung**

#### **3.6.1.1 Freiland**

Im Freiland wurden an symptomtragenden und symptomlosen Bäumen über die Vegetationsperiode 2003 hinweg Blattproben für spätere Kohlenhydratanalysen gesammelt. Die Blattproben wurden am selben Ast, an dem auch die Gaswechsellmessungen durchgeführt wurden, entnommen. Von allen acht Versuchsbäumen wurden einmal im Monat (Juni bis September) zur Mittagszeit (zwischen 12 und 13 Uhr MEZ) fünf Blätter gewonnen, separat in Alutüten verpackt und in flüssigem Stickstoff (-196°C) schockgefroren. Anschließend wurden die Blattproben bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C im Labor gelagert und später einzeln analysiert. Anhand der Einzelblattwerte wurde der Mittlere Blattspiegelwert an Kohlenhydraten (Glucose, Fructose, Xylose, Saccharose und Stärke) der einzelnen Versuchsbäume errechnet. Darüber hinaus wurden eventuelle Unterschiede zwischen den beiden Baumkollektiven hinsichtlich der diurnalen Rhythmik der Assimilatgehalte der Blätter anhand eines Tagesganges am 20. August 2003 untersucht. Dazu wurden an diesem Tag Blattproben um 6, 12, 18 und 24 Uhr von jedem Baum entnommen. Zu jedem Entnahmezeitpunkt wurden je Baum fünf Blätter entnommen, einzeln analysiert und anhand der Werte der mittlere Kohlenhydratgehalt der Blätter eines Baumes (Blattspiegelwert) kalkuliert. Anhand dieser Einzelbaum-Blattspiegelwerte wurde der mittlere Blattspiegelwert der vier symptomtragenden und vier symptomlosen Bäume berechnet (Blattspiegelwert des Kollektivs).

#### **3.6.1.2 Infektionsversuche**

Für Bestimmungen des Kohlenhydratgehaltes der Blätter stamminkulierter Erlentopfpflanzen wurden Anfang Juni und Mitte August 2004 und 2005 von jedem Baum fünf gesunde Blätter gesammelt und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Proben wurden an Ästen im oberen Kronenbereich der Bäume entnommen, in unmittelbaren Nachbarschaft (oberhalb oder unterhalb) zu den Messästen der Gaswechsellmessungen. Die geernteten Blätter wurden sofort als Mischprobe in Aluminiumtütchen verpackt und in flüssigem Stickstoff (-196°C) schockgefroren. Anschließend wurden die Mischproben bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C im Gefrierschrank gelagert.

### 3.6.2 Probenaufbereitung

Im Labor wurden die Blattproben aus dem Freiland und aus den Infektionsversuchen zunächst 24 Stunden gefriergetrocknet (Gefriertrocknungsanlage Typ Beta 1-8, Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Germany) und anschließend in einer Kugelmühle (Typ MM2, Retsch GmbH, Haan, Germany) für drei Minuten bei 7000 U/min zu Pulver gemahlen. Vor dem Mahlvorgang wurden bei allen Blättern die Mittelrippe und der Blattstiel entfernt, da sich diese Blatteile aufgrund der festen Gewebestruktur schlecht homogen zerkleinern lassen. Außerdem weisen diese derben Leitgewebe erfahrungsgemäß deutlich geringere Kohlenhydratgehalte als die Assimilationsgewebe der Blattspreite auf, was zu einer erhöhten Inhomogenität des Probematerials führt. An den Blattproben wurde der Zucker- bzw. Stärkegehalt bestimmt, sodass für jeden Baum mittlere Blattspiegelwerte der Kohlenhydrate aus dem oberen Kronenbereich zur Verfügung standen.

### 3.6.3 Bestimmung des Zuckergehaltes der Blätter

Der Zuckergehalt der Blätter wurde an jeweils 20 mg der oben beschriebenen Blattproben bestimmt. Das Erlenblattmaterial erwies sich als stark phenolhaltig. Daher wurden 100 mg Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP, Sigma-Aldrich, Germany) je Probe hinzugegeben, um Verunreinigungen und Schäden an der später zur Analyse verwendeten HPLC-Säule vorzubeugen. Anschließend wurden 1,5 ml Heißwasser (bidestilliertes H<sub>2</sub>O) je Probe zugefügt und alles im Reaktionsgefäß-Schüttler (Capmix, ESPE, Seefeld, Germany) auf höchster Stufe für 10 Sekunden gemischt. Daraufhin wurde das Gemisch bei 80°C im Wasserbad für 30 Minuten inkubiert. Währenddessen wurden die Proben alle 10 Minuten per Hand geschüttelt. Abschließend wurden die Proben bei 12.500 U/min 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand (ca. 700-800µl) abpipettiert und über einen 45 µm Nylon-Spritzenmembranfilter (Rotilabo-Spritzenfilter 13 mm, Fa. Roth, Karlsruhe) gereinigt. Das auf diese Weise erhaltene Extrakt wurde bis zur weiteren Analyse bei -25°C im Gefrierschrank aufbewahrt. 20 µl des Extraktes wurden auf der HPLC, bestehend aus einer Pumpe (Modell L 6200/A, Fa. Hitachi, Germany), einer Aminex-Säule (HPX-87C, Biorad Germany) und einem Refraktionsindexdetektor (RI-Monitor 1755, Biorad, Germany) bei 85°C aufgetrennt. Als Laufmittel diente bidestilliertes und entgastes H<sub>2</sub>O. Der Fluss betrug während der Messungen konstant 0,6 ml min<sup>-1</sup>.

Vor Messung der Proben wurde anhand der Retentionszeiten und Konzentrationsreihen von Glucose-, Fructose-, Xylose-, und Saccharose-Standardlösungen (0,2; 0,4 und 0,6 mg L<sup>-1</sup>) die HPLC-Säule kalibriert. Zur Kontrolle der Extraktion und der Messergebnisse wurden als interne Standards Mischproben aus Buchenblattmaterial (Blumenröther et al. 2007) zusätzlich mitextrahiert und analysiert.

### 3.6.4 Bestimmung des Stärkegehaltes der Blätter

Der Stärkegehalt der Blätter wurde ebenfalls an jeweils 20 mg der oben beschriebenen Mischprobe (Blattmaterial) je Baum bestimmt. Dies geschah durch enzymatischen Aufschluss der Stärke in Glukose. Dafür wurden zunächst schrittweise mittels Heißwasserextraktion (60°C) die löslichen Zucker aus dem Blattgewebe extrahiert. Beim ersten Schritt wurden 1,0 ml Wasser (H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub>, 60°C) hinzugegeben. Nach 5 min Zentrifugieren des Extraktes bei 12.500 U/min wurde der flüssige Überstand abpipettiert. Dieser Schritt wurde unter Zugabe von jeweils 0,5 ml bidest. H<sub>2</sub>O zweimal wiederholt. Das im Reaktionsgefäß (2,0 ml) zurückbleibende Pellet wurde drei Stunden im Exikator bei Unterdruck luftgetrocknet und anschließend in 1 ml hitzestabiler Amylase (500U ml<sup>-1</sup>) aufgelöst und für 30 Minuten bei 60°C im Wasserbad inkubiert. Anschließend wurde die Suspension fünf Minuten lang bei 10.000g zentrifugiert und 400 µl des Überstandes mit 300 µl Amyloglykosidase (3 U ml<sup>-1</sup>, Sigma Aldrich, Germany) über Nacht im Wasserbad bei 37°C inkubiert. Nach einem letzten Zentrifugierungsschritt (5 min. bei 10.000g) wurde der Überstand durch einen 45 µm weiten Spritzenmembranfilter (Rotilabo-Spritzenfilter 13 mm, Fa. Roth, Karlsruhe) gereinigt und bis zur weiteren Analyse bei -25°C im Gefrierschrank gelagert. Der Glukosegehalt von 20 µl des gereinigten Überstandes wurde mittels HPLC (high performance liquid chromatography) gemessen. Dies geschah auf einer Aminex-Säule (HPX-87N, Biorad, Germany) bei 60°C in Kombination mit einem Refraktionsindexdetektor (RI-Monitor 1755, Biorad Germany). Als Laufmittel diente eine 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung.

Vor Messung der Proben wurde anhand der Retentionszeiten und einer Konzentrationsreihe von Glucose-Standardlösungen (0,2; 0,4 und 0,6 mg L<sup>-1</sup>) die HPLC-Säule kalibriert. Zur Kontrolle der Extraktion und der Messergebnisse wurden als interne Standards Mischproben aus Buchenblattmaterial (Blumenröther et al. 2007) zusätzlich mitextrahiert und analysiert.

### **3.7 Mikro- und Makroelementanalyse an Blättern**

In Analogie zur Blattprobennahme für Kohlenhydratanalysen wurden Blätter für Nährelementanalysen im Freiland an den Versuchsbäumen und während der Infektionsversuche an stamminokulierten Topfpflanzen entnommen und aufbereitet. Im Freiland wurden Ende Juli 2003 für diesen Zweck Blattproben gewonnen. Dies geschah während der Infektionsversuche jeweils im Juni und August der Vegetationsperioden 2004 (vgl. Tabelle 3-1 und Tabelle 3-2). Die Mikro- und Makroelementanalysen wurden an jeweils 80 mg Trockensubstanz des Blatt-Probenmaterials durchgeführt. Das pulverisierte Blattmaterial wurde zur Elementaranalyse im zehnstündigen Druckaufschluß mit 65%iger Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) bei  $170^\circ\text{C}$  hydrolysiert. Die Konzentration der Elemente Calcium, Kalium, Magnesium, Aluminium, Eisen, Mangan, Natrium, Phosphor, Schwefel, Zink, Kupfer und Bor wurde anschließend durch induktiv gekoppelte Plasma-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES, Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry) bestimmt. Dazu wurde ein Atomemissions-Spektrometer (ICP-OES) des Typs Optima 300 der Firma Perkin-Elmer (Rodgau-Jügesheim, Germany) verwendet. Der Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt der Proben wurde mit Hilfe eines C/N-Elementaranalysators ermittelt (Typ CN-1000, Fa. Leco, Mönchengladbach, Germany). Alle Elementanalysen erfolgten im Labor des Fachbereichs Waldernährung und Wasserhaushalt der TU München (Prof. Dr. Dr. Axel Göttlein).

### **3.8 Erhebung des Zuwachses an Versuchsbäumen**

Zur Bestimmung des Durchmesserzuwachses der Versuchsbäume im Freiland wurde der Stammdurchmesser in Brusthöhe mit Rinde (BHD=1,3 m Höhe) zu Beginn der Versuche im Juli 2003 und zum Zeitpunkt der Baumernte im September 2005 mit einer Kluppe (Genauigkeit ca. 1 mm) in Nord-Süd- und Ost-West-Richtung gemessen und der Mittelwert beider Durchmesser berechnet. Bei den Erlentopfpflanzen der Stamminfektionsversuche wurde nach demselben Verfahren der Stammdurchmesser am Wurzelhals und in Inokulationshöhe zu Beginn (März) und am Ende (Oktober) der Vegetationsperiode 2004 und 2005 erhoben. Darüber hinaus wurde an den genannten Zeitpunkten bei den Topfpflanzen die Sprosslänge mit einem Zollstock erhoben. Anhand dieser Messungen wurde durch Differenzbildung der jährliche Sprosslängen- und Durchmesserzuwachs der Topfpflanzen und der Dickenzuwachs in Brusthöhe der Versuchsbäume im Freiland berechnet. Flächenzuwächse der Stammbasisfläche wurden bei Erlentopfpflanzen anhand der Durchmessererhebungen berechnet.

### 3.9 Phytopathologische Arbeiten

#### 3.9.1 Isolierung des Pathogens aus dem Freiland

Um ein möglichst frisches Isolat der aggressiven Form der Erlenphytophthora *Phytophthora alni* subsp. *alni* (Brasier et al. 2004) für die Inokulationsversuche im Frühjahr 2004 zu gewinnen, wurde das Pathogen Ende Oktober und Anfang November 2003 aus infizierten Erlen isoliert. Dazu wurden Erlenbestände entlang der Flüsse Glonn und Amper aufgesucht. Somit wurden Bestände im Einzugsbereich des Flusssystemes an dem sich auch der Freilandstandort befand zur Isolierung herangezogen. Die eigentlichen Versuchsbäume wurden nicht beprobt, um keine weitere Verwundung am Stamm zu setzen. Zur Isolierung wurden Rindenstücke (inkl. Bastgewebe) an der Spitze frischer Rindenläsionen mit Schleimfluss entnommen. Die gewonnenen Gewebestücke wurden zunächst 2-3 Tage lang mit Leitungswasser gewaschen, um einen möglichst großen Teil der Rindenphenole auszuspülen und anschließend auf PARPNH-Selektivmedium (s. Kap. 2.3.2) ausgelegt (Tsao & Guy 1977; Brasier et al. 1999; Jung et al. 2000; Jung et al. 2004). Auswachsende *Phytophthora*-artige Hyphen (unseptiert und stark verzweigt bis korralloid wachsend) wurden auf CA-Medium (9 cm Petrischalen) überimpft.

Auf diese Weise wurden insgesamt fünf unterschiedliche *Phytophthora alni* Isolate in Reinkultur gewonnen (s. Kap. 4.2.1.1). Diese wurden anschließend für 14 Tage bei ca. 19°C in Dunkelheit kultiviert. Daraufhin wurden diese Isolate anhand morphologischer, physiologischer und genetischer Merkmale charakterisiert, um sie eindeutig einer der drei Subspezies von *Phytophthora alni* zuordnen zu können.

#### 3.9.2 Charakterisierung von *Phytophthora alni* Isolaten

##### 3.9.2.1 Kulturwachstumsversuche

Kulturwachstumsversuche der im Freiland gewonnenen Isolate wurden in Kunststoff-Petrischalen (Ø 90 mm, Fa. Greiner bio-one, Austria) auf 20 ml Karottenagar bei 19, 25, 27, 30 und 32°C in Dunkelheit durchgeführt. Dazu wurden temperaturregelbare Wärme- bzw. Brutschränke benutzt (Typ BKE 60, Fa. Memmert, Schwabach, Germany). Je Temperatur und Isolat wurde das Wachstum an fünf Kulturen ermittelt. Zunächst wurden, von sieben Tage alten Kulturen (bei 19°C im Dunkeln inkubiert) der Isolate, mit dem sterilisierten Korkbohrer vom äußeren Kulturrand, myzelbewachsene Agarplugs mit 4 mm Durchmesser gestochen. Je Petrischale wurde ein Agarplug in

der Mitte des Nährsubstrates (CA) positioniert. Jede Schale wurde mit einem Deckel verschlossen und an den Verschlussseiten mit Parafilm versiegelt, um der Austrocknung des Nährmediums vorzubeugen. Alle auf diese Weise beimpften Petrischalen wurden zunächst 48 Stunden bei 19°C und Dunkelheit inkubiert um ein Anwachsen der übertragen Myzelkulturen auf dem neuen Nährsubstrat zu gewährleisten. Im Anschluss wurden die äußere Grenze der Myzelkolonien auf der Unterseite der Petrischalen mit wasserfestem Folienstift an vier Punkten markiert, sodass jede Markierung vom Zentrum der Kultur betrachtet jeweils im Winkel von 90° angeordnet war. Danach wurden die Isolate für 72 Stunden den zu testenden Temperaturen ausgesetzt. Abschließend wurde der radiale Kulturzuwachs über diese Zeitspanne nochmals wie bereits zuvor markiert und anhand der vier Messwerte der mittleren Tageszuwachsrate der einzelnen Kulturen berechnet. Anhand der Tageszuwachsrate von fünf Kulturen je Isolat und Lufttemperatur wurde der mittlere Tageszuwachs der einzelnen Isolate für jede Temperaturstufe kalkuliert.

### **3.9.2.2 Mikroskopische Charakterisierung von Isolaten**

Die Gametangienmorphologie der im Freiland gesammelten *Phytophthora alni* Isolate wurde an 10 Tage alten bei 19°C in Dunkelheit inkubierten Kulturen im Lichtmikroskop (Typ Leitz Aristoplan, Fa. Leica, Wetzlar) begutachtet. Analoge fotografische Aufnahmen der Gametangien wurden mit Hilfe des Kamerasystems Leitz Orthomat E auf Dia-Kleinbildfilm (Kodak, Ektachrome 64 T, 24x36 mm) bei ~580-facher lichtmikroskopischer Vergrößerung erstellt. Die Bilder wurden nach Entwicklung mit einem Diascanner digitalisiert.

### **3.9.3 Molekularbiologische Charakterisierung mittels PCR-RFLP**

#### **DNA-Extraktion**

Für die molekularbiologische Charakterisierung der aus dem Freiland gewonnenen Isolate wurden vom äußeren Rand von Myzelkulturen mit dem sterilisierten Korkbohrer (4 mm Durchmesser) myzelbewachsene Agarplugs gestochen. Das Myzel war zuvor sieben Tage bei 20°C im Dunkeln in 9 mm Petrischalen auf Karotten-Agar kultiviert worden. Je Isolat wurden 2 bis 3 Agarplugs (ca. 30-40mg) in ein Reaktionsgefäß (2 ml Eppendorf-Caps) überführt und mit einem desinfizierten Plastikstößel zerkleinert. Daraufhin wurde mittels Plant DNeasy Minikit (Qiagen, Hilden, Germany)

aus dem frischen Myzel aller Isolate die gesamte DNA extrahiert. Die DNA-Proben wurden abschließend mit Hilfe des Wizard DNA Clean Up Systems (Promega) aufgereinigt.

### **PCR-RFLP Methode**

Anschließend wurde aus der extrahierten DNA in Anlehnung an Brasier et al. (1999) durch PCR mit den spezifischen Primern ITS 4 und ITS 6 (Bonants et al. 1997 und Cook 2000) ein ca. 940 Basenpaare umfassender Sequenz der ribosomalen DNA (rDNA) amplifiziert. Die amplifizierten Polynukleotide umfassten die ITS1-, 5.8S-Gen- und ITS2-Region der rDNA und wurden in einem weiteren Arbeitsschritt jeweils mit den Restriktionsenzymen Acil, AluI, EcoO109I, MspI und TaqI 24 Stunden verdaut. Abschließend wurden die Verdautprodukte (kurze Polynukleotide) durch Elektrophorese (bei 80 V und 400 mA) auf 2,5%igen NuSieve Agarosegelen aufgetrennt. Anhand von Dimorphismen im amplifizierten Bereich der rDNA sollten sich charakteristische Bandenmuster für die unterschiedlichen Subspezies von *Phytophthora alni* im Agarosegel zeigen.

### **3.9.4 Infektionsversuche in einer Vegetationshalle**

In der Vegetationsperiode 2004 wurde an dreijährigen Erlentopfpflanzen Stamm-Infektionsversuche unter klimatischen Freilandbedingungen in einer Vegetationshalle durchgeführt. Das dafür verwendete Pflanzenmaterial (Sonderherkunft Landsberg am Lech/ 80208 Alpenvorland) wurde im Gewächshaus aus Samen gezogen (siehe Kap. 2.2.1). Für alle durchgeführten Infektionsversuche wurde ein im Herbst 2003 am Freilandstandort gewonnenes Isolat der aggressiven Subspezies der Erlenphytophthora (*Phytophthora alni* subsp. *alni*) eingesetzt. Die Infektionsversuche sollten zeigen, ob die im Freiland gefundenen Ergebnisse in Infektionsversuchen nachvollziehbar sind. Dazu wurde an unterschiedlichen Pflanzen ein Stamminfektionsversuch durchgeführt. Desweiteren war zu untersuchen, ob sich bei Infektionsversuchen an lebenden Erlen, die von Brasier und Kirk (2001) an frisch gefällten Stammabschnitten gemachte Beobachtung bestätigen lässt, dass die Erlenphytophthora saisonal unterschiedliche Aggressivität an lebendem Bastgewebe zeigt. Die in 2004 durchgeführten Infektionsversuche sind hinsichtlich des infizierten Pflanzenteils und der Art der Infektion in Tabelle 3-3 angegeben.

Das Pathogen wurde im Zuge der Infektionsversuche an stamminokulierten Erlen aus Rindenläsionen im August 2004 reisoliert. Bei der Überwinterung der in 2004 stamminokulierten Erlen unter natürlichen Bedingungen im Freien starb das Pathogen vermutlich während einer mehrwöchigen Frostperiode im Februar und März 2005 mit Temperaturen bis zu  $-25^{\circ}\text{C}$  ab.

In der Vegetationsperiode 2005 kam es infolge dessen bei den drei überlebenden Bäumen der Infektionsversuche des Vorjahres zu keiner weiteren Läsionsentwicklung am Stamm.

Variante	Infektionsort	Art und Zeitpunkt der Infektion	Platzierung des Inokulums	Anzahl der Pflanzen
<b>1x <i>P. alni</i></b>	<b>Stamm</b> (einfache Infektion)	Inokulation durch myzelbewachsene Agarplugs (7. April 2004)	Ein Agarplug im Bastgewebe an der Stammbasis (N-Seite des Sprosses)	6x mit <i>P. alni</i> subsp. <i>alni</i> 6x Kontrolle
<b>2x <i>P. alni</i></b>	<b>Stamm</b> (zweifache Infektion)	Inokulation durch myzelbewachsene Agarplugs (8. April 2004)	Zwei Agarplugs im Bastgewebe an der Stammbasis (N- u. S- Seite des Sprosses, gegenüberliegend)	6x mit <i>P. alni</i> subsp. <i>alni</i> 6x Kontrolle

Tabelle 3-3: In der Vegetationsperiode 2004 an 3-jährigen Erlen durchgeführte Infektionsversuche

### 3.9.4.1 Inokulationstechnik

Die Stamminfektionsversuche wurden durch einfache und doppelte Stamminokulation durchgeführt (zwei Varianten, 1x bzw. 2x *Phytophthora alni* subsp. *alni*). Dieses Vorgehen sollte zwei verschiedene Schweregrade der Infektion simulieren, da Mehrfachinfektionen an einem Stamm unter natürlichen Gegebenheiten durchaus keine Seltenheit darstellen. Dieser Versuchsaufbau ermöglichte es, die Auswirkung unterschiedlicher Schweregrade der Erkrankung auf wichtige physiologische Reaktionen hin zu untersuchen. Die Stamminfektion wurde mit Hilfe der Agarplug-Methode gesetzt (Balci 2004). Dazu wurde mit einem Korkbohrer in ca. 5 bis 6 cm Abstand vom Wurzelhals ein kleines Loch (Durchmesser 4 mm) in den Bast gestanzt. In dieses wurde ein gleich großes, mit Mycel bewachsenes Agarstück eingesetzt. Die Infektionsstelle wurde mit einer feuchten Kompresse bedeckt. Zur Fixierung und um Austrocknung vorzubeugen wurde die Kompresse mit Mullstoff und einer Lage Cellophan umwickelt. Zum Abschluss wurde der untere Stammteil mit einer



Manschette aus Alufolie versehen, der das Aufheizen des Bastes durch Sonneneinstrahlung verhindern sollte. Bei den Kontrollpflanzen wurden hingegen sterile Agarstücke implantiert.

#### **3.9.4.2 Bestimmung der Temperatur auf der Rindenoberfläche**

Im Rahmen der Infektionsversuche wurde jeweils ein Temperatursensor (Thermistoren des Typs Thermor 1 NTC, UMS GmbH München, Germany) an zwei *Phytophthora alni* subsp. *alni* inokulierten Erlenstämmchen in Inokulationshöhe auf der Rinde installiert (je einen Baum pro Inokulationsvariante). Die Online-Aufzeichnung mit einem Datenlogger (Delta-T Devices Logger, Cambridge, England) der Rindenoberflächentemperatur sollte darüber Aufschluss geben, inwiefern das Pathogenwachstum mit Temperaturschwankungen während der Vegetationszeit korreliert.

#### **3.9.4.3 Bestimmung des Pathogenwachstums**

Als Maß für das Pathogenwachstum wurde die vertikale und stammumfassende Läsionsentwicklung genutzt, also das auf der Stammoberfläche sichtbare Ausmaß der Zerstörung des Rindengewebes durch das Pathogen. Während der Infektionsversuche in der Vegetationsperiode 2004 und 2005 wurde die maximale vertikale Länge der Rindenläsionen beginnend an der Inokulationsstelle (ca. 8 cm über dem Wurzelhals) stammaufwärts auf der Stammoberfläche an jeder inokulierten Pflanze mit einem Maßband erhoben. Die Messung wurde alle ein bis zwei Wochen wiederholt.

Die stammumfassende Ausdehnung der Rindenläsionen wurde als maximaler zerstörter Anteil des Stammumfangs erhoben (Gürtelung durch das Pathogen). Dazu wurden am Stamm in Höhe der maximalen stammumfassenden Ausdehnung der Rindenläsion der Stammumfang und der nekrotische Anteil dessen mit einem Maßband gemessen. Der Umfang des nekrotischen Gewebes wurde anschließend prozentual ins Verhältnis zum Stammumfang gesetzt (= % Gürtelung). Dieses Maß sollte vorrangig dazu dienen, die Beeinträchtigung des Wirtes durch die Infektion zu dokumentieren. Die Erhebung der stammumfassenden Läsionsentwicklung erfolgte im gleichen Intervall wie die vertikalen Messungen (s.o.).

### 3.10 Statistische Auswertung

Zur Auswertung bzw. graphischen Darstellung von Messreihen mit mehreren Parallelen wurden übliche Verfahren der deskriptiven Statistik [Arithmetisches Mittel, Standardabweichung (SD) und Standardfehler des Mittelwertes (SE)] verwendet. Das arithmetische Mittel (Durchschnitt) gibt den Mittelwert eines n-großen Datensatzes wieder. Neben dem Mittelwert ist ein zweiter Parameter notwendig, um einen Datensatz ausreichend beschreiben zu können. Dafür wurde bei gleichem Stichprobenumfang (n) die Standardabweichung als Streuungsmaß verwendet. Bei bedeutenden Unterschieden im Stichprobenumfang (n) zweier zu vergleichender Datensätze wurde der Standardfehler des Mittelwertes als Streuungsmaß verwendet, da dieser die Anzahl der Stichproben berücksichtigt.

Die Signifikanz der Unterschiede von verschiedenen zu vergleichenden Datensätzen wurde mittels eines *Student'schen* t-Tests bzw. bei unterschiedlicher Varianz der Datensätze mit dem *Welch*-Test (auch als heteroskedatischer t-Test genannt) geprüft. Dabei wurde grundsätzlich davon ausgegangen, dass die Datensätze normal verteilt sind, welches Grundvoraussetzung für die beiden o.g. Tests ist. Vor dem Mittelwert-Vergleich wurde die Varianz ( $s^2$ ) der zu vergleichenden Datensätze berechnet und ein Varianzquotienten-Test durchgeführt (Lorenz 1996), um zu prüfen ob die Datensätze die gleiche Streuung (Standardabweichung) aufweisen. Bei signifikanten Unterschieden der Streuung im Varianzquotienten-Test (bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %) wurden die Mittelwerte durch den *Welch*-Test verglichen, welcher Unterschiede in der Streuung von Datensätzen zulässt.

Als Ergebnis der Mittelwertvergleiche (*Student'schen* t-Test, *Welch*-Test) erhält man einen p-Wert, welcher die Irrtumswahrscheinlichkeit der Hypothese angibt, dass die jeweils verglichenen Gruppen keiner gemeinsamen Grundgesamtheit angehören. Nach Sachs (1995) wird die Signifikanz wie folgt bewertet:

- $p > 0,05$  = nicht signifikant
- $0,05 > p > 0,01$  = signifikant
- $0,05 > p > 0,01$  = hoch signifikant
- $p > 0,001$  = höchst signifikant

Im Folgenden werden die Signifikanzen beider Tests (*Student'schen* t-Test, *Welch*-Test) immer unter dem Begriff t-Test ausgewiesen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Freilandversuche

#### 4.1.1 Messungen des Blattgaswechsels

##### Nettophotosyntheserate

Die im Freiland in der Vegetationsperiode 2003 bei natürlichem Licht und konstanter CO<sub>2</sub>-Konzentration von 360 ppm ( $c_a$ ) in der Messkuvette durchgeführten Blattgaswechselformen zeigten, dass die symptomtragenden Bäume in ihrer photosynthetischen Leistungsfähigkeit eingeschränkt waren. Insbesondere bei mittlerem (400-800  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) und hohem Lichtgenuss ( $>800 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) der Blätter (Juni, Juli/August und September) zeigten die symptomtragenden Bäume im Vergleich zu symptomlosen Bäumen überwiegend geringere Netto-Photosyntheseraten (siehe Abb. 1a, 2a und 3a). Dieser Befund ist besonders deutlich für die Ergebnisse der Messungen der Monate Juli und August (vgl. Abb. 2.a). Bei geringer Strahlungsintensität ( $<400 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) hingegen zeigen sich keine Unterschiede in der Netto-Photosyntheseleistung beider Kollektive.

##### Transpirationrate und Wassernutzungskoeffizient ( $WUE_{Ph}$ )

Über die Vegetationsperiode 2003 hinweg zeigten die Blätter infizierter Bäume bei gleicher Transpirationsrate meist eine geringere Netto-Assimilationsrate (4-1b bis 4-3b). Dies manifestiert sich wiederum besonders im Hochsommer (Juli und August, vgl. Abb. 4-2b). Dementsprechend wiesen die symptomtragenden Bäume während dieser Zeitspanne durchweg einen geringeren Wassernutzungskoeffizienten der Photosynthese auf ( $WUE_{Ph}$ , „water use efficiency“). Das Verhältnis zwischen assimilatorischem Kohlenstoffgewinn und dem damit verbundenen transpiratorischen Wasserverlust über die Spaltöffnungen war bei symptomtragenden Bäumen niedriger (Abb. 4-2d). Im Spätsommer war der Unterschied in der  $WUE_{Ph}$  beider Kollektive weniger ausgeprägt (Abb. 4-3d) und im Frühsommer kaum vorhanden (Abb. 4-1d). Des Weiteren zeigten symptomtragende Bäume im Juni und Juli/August geringere maximale Blatttranspirationsraten bzw. Blattleitfähigkeiten (Abb. 4-1b, c und 4-2b, c).

**Blattleitfähigkeit für Wasserdampf (gH<sub>2</sub>O)**

Im Vergleich mit der stomatären Leitfähigkeit für Wasserdampf erscheint die Carboxylierung durch die Erlenphytophthora-Infektion beeinträchtigt (Abb. 4-1c bis 4-3c). Weiterhin war die maximale stomatäre Leitfähigkeit der symptomführenden Bäume im Früh- und Hochsommer (Abb. 4-1c und 4-2c) deutlich erniedrigt.

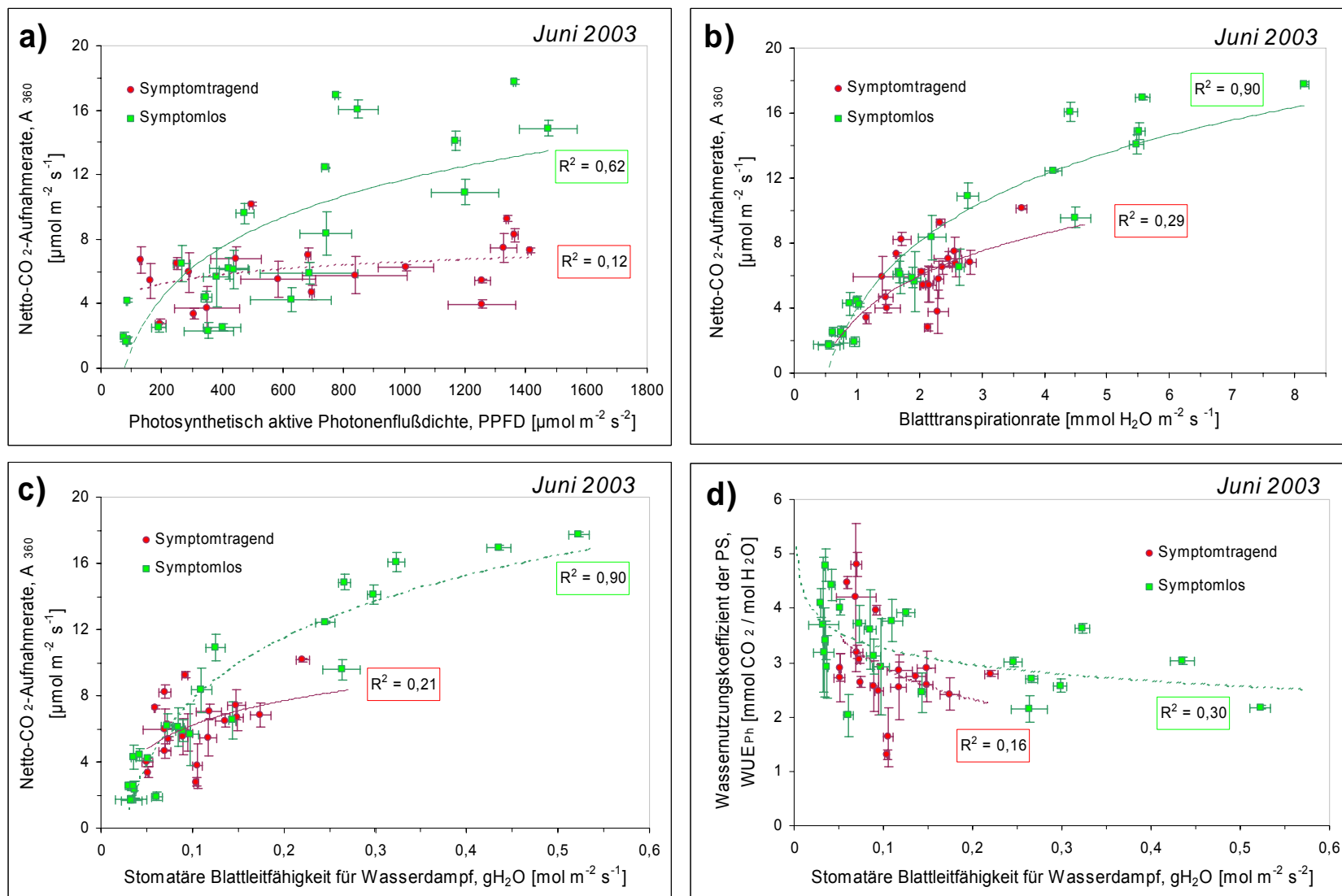
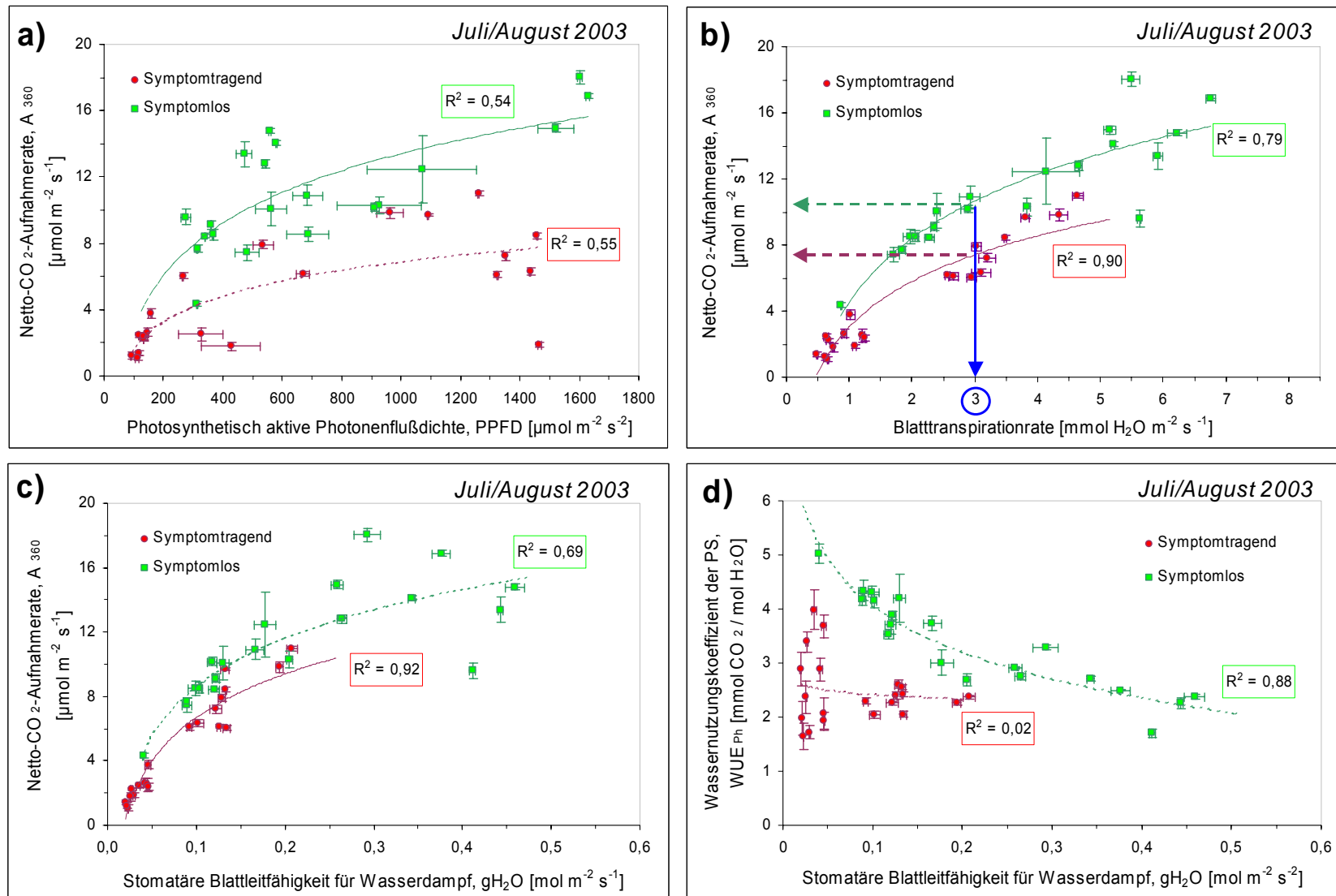


Abbildung 4-1 a-d: Ergebnisse der Freiland-Gaswechselfmessungen im Juni 2003 an Sonnenblättern von 20-jährigen Erlen (Porometer: LI-6400). Je Baum wurden 5 Blätter an einem Messast erfasst. Messung bei natürlicher PAR, konstanter CO<sub>2</sub>-Konzentration (C<sub>a</sub>=360ppm) und konstanter Luftfeuchte (RH%=35-50) in der Kuvette. N=20 Blätter je Kollektiv. Jeder Mittelwert ± SD basiert auf 10 Einzelmessungen je Blatt. Im Falle der PPFD sind Mittelwerte ± SE dargestellt.

Abbildung 4-2 a-d: Ergebnisse der Freiland-Gaswechselfmessungen im Juli/August 2003 an Sonnenblättern von 20jährigen Erlen (Porometer: LI-6400). Je Baum wurden 5 Blätter an einem Messast erfasst. Messung bei natürlicher PAR, konstanter  $\text{CO}_2$ -Konzentration ( $c_a=360$  ppm) und konstanter Luftfeuchte ( $\text{RH}\%=35\text{-}50$ ) in der Kuvette.  $N=20$  Blätter je Kollektiv. Jeder Mittelwert  $\pm$  SD basiert auf 10 Einzelmessungen je Blatt. Im Falle der PPFD sind Mittelwerte  $\pm$  SE dargestellt.



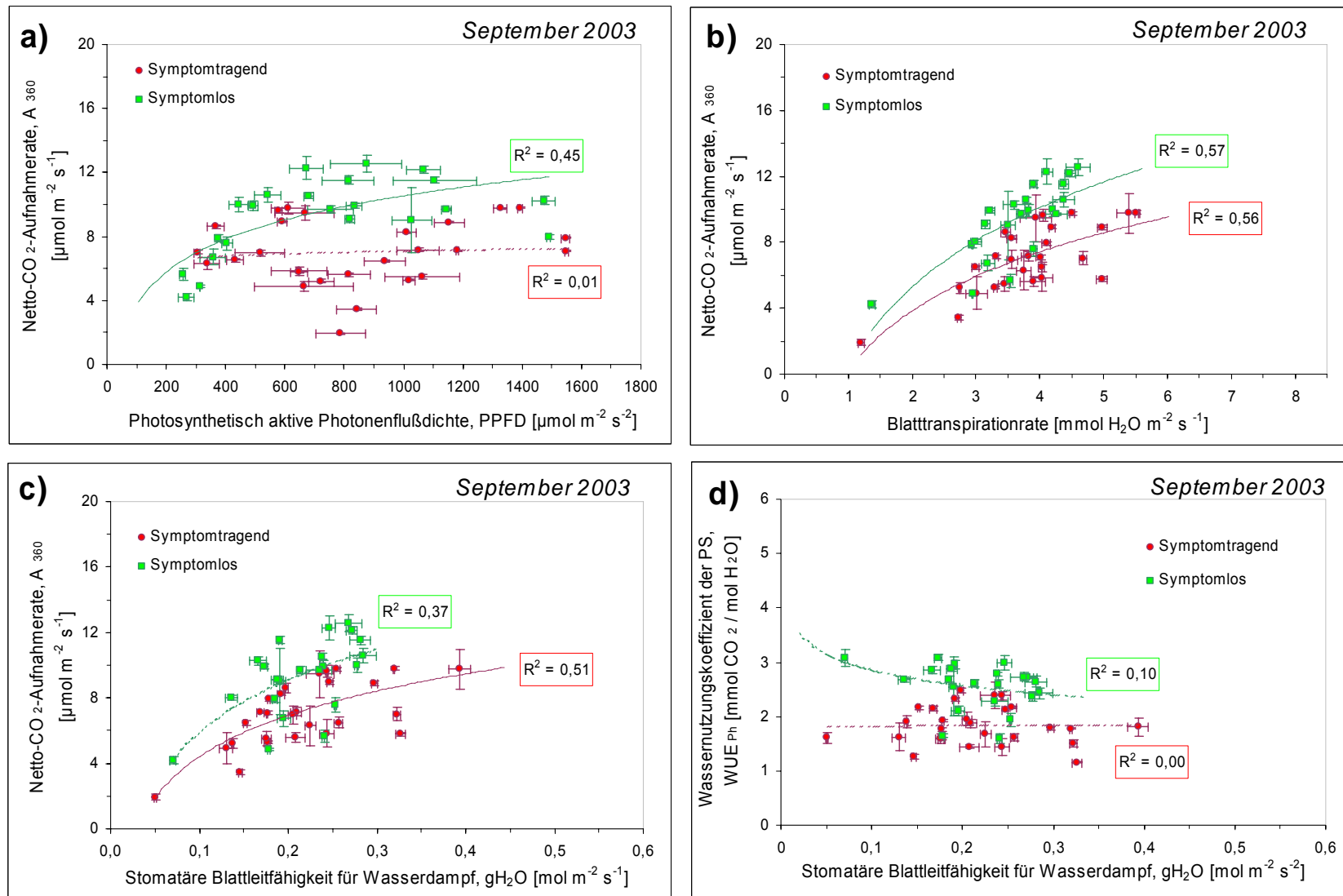


Abbildung 4-3 a-d: Ergebnisse der Freiland-Gaswechselfmessungen im September 2003 an Sonnenblättern von 20jährigen Erlen (Porometer: LI-6400). Je Baum wurden 5 Blätter an einem Messast erfasst. Messung bei natürlicher PAR, konstanter CO<sub>2</sub>-Konzentration (ca=360ppm) und konstanter Luftfeuchte (RH% =35-50) in der Küvette. N=20 Blätter je Kollektiv. Jeder Mittelwert ± SD basiert auf 10 Einzelmessungen je Blatt. Im Falle der PPFD sind Mittelwerte ± SE dargestellt.

### 4.1.2 Ergebnisse der Wasserpotentialmessungen

Die durchgeführten Predawn- und Minimum-Wasserpotentialmessungen ( $\Psi_{\text{predawn}}$  und  $\Psi_{\text{min}}$ ) gaben über die bauminterne Wasserverfügbarkeit in den Sonnenkronen symptomtragender und symptomfreier Bäume Aufschluss. Die Mittelwerte der Zweig-Wasserpotentiale zeigten über die Vegetationsperiode 2003 hinweg teilweise signifikante Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven (Abbildung 4-4), dies vor allem hinsichtlich  $\Psi_{\text{min}}$ . Durchweg lag  $\Psi_{\text{min}}$  der symptomtragenden Bäume über dem der symptomlosen Bäume (statistisch signifikant im t-Test Anfang und Ende August 2003). Diese Ergebnisse widerlegen die Annahme, dass es auf Grund der *Phytophthora*-Infektion zu einer verringerten Wasserverfügbarkeit in der Krone infizierter Erlen kommt. Vielmehr deuten sie in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Blatt-Gaswechselfmessungen auf einen stärkeren Stomataschluss und damit eine geringere Blatttranspiration bei symptomtragenden Bäumen hin.

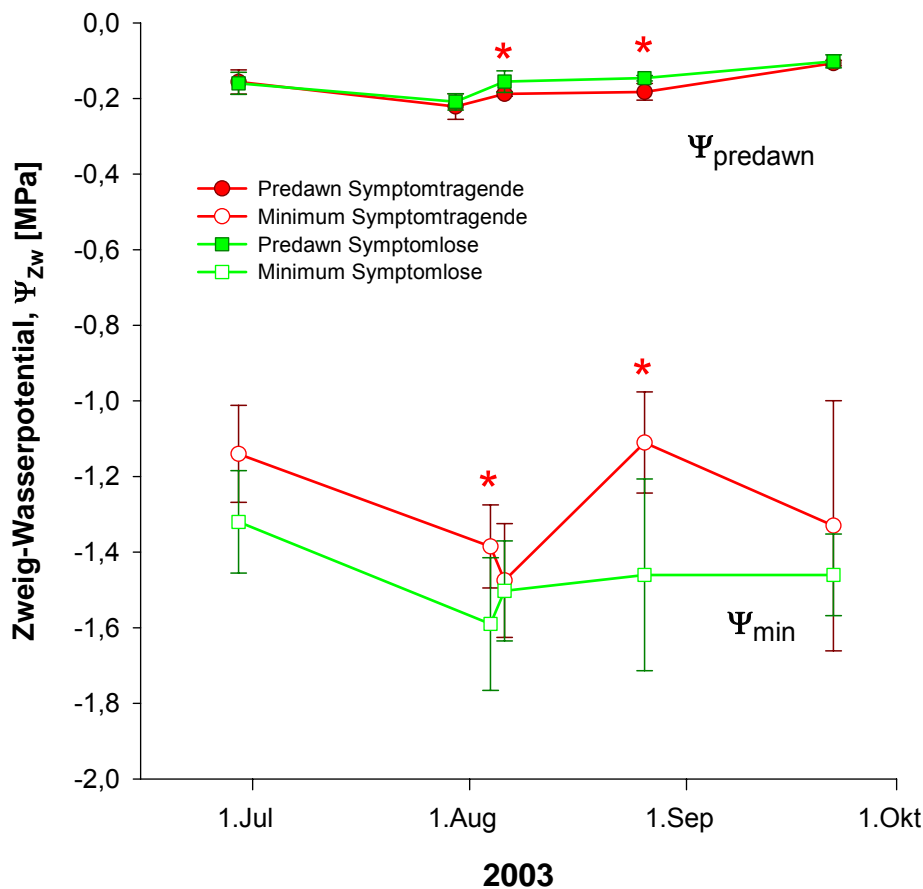


Abbildung 4-4: Verlauf des Zweig-Wasserpotentials der symptomführenden und symptomfreien Erlen in der Vegetationsperiode 2003 (Sonnenkrone). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der beiden Kollektive (jeweils  $N=4$ ). Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ .



Das  $\Psi_{\text{predawn}}$  zeigte hingegen, dass sich alle Bäume nachts bis kurz vor Sonnenaufgang in ähnlichem Ausmaß mit Wasser aufsättigten ( $\Psi_{\text{predawn}}$  -0,1 bis -0,2 MPa). Zwar ergeben sich Anfang und Ende August im Mittelwertvergleich signifikante Unterschiede im  $\Psi_{\text{predawn}}$  ( $p \leq 0,05$ , einseitiger t-Test) zwischen den beiden Kollektiven, jedoch sind diese absolut betrachtet gering.

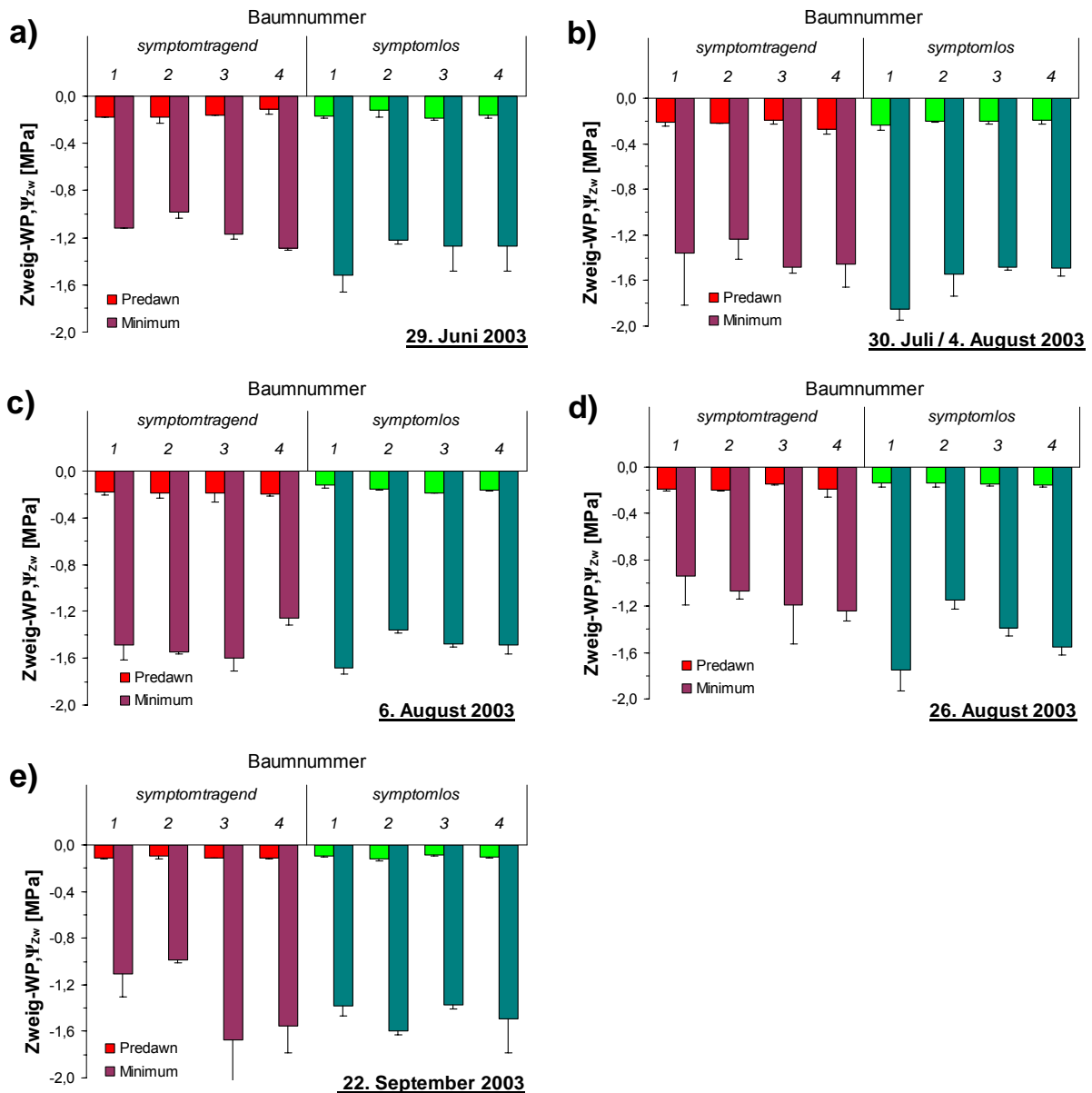


Abbildung 4-5 a-e: Einzelbaumdarstellungen des Predawn- und Minimum-Zweigwasserpotentials zu den einzelnen Messterminen in der Vegetationsperiode 2003. Pro Baum wurde jeweils an 2-3 Kurztrieben aus der Sonnenkrone das Wasserpotential bestimmt. Mittelwert und Standardabweichung der Messungen sind dargestellt.

Anhand der Einzelbaumdarstellung der einzelnen Messtermine ist ersichtlich, dass sowohl die symptomtragenden als auch die symptomlosen Bäume innerhalb des Kollektivs, über die Vegetationsperiode 2003 hinweg relativ homogene Predawn- und Minimum-Zweigpotentialwerte aufwiesen (Abb. 4-5 a-d). Nur im September zeigten

zwei der symptomführenden Erlen deutlich geringere Minimumpotentiale (Abb. 4-5 e). Dies war vermutlich auf die einsetzende Blattseneszenz bei diesen Bäumen zurückzuführen. Insgesamt zeigen die Einzelbaumdarstellungen des Wasserpotentials, dass die symptomtragenden Erlen im Vergleich zu den symptomlosen in der Mehrzahl der Messungen etwas weniger negative Minimum-Zweigwasserpotentiale aufwiesen. Ergänzend zu den Messungen während der Vegetationsperiode 2003 wurde im August 2004 ein Tagesgang der Zweig-Wasserpotentiale an einem symptomtragenden und einem symptomlosen Baum gemessen. Dies diente der Prüfung infektionsbedingter Unterschiede in der diurnalen Dynamik des Wasserpotentials.

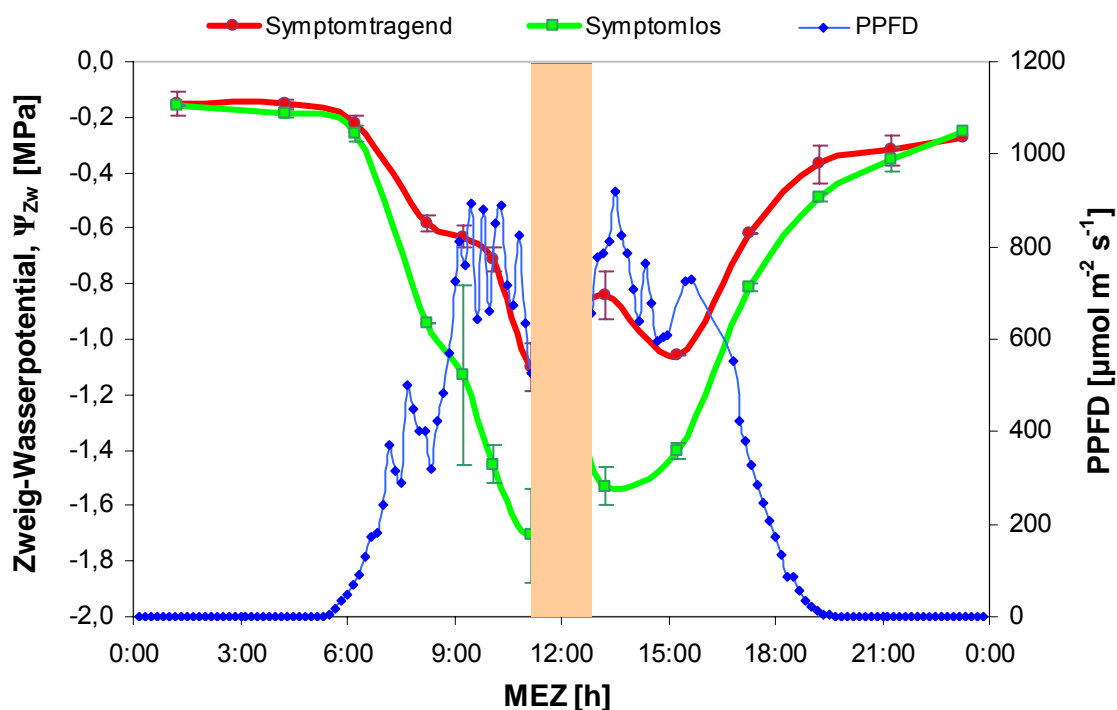


Abbildung 4-6: Tagesgang des Zweig-Wasserpotentials einer symptomführenden (-)B2 und einer symptomlosen Erle (+)B3. Messung mit Scholander-Druckkammer am 23. August 2004. Je Datenpunkt Mittelwerte aus 2-3 Messungen  $\pm$  Standardabweichung.

Der Tagesgang (Abbildung 4-6) bestätigte die Beobachtungen aus der Vegetationsperiode 2003, dass symptomführende gegenüber symptomfreien Bäumen kein negativeres Zweig-Wasserpotential aufweisen. Beide Bäume zeigten nachts keine Unterschiede. Nach Sonnenaufgang jedoch sank das Wasserpotential des geschädigten Baumes über den Tag hinweg deutlich weniger ab, was auf stärker verengte Stomata im Vergleich zu symptomlosen Bäumen hindeutet (siehe auch Abb. 4-1b und 4-1c). Weiterhin deutet die Dynamik des Wasserpotentials im Tagesgang auf eine infektionsbedingte Beeinträchtigung der stomatären Regulation hin.

In der Zeitspanne zwischen 11:00 und 13:00 Uhr (in Abbildung 4-6 farbig hinterlegt) reagierte der symptomlose Baum bezüglich des Wasserpotentials empfindlich auf Veränderungen der Lichtintensität (PPFD): Bei Verringerung des Lichtangebotes (Bewölkung) stieg das Blattwasserpotential innerhalb kurzer Zeit an bzw. wurde weniger negativ, bei wieder zunehmender Lichtintensität sank das Blattwasserpotential mit steigender Blatttranspiration wieder ab. Im Vergleich dazu reagierte der infizierte Baum verzögert und gedämpft auf Änderungen des Lichtangebotes.

#### 4.1.3 Visuelle Untersuchungen an Stammscheiben

Von allen acht Versuchsbäumen des Freilandstandortes wurden Stammscheiben aus ca. 40 cm Stammhöhe (Stammfußscheiben) im Herbst 2005 gewonnen, um die Beeinträchtigung des wasser- bzw. assimilatleitenden Querschnitts durch die Erlenphytophthora-Erkrankung im Stammfußbereich zu untersuchen (Abbildung 4-7). Dazu wurden mittels Pergamentpapier-Methode (visuell-gravimetrisches Verfahren) an den Stammscheiben die intakten und nekrotischen bzw. von holzerstörenden Pilzen besiedelten Flächenanteile des Rindengewebes und des Xylems erhoben.

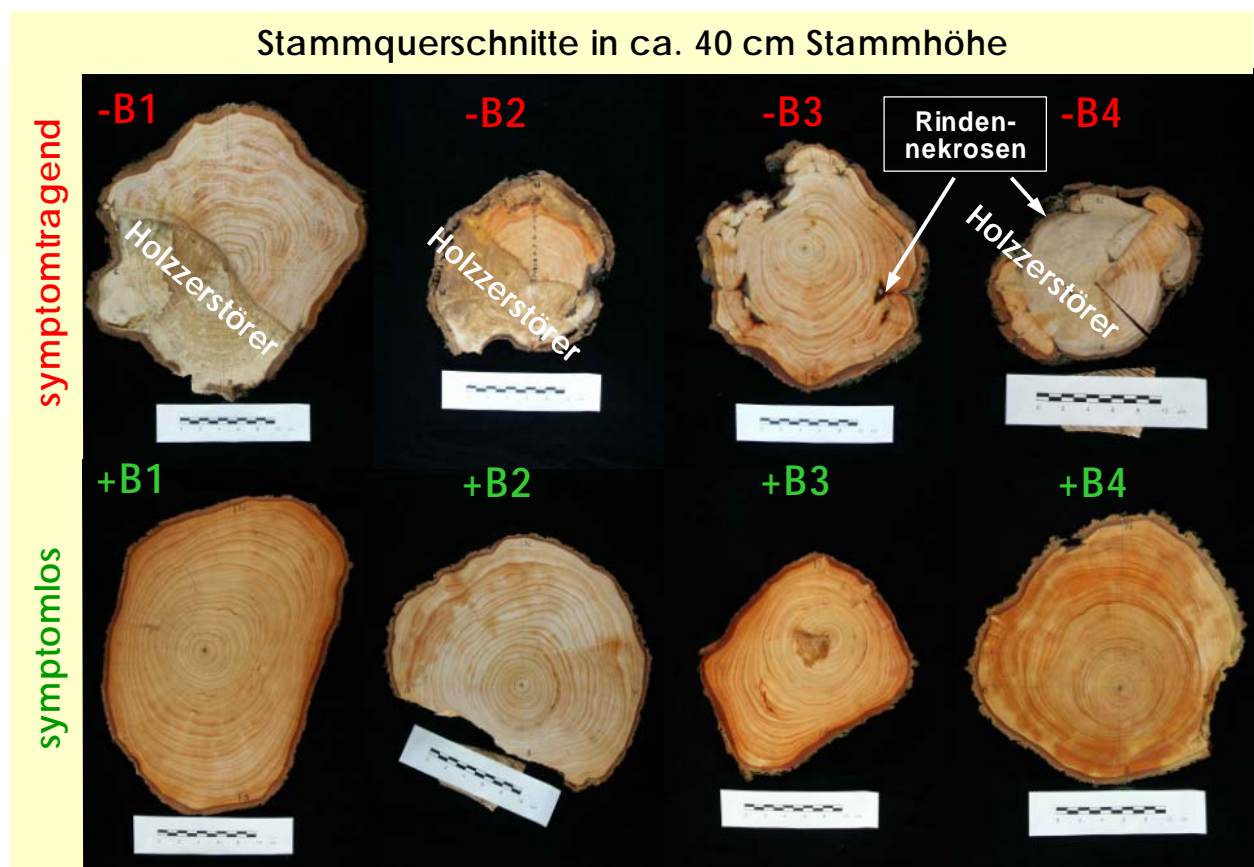


Abbildung 4-7: Fotografische Aufnahmen von Stammscheiben aus ca. 40 cm Stammhöhe symptomtragender und symptomloser Erlen vom Freilandstandort an der Glonn.

Jahrringzählungen an den Stammfußscheiben ergaben keine wesentlichen Altersunterschiede zwischen symptomtragenden und symptomlosen Versuchsbäumen (siehe Tab. 4-1). Beide Kollektive wiesen an den Stammfußscheiben eine durchschnittliche Jahrringanzahl von ca. 21 auf. Bei symptomtragenden Bäumen lag die Jahrringanzahl zwischen 19 und 23 bei symptomlosen Bäumen bei 20 bzw. 21. Unter Berücksichtigung, dass die Ausbildung der Markröhre (zentrales juveniles Holz) ca. 2 bis 3 Jahre in Anspruch nahm, lässt sich auf ein durchschnittliches biologisches Alter von 23 bis 24 Jahren der Versuchsbäume schließen.

<b>Xylemquerschnittsfläche in 40 cm Stammhöhe</b>						
	Jahrringanzahl	Mittlerer Durchmesser (cm)	Gesamtfläche (cm <sup>2</sup> )	Unbeeinträchtigt (leitend) (cm <sup>2</sup> )	Beeinträchtigt (Holzfäule o.ä.) (cm <sup>2</sup> )	Beeinträchtiger Anteil (Fäule o.ä.)
<b>Symptomtragende Bäume</b>						
-B1	20	26,5	475	268	207	44%
-B2	19	15,6	161	54	107	66%
-B3	20	16,6	185	182	3	2%
-B4	23	14,1	133	48	85	64%
<b>Mittel</b>	<b>20,5</b>	<b>18,2</b>	<b>238</b>	<b>138</b>	<b>100</b>	<b>44%</b>
SD	± 1,7	± 5,6	± 159	± 106	± 84	± 30%
<b>Symptomlose Bäume</b>						
+B 1	21	22,6	366	366	0	0%
+B 2	21	23,4	398	398	0	0%
+B 3	21	17,2	201	201	0	0%
+B 4	20	22,9	367	367	0	0%
<b>Mittel</b>	<b>20,8</b>	<b>21,5</b>	<b>333</b>	<b>333</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>
SD	± 0,5	± 2,9	± 90	± 90	± 0	± 0%
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>						
Signifikanz-niveau	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>p ≤ 0,05</b>

Tabelle 4-1: Ergebnisse der Xylemflächenerhebung an Stammscheiben aus ca. 40 cm Stammhöhe (Stammfuß) symptomtragender und symptomloser Erlen im Freiland.

Die mittlere Xylemfläche und demzufolge der mittlere Durchmesser der Stammfußscheiben der symptomtragenden Bäume waren im Vergleich zu symptomlosen Bäumen geringer (Tab. 4-1). Dieser Unterschied zwischen den beiden Kollektiven erwies sich jedoch im Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test) als statistisch nicht signifikant. Alle symptomführenden Erlen zeigten im Stammfußbereich Beeinträchtigungen des wasserleitenden Stammquerschnitts. Bei drei der vier symptom-

tragenden Erlen (Abb. 4-7, -B1, -B2 und -B4) waren große Flächenanteile des Xylems (zwischen 44% und 66%) von holzerstörenden Pilzen (Fäulen) besiedelt (Tab. 4-1). Bei diesen Bäumen konnte nur in einem Fall (-B1) ein Artennachweis der holzerstörenden Pilze erbracht werden. Anhand der Fruchtkörperbildung (Sporen) an einem im Freien gelagerten Stammabschnitt des Baumes wurde *Phellinus punctatus* (Mündl. Mitteilung M. Blaschke, LWF Bayern 2005) bestimmt. Der vierte symptomtragende Baum (-B3) zeigte keine Fäule im Holzkörper, jedoch mehrfach Kambium- und Rindennekrosen die teilweise seitlich überwallt wurden und noch anhand T-förmiger Einschlüsse abgestorbenen Rindengewebes im Holzkörper zu erkennen waren. Der durchschnittliche Anteil beeinträchtigten Xylems betrug bei den symptomtragenden Bäumen 44%. Die symptomlosen Bäume wiesen hingegen ungestörte wasserleitende Querschnitte im Stammfußbereich (Abb. 4-7, +B1 bis +B4) ohne Anzeichen von Fäulen im Holzkörper auf. Wegen des Befalls durch holzerstörende Pilze, verfügten die symptomtragenden Bäume durchschnittlich über einen signifikant geringeren wasserleitenden (unbeeinträchtigten) Querschnitt im Stammfußbereich (Tab. 4-1 Mittelwertvergleich). Die durchschnittliche leitende Xylemfläche symptomtragender Bäume betrug weniger als die Hälfte (41%) des Wertes symptomloser Bäume.

Darüber hinaus wiesen alle vier symptomtragenden Bäume nicht überwallte Kambium- und Rindennekrosen auf, die zum Ausfall der Jahrringbildung des darunter liegenden Xylems führten (Abb. 4-7). Der Anteil nekrotischen Rindengewebes am Stammfuß lag bei den symptomführenden Erlen im Mittel bei 47% (Tab. 4-2). Die symptomlosen Bäume zeigten bis auf eine Ausnahme keine visuell erkennbare Schädigung des Rindengewebes. Baum 4 der symptomlosen Bäume (+B4) zeigte kleinräumige Rindennekrosen, die ca. 2% des gesamten Rindengewebes umfassten.

<b>Querschnittsfläche der Rinde und Borke in 40 cm Stammhöhe (cm<sup>2</sup>)</b>				
	<b>Gesamt</b>	<b>Unbeeinträchtigt</b>	<b>Beeinträchtigt (Nekrosen oder Fäule)</b>	<b>Beeintr. Anteil (Fäule o.ä.)</b>
<b>Symptomtragende Bäume</b>				
-B1	75	40	35	46%
-B2	30	11	20	65%
-B3	32	23	9	29%
-B4	24	12	12	48%
<b>Mittel</b>	<b>40</b>	<b>21</b>	<b>19</b>	<b>47%</b>
SD	± 23	± 14	± 12	± 14%
<b>Symptomlose Bäume</b>				
+B1	36	36	0	0%
+B2	31	31	0	0%
+B3	32	32	0	0%
+B4	44	43	1	2%
<b>Mittel</b>	<b>36</b>	<b>36</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>
SD	± 6	± 4	± 0	± 1%
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>				
Signifikanz niveau	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>p ≤ 0,01</b>

Tabelle 4-2: Ergebnisse der Rindenflächenerhebung an Stammscheiben aus ca. 40 cm Stammhöhe (Stammfuß) symptomtragender und symptomfreier Erlen im Freiland.

#### 4.1.4 Ergebnisse der CT-Aufnahmen an Stammabschnitten

CT-Aufnahmen sollten Einblicke in die Wassersättigung und -verteilung im Stamm der acht Versuchsbäume des Freilandstandorts erbringen. Darüber hinaus sollten die CT-Aufnahmen Aufschluss über das Ausmaß der Störungen des wasserleitenden Querschnitts durch Holzfäulepilze in verschiedenen Stammhöhen geben. Dazu wurden umgehend nach Fällung der Versuchsbäume Stammabschnitte im wassergesättigten Zustand im Computertomographen gescannt.

Insbesondere in Höhe der Xylemflusssensoren (1,0 m Stammhöhe) sollte mittels Bildauswertung der CT-Aufnahmen die intakte und damit leitende Xylemquerschnittsfläche aller acht Versuchsbäume des Freilandstandortes bestimmt werden. Die leitende Xylemfläche in Sensorhöhe diente als Grundlage für die spätere Berechnung des täglichen Xylemflusses der Einzelbäume. Eine beispielhafte Auswertung der CT-Aufnahmen eines symptomtragenden Baumes (-B4) ist in Abbildung 4-8 dargestellt.

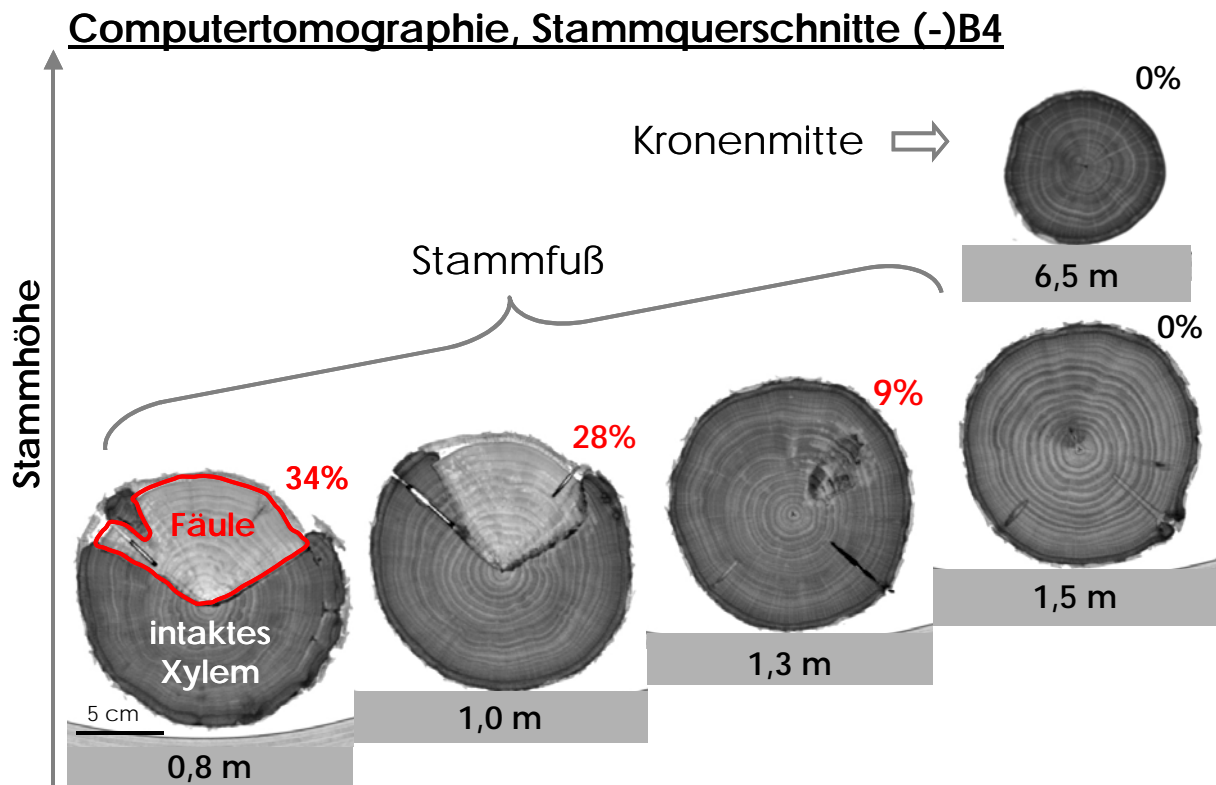


Abbildung 4-8: Invertierte CT-Stammquerschnitts-Aufnahmen eines symptomtragenden Baumes (-B4) in unterschiedlichen Stammhöhen. Von Holzfäule befallene Bereiche erscheinen im invertierten Bild hell. Der von Fäule betroffene Anteil der Querschnittsfläche ist in Prozent am rechten oberen Rand der Bilder angegeben unterhalb der Einzelbilder ist die Stammhöhe in Metern vermerkt.

Von Holzfäulepilzen betroffene Xylembereiche ließen sich im CT-Bild (in Abb. 4-8 invertiertes Bild), aufgrund der geringeren Wassersättigung bzw. Strahlungsabsorption („attenuation“) hell erscheinend, gegenüber intaktem Xylemgewebe (dunkel) gut abgrenzen. Gesunde Xylembereiche ließen keine deutlichen Unterschiede der Wassersättigung (Strahlungsabsorption) des äußeren und inneren Xylems erkennen. Der in Abb. 4-8 dargestellte Baum zeigte anhand der visuellen Stammscheibenauswertung (Kap. 4.1.3) starken Befall durch Holzfäulepilze im Xylemkörper (ca. 64%) in 0,40 m Stammhöhe (Stammfußbereich). Die CT-Bilder bescheinigten mit zunehmender Stammhöhe einen deutlichen Rückgang des von Fäule betroffenen Xylemanteils (Abb. 4-8). Die CT-Aufnahmen ließen bereits in 1,5 m Stammhöhe keine Beeinträchtigung mehr des Xylems durch Fäule erkennen und zeigten bei darüber liegenden Stammabschnitten eine homogene Wassersättigung des Holzkörpers. Bei den beiden weiteren von holzerstörenden Pilzen besiedelten symptomtragenden Bäumen (Tab. 4-3, -B1 und -B2) blieb die Holzfäule ebenfalls auf den unteren Stammbereich begrenzt und reichte bei -B2 maximal bis in 2,5 m Stammhöhe

(Ergebnisse hier nicht gezeigt). Die vier symptomlosen Bäumen und Baum 3 der symptomtragenden Bäume zeigten anhand der CT-Aufnahmen weder im unteren Stammbereich (0,8 bis 1,5 m Stammhöhe) noch im Kronenbereich (Kronenansatz und Kronenmitte) eine Beeinträchtigung des wasserleitenden Querschnitts.

Die Ergebnisse der Querschnittsflächenermittlung mit Hilfe von CT-Aufnahmen in Höhe der Xylemflusssensoren (1,0 m Stammhöhe) sind in Tabelle 4-3 wiedergegeben. Demnach wiesen drei der symptomtragenden Bäume in dieser Stammhöhe noch erheblichen Befall des Xylems (25 bis 56% Flächenanteil) durch holzerstörende Pilze auf. Die mittlere unbeeinträchtigte Xylemquerschnittsfläche symptomtragender Bäume erwies sich jedoch im Mittelwertvergleich mit dem Wert symptomloser Bäume als statistisch nicht signifikant geringer.

<b>Xylemquerschnittsfläche in 100 cm Stammhöhe</b>					
	Mittlerer Durchmesser (cm)	Gesamtfläche (cm <sup>2</sup> )	Unbeeinträchtigt (leitend) (cm <sup>2</sup> )	Beeinträchtigt (Holzfäule o.ä.) (cm <sup>2</sup> )	Beeinträchtiger Anteil (Fäule o.ä.)
<b>Symptomtragende Bäume</b>					
-B1	22,5	342	255	87	25%
-B2	13,3	110	49	61	56%
-B3	11,3	82	82	0,0	0%
-B4	16,7	185	132	53	28%
<b>Mittel</b>	<b>16,0</b>	<b>180</b>	<b>129</b>	<b>50</b>	<b>27%</b>
SD	± 4,9	± 117	± 91	± 37	± 23%
<b>Symptomlose Bäume</b>					
+B1	19,6	239	239	0,0	0%
+B2	18,6	268	268	0,0	0%
+B3	13,4	118	118	0,0	0%
+B4	17,1	207	207	0,0	0%
<b>Mittel</b>	<b>17,2</b>	<b>208</b>	<b>208</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>
SD	± 2,7	± 65	± 65	± 0	± 0%
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>					
Signifikanzniveau	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>p ≤ 0,05</b>

Tabelle 4-3: Ergebnisse der Xylemflächenermittlung in 1,0 m Stammhöhe symptomtragender und symptomfreier Erlen im Freiland anhand von CT-Aufnahmen.



#### 4.1.5 Abschätzung der Blattmasse der Versuchsbäume

Der einfache Vergleich der Xylemquerschnittsflächen gibt jedoch keinen Aufschluss über die physiologische Funktionfähigkeit des intakten Xylems. Dies lässt sich anhand des Verhältnisses zwischen leitendem Querschnitt und der mit Wasser zu versorgenden transpirierenden Kronenoberfläche prüfen. Dazu wurde im folgenden die Blattsubstanz der Versuchsbäume über allometrische Beziehungen hergeleitet.

Die Blattmasse der Versuchsbäume konnte aufgrund des Ernteverfahrens (Kap. 3.2) mit Hilfe der gemessenen Astbasisdurchmesser errechnet werden. Anhand der gefundenen Beziehung zwischen Astbasisquerschnittsfläche und Blatttrockenmasse der untersuchten Probeäste (2-3 pro Kronendrittel) wurde das Blatttrockengewicht jedes einzelnen Astes der acht Versuchsbäume vom Freilandstandort ermittelt.

In Abbildung 4-9 ist die anhand der Probeäste gefunden Korrelation zwischen Blattrockensubstanz und Astquerschnittsfläche für jeden Einzelbaum dargestellt. Bis auf Baum 2 der symptomtragenden Bäume zeigten alle Bäume ein hohes Bestimmtheitsmaß und statistische Signifikanz dieser Beziehung (vgl. Tab. 4-3, Korrelationskoeffizienten: 0,75 bis 0,97). Für die Blattmassenschätzung von Baum 2 der symptomtragenden Bäume brauchte die ermittelte Korrelation jedoch nicht herangezogen werden, da dieser Baum neben den Probeästen über keine weiteren Äste verfügte und damit komplett beerntet wurde.

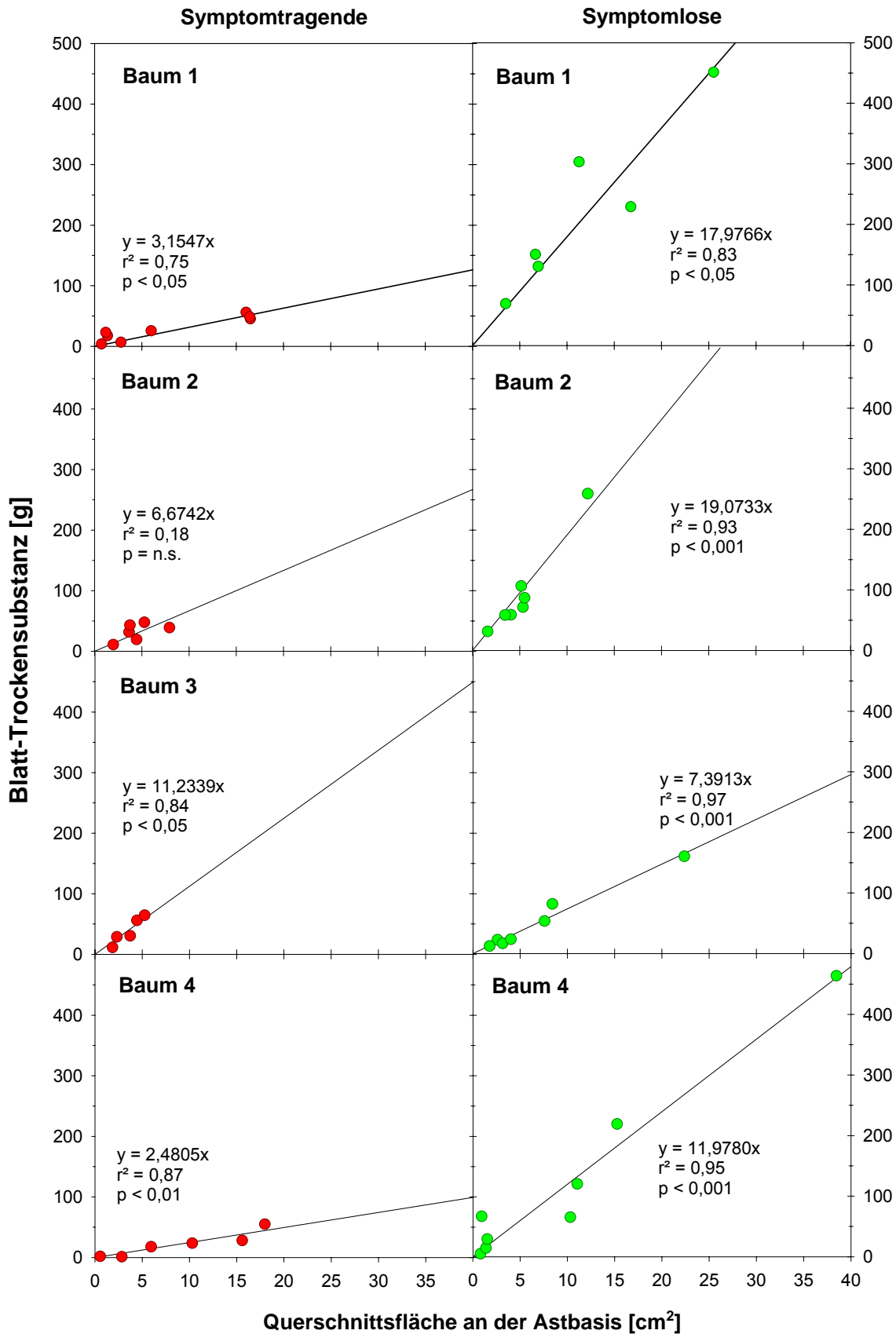


Abbildung 4-9: Korrelation zwischen Astbasisquerschnittsfläche (Astdurchmesser ca. 1 cm von der Astansatzstelle entfernt in Richtung der Stammlängsachse ermittelt) und der Trockenmasse der Blattsubstanz der Probeäste der acht Versuchsbäume (Erntebäume).

Symptomtragende Bäume wiesen durchschnittlich eine statistisch signifikant geringere Blattmasse pro Astquerschnittsfläche auf, was durch die geringere Steigung der linearen Regressionen bei diesen Bäumen ersichtlich ist (Tabelle 4-4 und Abb. 4-9). Bei den symptomtragenden Bäumen fiel -B3 durch ähnlich hohe Blattmassen pro Astquerschnittsfläche wie bei symptomlosen Bäume auf.

	Regressions- gerade	Steigung	Korrelations- koeffizient	Signifikanzniveau der Korrelation
<b>Symptomtragende Bäume</b>				
-B1	$y = 3,154751x$	3,15	$r^2 = 0,75$	$p \leq 0,05$
-B2	$y = 6,674240x$	6,67	$r^2 = 0,18$	n.s.
-B3	$y = 11,233979x$	11,23	$r^2 = 0,84$	$p \leq 0,05$
-B4	$y = 2,480546x$	2,48	$r^2 = 0,87$	$p \leq 0,01$
<b>Mittel</b>	---	<b>5,89</b>	---	---
SD	---	$\pm 4,0$	---	---
<b>Symptomlose Bäume</b>				
+B1	$y = 17,976639x$	17,98	$r^2 = 0,83$	$p \leq 0,05$
+B2	$y = 19,073311x$	19,07	$r^2 = 0,93$	$p \leq 0,001$
+B3	$y = 7,391325x$	7,39	$r^2 = 0,97$	$p \leq 0,001$
+B4	$y = 11,977968x$	11,98	$r^2 = 0,95$	$p \leq 0,001$
<b>Mittel</b>	---	<b>14,1</b>	---	---
SD	---	$\pm 5,5$	---	---
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>				
Signifikanz- niveau	---	<b><math>p \leq 0,05</math></b>	---	---

Tabelle 4-4: Vergleich der Korrelationen zwischen Astbasisquerschnittsflächen und der Blatttrockenmasse der Äste bei symptomtragenden und symptomlosen Erlen. Signifikanzniveau der Korrelationen nach Fisher und Yates (1963).

Die anhand der oben gezeigten Korrelation hergeleitete Blatttrockensubstanz der Versuchsbäume ist in Tabelle 4-5 wiedergegeben. Durchschnittlich wiesen die symptomlosen Bäume eine fünf- bis zehnfach höhere Blatttrockenmasse der einzelnen Kronenabschnitte und der Gesamtkrone als symptomtragende Bäume auf. Dieser Unterschied in der Blattsubstanz zwischen den beiden Kollektiven erwies sich im Mittelwertvergleich für das mittlere Kronendrittel und die Gesamtkrone als statistisch signifikant. Der durchschnittliche prozentuale Anteil der Blattmasse war bei den symptomlosen Bäumen im mittleren Kronendrittel mit 40% am höchsten und der Anteil des oberen Kronendrittels am geringsten (24%). Symptomtragende Bäume wiesen im Durchschnitt eine vergleichsweise einheitliche Verteilung der Blattmasse über alle Kronendrittel auf. Im Mittel trugen diese Bäume den höchsten Anteil der Blattmasse im oberen Kronendrittel (36%) und den geringsten Anteil (29%) im mittleren Drittel.

	<b>Blatttrockenmasse (kg)</b>			gesamte Krone
	unteres	mittleres Kronendrittel	oberes	
<b>Symptomtragende Bäume</b>				
-B1	0,09	0,22	0,20	0,51
-B2	0,08	0,06	0,16	0,30
-B3	0,40	0,20	0,13	0,74
-B4	0,04	0,02	0,12	0,17
<b>Mittel</b>	<b>0,15</b>	<b>0,13</b>	<b>0,15</b>	<b>0,43</b>
SD	± 0,17	± 0,10	± 0,04	0,25
Anteil	35%	29%	36%	100%
<b>Symptomlose Bäume</b>				
+B1	2,64	2,01	0,45	5,10
+B2	0,89	1,52	1,40	3,80
+B3	0,38	0,29	0,23	0,89
+B4	0,90	1,45	1,12	3,47
<b>Mittel</b>	<b>1,20</b>	<b>1,32</b>	<b>0,80</b>	<b>3,32</b>
SD	± 0,99	± 0,73	± 0,55	± 1,76
Anteil	36%	40%	24%	100%
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>				
Signifikanzniveau	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>

*Tabelle 4-5: Blatttrockenmasse der im Herbst 2005 geernteten Versuchsbäume pro Kronendrittel und gesamter Krone der Einzelbäume sowie Mittelwerte der symptomlosen und symptomtragenden Bäume und Ergebnisse des Mittelwertvergleichs.*

#### 4.1.6 Abschätzung der Blattfläche der Versuchsbäume

Zur Abschätzung der Blattfläche (Kronenoberfläche) der Versuchsbäume wurde wie in Kapitel 3.3 beschrieben vorgegangen. Für jedes Kronendrittel wurde die mittlere „spezifische Blattfläche“ (SLA in  $\text{cm}^2 \text{g}^{-1} \text{TS}$ ) berechnet und zur Herleitung der Blattfläche mit der Gesamtblattmasse des jeweiligen Kronendrittels (Tabelle 4-5) multipliziert. Die Ergebnisse der SLA-Bestimmung sind in Tabelle 4-6 und Abb. 4-10 wiedergegeben. Im Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test) zeigten symptomtragende Bäume im unteren Kronendrittel und bezüglich des Mittelwertes für die gesamte Krone eine statistisch signifikant geringere spezifische Blattfläche als symptomlose Bäume (Tab. 4-6). Der durchschnittliche SLA-Wert der symptomlosen Bäume nahm vom unteren Kronenbereich nach oben hin stetig ab (Abb. 4-10), symptomtragende Bäume wiesen hingegen einen weniger deutlich ausgeprägten Gradienten der durchschnittlichen SLA-Werte mit steigender Kronenposition auf.

<b>Mittlere spezifische Blattfläche, SLA (<math>\text{cm}^2 \text{g}^{-1} \text{TS}</math>)</b>				
	unteres	mittleres Kronendrittel	oberes	gesamte Krone
<b>Symptomtragende Bäume</b>				
-B1	132	116	111	132
-B2	123	132	116	123
-B3	138	127	108	138
-B4	129	155	125	129
<b>Mittel</b>	<b>131</b>	<b>133</b>	<b>115</b>	<b>126</b>
SD	$\pm 6$	$\pm 16$	$\pm 7$	$\pm 7$
<b>Symptomlose Bäume</b>				
+B1	151	159	114	151
+B2	182	160	123	182
+B3	131	133	123	131
+B4	185	150	116	185
<b>Mittel</b>	<b>162</b>	<b>150</b>	<b>119</b>	<b>144</b>
SD	$\pm 26$	$\pm 12$	$\pm 5$	$\pm 11$
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>				
Signifikanz- niveau	<b><math>p \leq 0,05</math></b>	n.s.	n.s.	<b><math>p \leq 0,05</math></b>

Tabella 4-6: Mittlere spezifische Blattfläche der im Herbst 2005 geernteten Versuchsbäume pro Kronendrittel und gesamter Krone der Einzelbäume sowie Mittelwerte der symptomlosen und symptomtragenden Bäume und Ergebnisse des Mittelwertvergleichs.

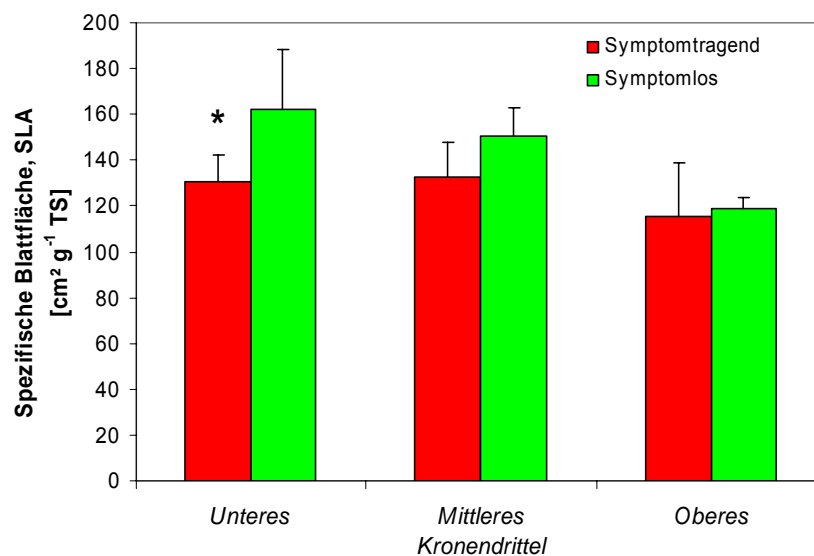


Abbildung 4-10: Mittelwert und Standardabweichung der spezifische Blattfläche je Kronendrittel der symptomlosen und symptomtragenden Bäume (Herbst 2005).

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Abschätzung der Blatttrockenmassen der Versuchsbäume wiesen die symptomtragenden Bäume durchschnittlich deutlich geringere Blattflächen auf. Bezogen auf die gesamte Krone verfügten die symptomtragenden Bäume durchschnittlich lediglich über ein Neuntel (11%) der Blattfläche symptomloser Bäume. Die Unterschiede der mittleren Laubflächen symptomtragender und symptomloser Versuchsbäume waren für die gesamte Krone und das mittlere Kronendrittel statistisch signifikant (Tab. 4-7).

	<b>Blattfläche (m<sup>2</sup>)</b>			
	unteres	mittleres Kronendrittel	oberes	gesamte Krone
<b>Symptomtragende Bäume</b>				
-B1	1,1	2,6	2,2	5,9
-B2	1,0	0,8	1,9	3,7
-B3	5,4	2,6	1,5	9,5
-B4	0,5	0,2	1,3	2,0
<b>Mittel</b>	<b>2,0</b>	<b>1,6</b>	<b>1,7</b>	<b>5,3</b>
SD	± 2,3	± 1,2	± 0,4	± 3,2
<b>Symptomlose Bäume</b>				
+B1	39,4	31,6	5,1	76,0
+B2	16,0	23,9	17,5	57,4
+B3	4,8	3,7	2,4	10,9
+B4	15,3	21,4	12,9	49,6
<b>Mittel</b>	<b>18,9</b>	<b>20,1</b>	<b>9,5</b>	<b>48,5</b>
SD	± 14,6	± 11,8	± 7,0	± 27,4
<b>Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)</b>				
Signifikanz- niveau	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>n.s.</b>	<b>p ≤ 0,05</b>

*Tabelle 4-7: Blattfläche der im Herbst 2005 geernteten Versuchsbäume pro Kronendrittel und für die gesamte Krone der Einzelbäume sowie Mittelwerte der symptomlosen und symptomtragenden Bäume und den Ergebnissen des Mittelwertvergleichs.*

#### 4.1.7 Verhältnis zwischen Blattfläche und wasserleitendem Querschnitt

Anhand des Quotienten zwischen transpirierender Blattoberfläche und dem intakten wasserleitenden Querschnitt aller Versuchsbäume sollte geprüft werden, ob die Beeinträchtigung des wasserleitenden Querschnitts durch holzerstörende Pilze bei symptomtragenden Bäumen eine Unterversorgung der Blätter mit Wasser bedingt. Dazu wurden die Quotienten der symptomtragenden und symptomlosen Bäume miteinander verglichen. Als Eingangsgrößen für die Quotientenbildung dienten die Kronenfläche sowie die leitende Xylemfläche in 0,4 m (Stammfuß) bzw. 1,0 m Stammhöhe (Xylemflusssensoren) der Bäume.

	Quotient aus Blattfläche und intakter (leitender) Xylemfläche (m <sup>2</sup> Blattfläche m <sup>-2</sup> intaktes Xylem <sup>-1</sup> )			
	in 0,4 m Stammhöhe		in 1,0 m Stammhöhe	
	Symptomtragend	Symptomlos	Symptomtragend	Symptomlos
Baum 1	220	2076	230	3183
Baum 2	680	1442	755	2145
Baum 3	524	543	1167	920
Baum 4	427	1350	155	2394
<b>Mittel</b>	<b>463</b>	<b>1353</b>	<b>577</b>	<b>2161</b>
SD	± 193	± 629	± 476	± 938
	Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test)			
Signifikanzniveau	<b>p ≤ 0,05</b>		<b>p ≤ 0,05</b>	

*Tabelle 4-8: Verhältnis zwischen Blattfläche und leitender Xylemfläche in 0,4 m und 1,0 m Stammhöhe der im Herbst 2005 geernteten Versuchsbäume sowie Mittelwerte der symptomlosen und symptomtragenden Bäume und Ergebnisse des Mittelwertvergleichs.*

Die ermittelten Quotienten zeigen, dass die symptomtragenden Bäume mit Fäulebefall des Xylems im Durchschnitt pro m<sup>2</sup> leitende Xylemfläche eine geringere mit Wasser zu versorgende Blattfläche als symptomlose Bäume aufwiesen. Bezogen auf die Stammfußfläche (hohe Fäuleanteile bei symptomtragenden Bäumen) trugen symptomlose Bäume im Durchschnitt ca. dreimal so viel Blattfläche pro leitende Xylemfläche, bezogen auf die Querschnittsfläche in 1,0 m Stammhöhe sogar vierfach soviel (Tabelle 4-8). Die Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven hinsichtlich der errechneten Quotienten erwiesen sich im Mittelwertvergleich als statistisch signifikant.

#### 4.1.8 Ergebnisse der Xylemflussmessungen

Am Freilandstandort wurde mit Hilfe von Xylemflusssensoren fortlaufend in den Stämmen aller Versuchsbäume während der Vegetationsperioden 2003 bis 2005 der Xylemfluss zur Quantifizierung der Transpiration der Einzelbäume (Wasserverbrauch) gemessen. Zum Vergleich des Xylemflusses bei symptomführenden und symptomlosen Bäumen wurden die Daten von jeweils nahezu wolkenlosen Hochsommertagen (Strahlungstagen) der Vegetationsperioden 2003, 2004 und 2005 mit vergleichbarer maximaler photosynthetisch aktiver Photonenflussdichte um die Mittagszeit (PPFD = 1000 bis 1500  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) und hohen Transpirationsraten der Bäume herangezogen. Unterschiede im Xylemfluss der Versuchsbäume sollten sich besonders an solchen Tagen zeigen. Im Einzelnen handelte es sich um Xylemflussdaten vom 5. August 2003 und 2004 und vom 11. August 2005.

Im Vergleich zu symptomlosen Erlen zeigten alle symptomtragenden Erlen mit Ausnahme von Baum Nr. 3 an allen drei Terminen geringere Xylemflussdichten ( $\text{kg H}_2\text{O d}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) in 0 bis 2 cm Splinttiefe (Abb. 4-11a). Die durchschnittliche Flussdichte im äußeren Splint (0-2 cm Tiefe) symptomtragender Bäume war im Vergleich zu symptomlosen Bäumen um mehr als die Hälfte reduziert (Tab. 4-9). Im Mittelwertvergleich zwischen den beiden Kollektiven erwies sich die Reduktion der Flussdichte im äußeren Splint bei symptomtragenden Erlen als statistisch signifikant (Tab. 4-9). Hinsichtlich der Flussdichte in 2-4 cm Splinttiefe zeigten die beiden Kollektive keinen statistisch signifikanten Unterschied im Mittelwertvergleich (Tab. 4-9). Jedoch fielen bei Einzelbaumbetrachtung (Abb. 4-11 b) große Unterschiede bezüglich der Flussdichte im inneren Splint zwischen den einzelnen symptomtragenden Erlen auf.

Insgesamt zeigten die symptomlosen Bäume im Freiland anhand der Xylemflussmessungen eine Abnahme der Flussdichte vom äußeren (0-2 cm Splinttiefe) zum inneren Splintholzbereich (2-4 cm Splinttiefe, Tab. 4-9). Die symptomtragenden Erlen wiesen durch Zunahme der Flussdichte vom äußeren zum inneren Splintholzbereich umgekehrte Verhältnisse auf. Ein Gradient der Flussdichte zwischen äußerem und innerem Splintbereich ließ sich bei beiden Kollektiven anhand der Messwerte statistisch nicht belegen (nicht signifikant im t-Test), sodass bei den Versuchsbäumen im Freiland von einer verhältnismäßig einheitlichen Flussdichte in 0-4 cm Splinttiefe ausgegangen werden kann.



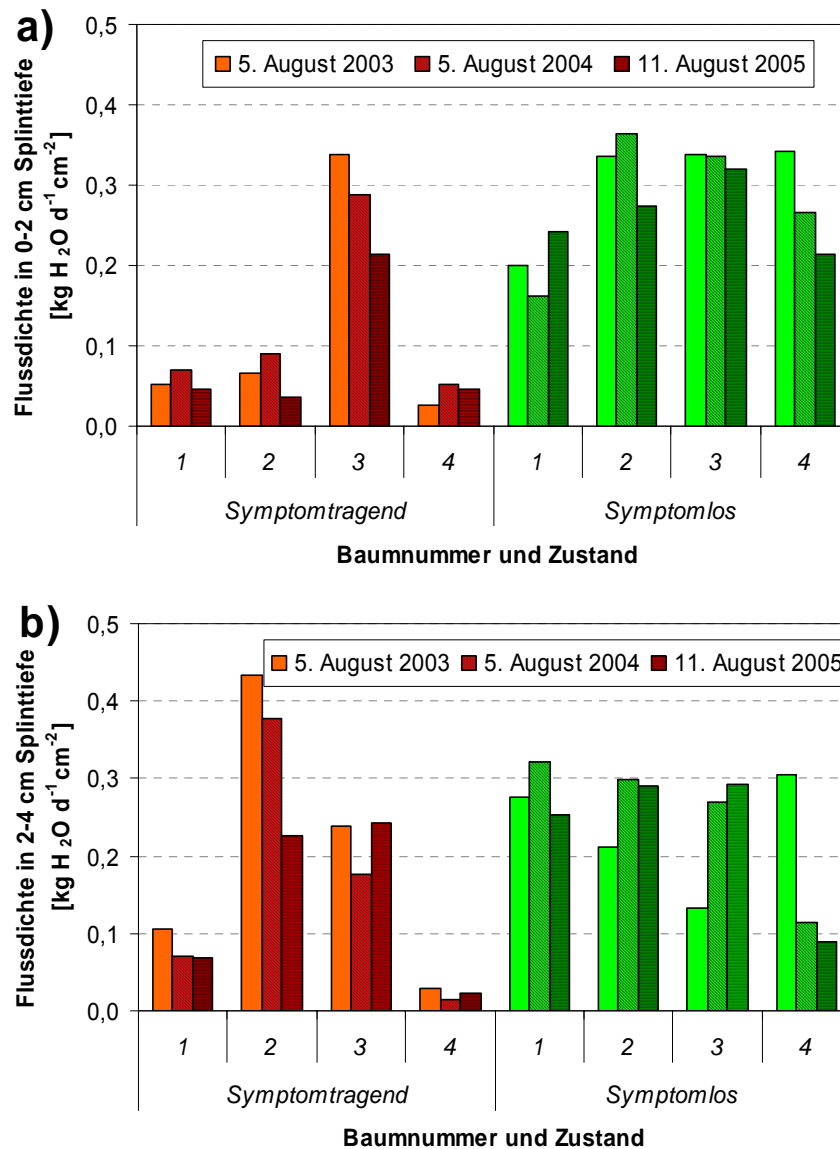


Abbildung 4-11 a und b: An strahlungsreichen ( $PPFD = 1000-1500 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) Hochsommertagen in den Jahren 2003, 2004 und 2005 bei symptomtragenden und symptomlosen Erlen am Freilandstandort ermittelte Xylemflussdichten in 0-2 cm (a) und 2-4 cm (b) Splinttiefe.

Datum	Flussdichte in 0-2 cm Splinttiefe (kg H <sub>2</sub> O d <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> )				Signifikanz- niveau t-Test, einseitig	% Reduktion (-) (100% entspr. dem Mittel der symptomlosen Bäume)
	Symptom- tragende Bäume		Symptom- lose Bäume			
	MW	± SD	MW	± SD		
5. August 2003	0,12	± 0,15	0,30	± 0,07	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>-60</b>
5. August 2004	0,12	± 0,11	0,28	± 0,09	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>-56</b>
11. August 2005	0,09	± 0,09	0,26	± 0,05	<b>p ≤ 0,05</b>	<b>-68</b>

Datum	Flussdichte in 2-4 cm Splinttiefe (kg H <sub>2</sub> O d <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> )				Signifikanz- niveau t-Test, einseitig	% Reduktion (-) (100% entspr. dem Mittel der symptomlosen Bäume)
	Symptom- tragende Bäume		Symptom- lose Bäume			
	MW	± SD	MW	± SD		
5. August 2003	0,20	± 0,18	0,23	± 0,08	<b>n.s.</b>	<b>-13</b>
5. August 2004	0,16	± 0,16	0,25	± 0,09	<b>n.s.</b>	<b>-36</b>
11. August 2005	0,14	± 0,11	0,23	± 0,10	<b>n.s.</b>	<b>-39</b>

Tabelle 4-9: Mittelwerte der Flussdichte im äußeren (0-2 cm Splinttiefe) und inneren Splintbereich (2-4 cm Splinttiefe) symptomtragender und symptomloser Erlen am Freilandstandort an strahlungsreichen Sommertagen (PPFD = 1000-1500  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) in den Jahren 2003-2005.

Die Tagessummen des transpiratorischen Wasserverbrauchs der einzelnen Versuchsbäume wurden durch Bezug der ermittelten Flussdichten auf die Xylemquerschnittsfläche der Versuchsbäume in 1,0 m Stammhöhe berechnet. Da die Versuchsbäume unterschiedliche Stammdurchmesser und damit unterschiedliche wasserleitende Querschnittsflächen aufwiesen, wurde der ermittelte Tageswasserverbrauch der einzelnen Bäume zur direkten Vergleichbarkeit auf einen wasserleitenden Querschnitt (Xylemkörper) von 20 cm Durchmesser in 1,0 m Stammhöhe normiert. Bei den symptomtragenden Erlen, deren Stamm durch holzerstörende Pilze besiedelt war (-B1, 2 und 4), wurde der Anteil zerstörten Xylems in 1,0 m Stammhöhe bei der Berechnung des normierten Tageswasserverbrauch berücksichtigt.

Es zeigte sich für 2003, dass alle symptomführenden Bäume, mit Ausnahme von Baum Nr. 3, durchwegs geringere Tagesflusssummen als symptomfreie Bäume aufwiesen (Abb. 4-12). Dies bestätigte sich sowohl in 2004 als auch in 2005. Die Mittelwerte der beiden Kollektive am jeweiligen Termin erwiesen sich bei einseitigem t-Test in allen drei Jahren (2003-2005) als statistisch signifikant unterschiedlich (Tab. 4-10).

Der mittlere Wasserverbrauch der symptomfreien Bäume war in 2003, 2004 und 2005 mehr als doppelt so hoch wie jene der symptomführenden Bäume (Tab. 4-10). Die Ausnahmestellung des symptomführenden Baumes Nr. 3 lässt sich durch eine noch dicht belaubte Krone erklären und zeigt, dass am Versuchsstandort unterschiedlich fortgeschrittene Krankheitsstadien vorlagen.

Die eingeschränkten querschnittsbezogenen Wasserflüsse symptomführender Bäume erklären sich einerseits anhand der gemessenen niedrigeren Flussdichten, welche auf die verringerte Belaubung bzw. Transpirationsoberfläche zurückzuführen sind, andererseits durch die Beeinträchtigung des leitenden Querschnitts durch Holzzerstörer bei diesen Bäumen.

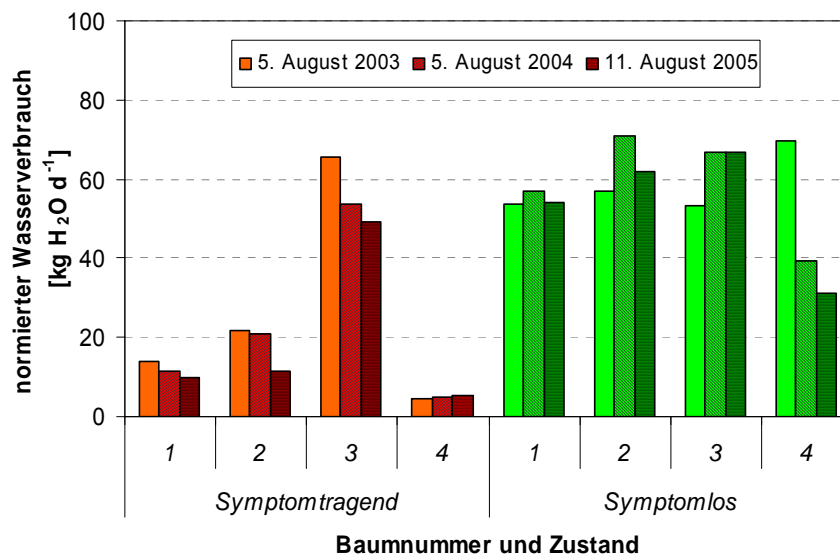


Abbildung 4-12: Tagessumme des Wasserverbrauchs symptomtragender und symptomfreier Erlen. Die angegebenen Wasserverbrauchswerte sind normiert auf die Querschnittsfläche eines Baumes mit 20 cm Xylem-Durchmesser in 1 m Stammhöhe (Xylemflusssondenhöhe).

Datum	Wasserverbrauch (kg d <sup>-1</sup> )				Signifikanzniveau T-Test, einseitig	%Reduktion (-) (100% entspr. dem Mittel der symptomlosen Bäume)
	Symptomtragende Bäume		Symptomlose Bäume			
	Mittel	± SD	Mittel	± SD		
5. August 2003	26,5	± 27,0	58,5	± 7,8	p ≤ 0,05	-55
5. August 2004	22,7	± 21,7	58,4	± 14,0	p ≤ 0,05	-61
11. August 2005	18,9	± 20,3	53,6	± 18,9	p ≤ 0,05	-65

Tabelle 4-10: Mittlerer Wasserverbrauch symptomtragender und symptomloser Bäume an strahlungsreichen Sommertagen im August 2003, 2004 und 2005.

Bei Bezug des errechneten Wasserverbrauchs im August 2005 auf die im Herbst 2005 ermittelte Blattfläche (Transpirationsoberfläche) der Versuchsbäume zeigte sich, dass die symptomtragenden Bäume einen vergleichbar hohen und teilweise höheren blattflächenbezogenen Wasserverbrauch als symptomlose Bäume aufwiesen (Abb. 4-13). Im Mittelwertvergleich der beiden Kollektive ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede des blattflächenbezogenen Wasserverbrauchs am 11. August 2005.

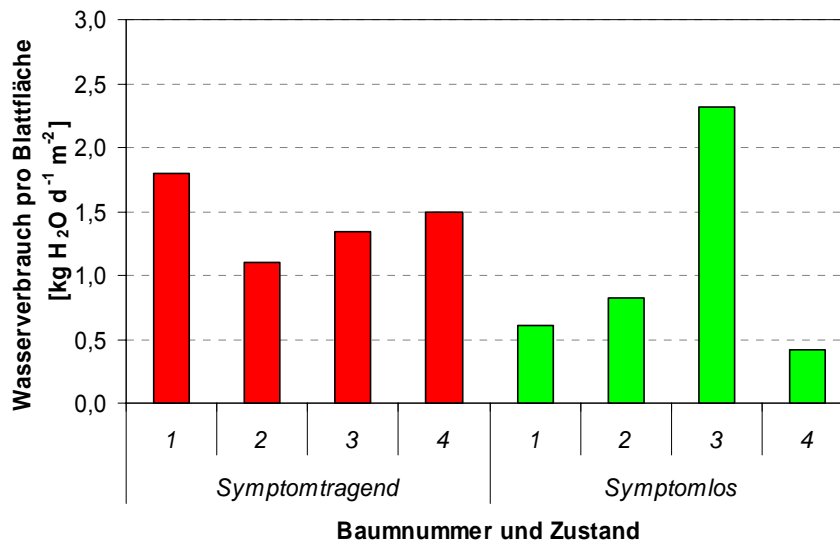


Abbildung 4-13: Blattflächenbezogener Wasserverbrauch symptomtragender und symptomfreier Erlen an einem strahlungsreichen Hochsommertag (11. August) in der Vegetationsperiode 2005.

Datum	Wasserverbrauch pro Blattfläche (kg H <sub>2</sub> O d <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> )				Signifikanz- niveau T-Test, einseitig	%Erhöhung (+) (100% entspr. dem Mittelwert der symptomlosen Bäume)
	Symptom- tragende Bäume		Symptom- lose Bäume			
	Mittel	SD	Mittel	± SD		
11. August 2005	1,4	± 0,3	1,0	± 0,9	n.s.	+38

Tabelle 4-11: Mittlerer blattflächenbezogener Wasserverbrauch symptomtragender und symptomloser Bäume an einem strahlungsreichen Sommertag im August 2005.

#### 4.1.9 Mikro- und Makroelementgehalte der Blätter

Um festzustellen, ob die Infektion von Wurzel und Stamm der symptomtragenden Versuchsbäume zu einer Unterversorgung der Blätter mit Stickstoff und anderen Nährelementen führte, wurden Ende Juli 2003 von symptomführenden und symptomlosen Bäumen Blattproben (5 Blätter/Baum) aus der Sonnenkrone einer Nährelementanalyse unterzogen.

Die Blätter der geschädigten Erlen zeigten signifikant (Mittelwertvergleich im t-Test) geringere mittlere Blattspiegelwerte an Stickstoff (N), Phosphor (P) und Schwefel (S). Dagegen waren die Werte anderer Makro-Nährelemente, wie Magnesium (Mg), Calcium (Ca) und Kalium (K) fast unverändert (Tabelle 4-12). Blätter symptomtragener Erlen wiesen geringfügig niedrigere Kohlenstoff-Blattspiegelwerte auf. Bei Betrachtung der Blattspiegelwerte der Einzelbäume (Abb. 4-14 a-f) zeigte sich, dass diese Ergebnisse ohne Ausnahme für alle symptomtragenden Bäume am Freilandstandort zutreffen. Insbesondere die Blattspiegelwerte an Stickstoff, Phosphor und Schwefel der einzelnen symptomführenden Bäume waren relativ gleichmäßig erniedrigt.

Element (Maßeinheit)	Symptom- tragende Bäume		Symptom- lose Bäume		Signifikanz- niveau T-Test, einseitig	Reduktion (-) bzw. Erhöhung (+) in % (100% entspr. dem Mittelwert der symptomlosen Bäume)
	Mittel	SD	Mittel	SD		
<b>C (% TS)</b>	<b>47,7</b>	± 0,7	<b>48,8</b>	± 0,7	p ≤ 0,05	<b>-2</b>
<b>N (%TS)</b>	<b>2,2</b>	± 0,2	<b>3,0</b>	± 0,2	p ≤ 0,001	<b>-27</b>
<b>P (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,2</b>	± 0,2	<b>1,6</b>	± 0,1	p ≤ 0,01	<b>-24</b>
<b>S (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,3</b>	± 0,2	<b>1,8</b>	± 0,2	p ≤ 0,01	<b>-23</b>
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>8,7</b>	± 1,4	<b>8,7</b>	± 1,0	n.s.	0
<b>Mg (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>3,1</b>	± 0,4	<b>2,9</b>	± 0,1	n.s.	+4
<b>K (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>5,8</b>	± 1,0	<b>5,6</b>	± 0,9	n.s.	+5

*Tabelle 4-12: Mittlere Blattspiegelwerte einiger Nährelemente von symptomtragenden und symptomlosen Erlen im Freiland. Die Mittelwerte der beiden Kollektive wurden anhand der Blattspiegelwerte von jeweils vier Bäumen berechnet. Dazu wurde zuvor der Nährelementgehalt an fünf Blättern aus der Sonnenkrone je Baum bestimmt.*

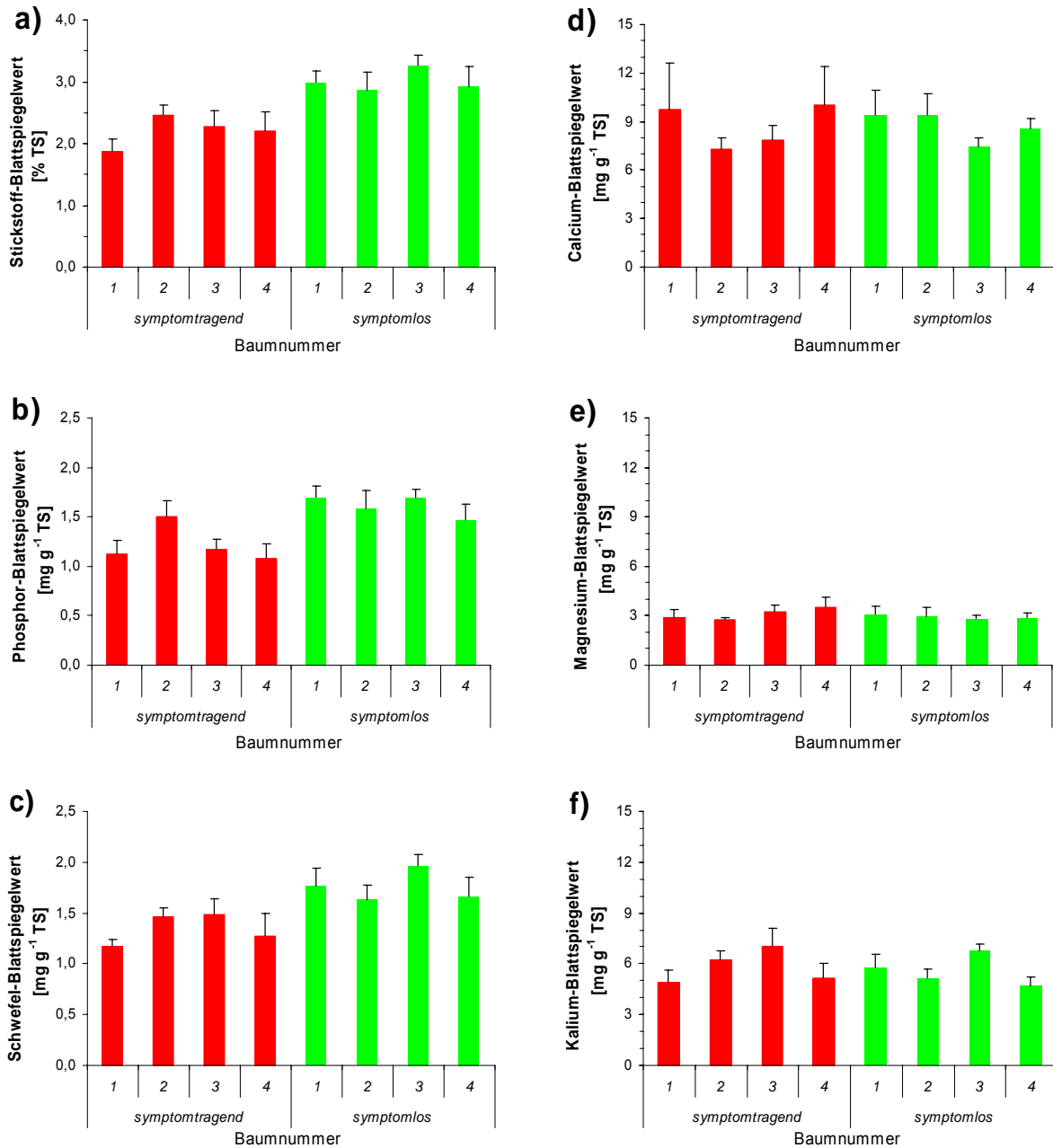


Abbildung 4-14 a-f: Einzelbaum-Blattspiegelwerte Ende Juli 2003 einiger Nährelemente von symptomtragenden und symptomlosen Erlen im Freiland. Je Baum ist der Mittelwert (+Standardabweichung) des Nährelementgehaltes von fünf Blättern aus der Sonnenkrone (Blattspiegelwert) angegeben

#### 4.1.10 Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen an Blättern

Ergänzend zu den Gaswechsellmessungen im Freiland wurden ebenfalls an symptomtragenden und symptomlosen Bäumen über die Vegetationsperiode 2003 hinweg Blattproben für spätere Kohlenhydratanalysen (s. Kap. 3.6) gesammelt. Die Blattproben wurden am selben Ast, an dem auch die Gaswechsellmessungen durchgeführt wurden, entnommen. Diese Proben sollten Aufschluss über den Einfluss der Erlenphytophthora-Erkrankung auf den Blattgehalt verschiedener Photosyntheseprodukte, wie Glucose, Fructose, Saccharose und Stärke geben. Des Weiteren wurde ebenfalls der Xylosegehalt der Blattproben ermittelt; jedoch waren die Blattgehalte gering (im Mittel  $1\text{-}3\text{ mg g}^{-1}$  TS). Die Xyloseergebnisse flossen in die Berechnung der Gesamtzucker- und Gesamtkohlenhydrat-Blattspiegelwerte ein. Anhand der Blattproben galt es, die Hypothese zu prüfen, ob es bei den symptomtragenden Bäumen infolge der Phloemzerstörung am Stammfuß zu einer Endprodukthemmung der Photosynthese kommt, welche sich in erhöhten Kohlehydratgehalten der Blätter widerspiegelt.

Zur Prüfung dieser Hypothese wurden am Freilandstandort von allen acht Versuchsbäumen in der Vegetationsperiode 2003 einmal im Monat (Juni-September) zur Mittagszeit (zwischen 12 und 13 Uhr Mitteleuropäischer Zeit) wie in Kap. 3.6 beschrieben Blattproben gewonnen. Darüber hinaus wurden eventuelle Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven hinsichtlich der diurnalen Rhythmik der Assimilatgehalte der Blätter anhand eines Tagesganges Mitte August 2003 untersucht. Für jeden Entnahmezeitpunkt wurden je Baum fünf Blätter einzeln analysiert und anhand der Werte der mittlere Kohlenhydratgehalt der Blätter eines Baumes (Blattspiegelwert) kalkuliert. Anhand dieser Einzelbaum-Blattspiegelwerte wurde der mittlere Blattspiegelwert der vier symptomtragenden und vier symptomlosen Bäume berechnet (Blattspiegelwert des Kollektivs).

#### 4.1.10.1 Jahresverlauf 2003

Trotz geringerer Nettophotosyntheseleistung zeigten die symptomtragenden Bäume über die Vegetationsperiode 2003 hinweg ähnlich hohe mittlere Glucose- und Fructose-Blattspiegelwerte wie symptomlose Bäume. (Abb. 4-15 a, c) Die Jahresgänge der Einfachzucker der beiden Kollektive verliefen sehr ähnlich (nahezu synchron), wobei die Werte der symptomlosen Bäume fast durchgängig geringfügig über denen des symptomtragenden Kollektivs lagen. Dieser geringe Unterschied der mittleren Blattspiegelwerte erwies sich bei der Glucose im Mittelwertvergleich (t-Test) nur im Juni (bei einseitigem Test) und September (zweiseitig) als schwach signifikant ( $p \leq 0,05$ ), jedoch nicht im Hochsommer (Juli und August) zur Zeit der deutlichsten Beeinträchtigung der Nettophotosyntheseleistung bei symptomtragenden Bäumen (Abb. 4-15 a). Der mittlere Blattspiegelwert für Fructose (Abb. 4-15 c) der symptomtragenden Bäume zeigte sich im Mittelwertvergleich ebenfalls nur zum Ende der Vegetationszeit als signifikant erniedrigt ( $p \leq 0,01$ ).

Hinsichtlich der Dynamik der Jahresverlaufes des Blattspiegelwerte für Saccharose (Abb. 4-15 e) glichen sich die beiden Kollektive ebenfalls, jedoch zeigten die symptomtragenden Bäume mit fortschreitender Vegetationszeit (ab Juli) zunehmend höhere Blattwerte des Transportzuckers. Die deutlichsten Unterschiede zeigten sich im August und September ( $p \leq 0,05$ ). Dies lässt darauf schließen, dass der Assimilat-Abtransport ins Phloem des Stammes bei den Blättern symptomtragender Bäumen beeinträchtigt war. Die im Jahresverlauf zunehmenden Unterschiede lassen sich mit der ebenfalls steigenden Exportrate der Blätter an Assimilate in andere Pflanzenteile erklären, sobald die Assimilationsorgane vollständig ausdifferenziert sind.



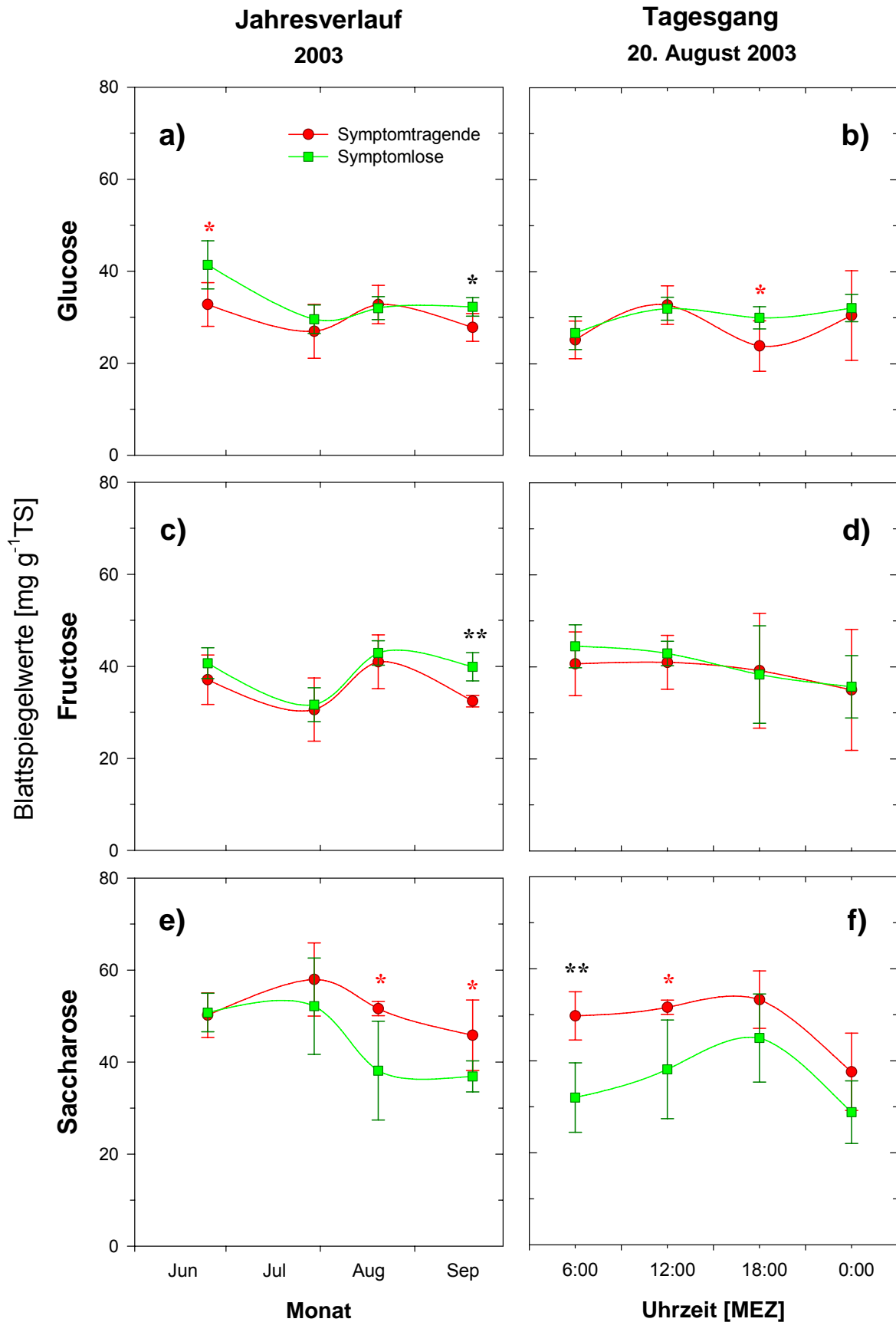


Abbildung 4-15 a-f: Jahres- und Tagesverlauf der Zucker-Blattspiegelwerte symptomtragender und symptomloser Bäume in 2003. Mittelwerte der beiden Kollektive  $\pm$  Standardabweichung. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte im t-Test sind mit Sternen (rot=einseitig, schwarz=zweiseitig signifikant) markiert, \*  $p \leq 0,05$  und \*\*  $p \leq 0,01$ .

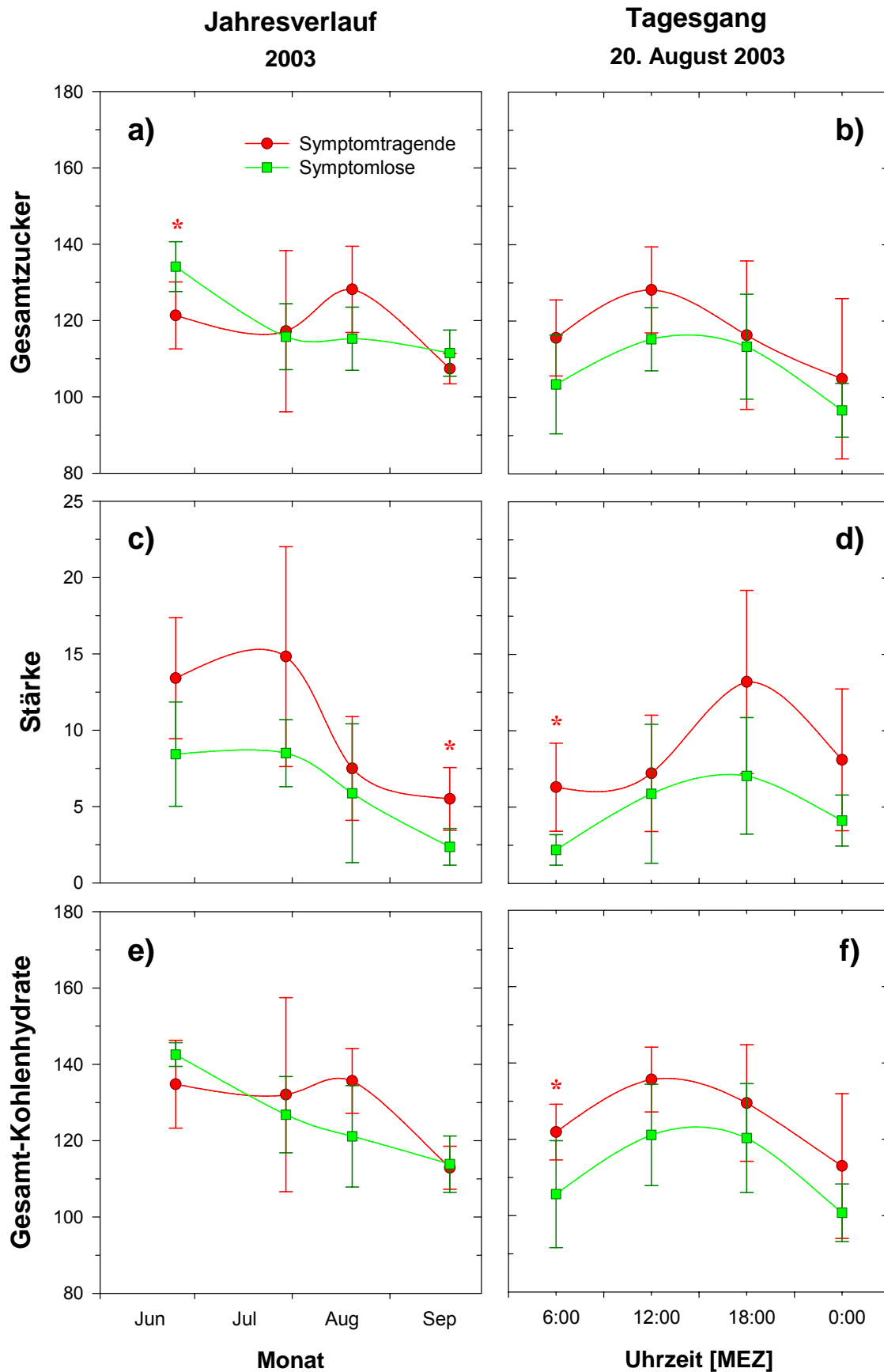


Abbildung 4-16 a-f: Jahres- und Tagesverlauf der Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte symptomtragender und symptomloser Bäume in 2003. Mittelwerte der beiden Kollektive  $\pm$  Standardabweichung. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte im t-Test sind mit Sternen (rot $\approx$ einseitig, schwarz $\approx$ zweiseitig signifikant) markiert, \*  $p \leq 0,05$  und \*\*  $p \leq 0,01$ .

Der Jahresverlauf aller gemessenen Zucker (Abb. 4-16 a, Gesamtzucker: Glucose, Fructose, Xylose und Saccharose) zeigte insbesondere im August einen leicht erhöhten Blattspiegelwert (nicht statistisch signifikant) bei symptomtragenden Bäumen im Vergleich zu symptomlosen Bäumen. Im Juli und September wiesen die Blätter beider Kollektive ähnliche Gesamtzuckerwerte auf. Im Juni lagen die Werte der symptomtragenden Bäume etwas unter denen der symptomlosen Bäume (einseitig signifikant).

Der Jahresverlauf der Stärke-Blattspiegelwerte (Abb. 4-16 c) zeigte bei beiden Kollektiven eine Abnahme der Werte zum Ende der Vegetationszeit, wobei die Mittelwerte der symptomtragenden Bäume durchweg über denen der symptomlosen Bäume lagen. Dieser Trend erwies sich jedoch nur im September als signifikant ( $p \leq 0,05$ , t-Test einseitig). Der Jahresverlauf der Gesamt-Kohlenhydrate (Abb. 4-16 e) wird maßgeblich durch die Zucker bestimmt und gleicht demzufolge dem der Gesamtzucker-Blattspiegelwerte.

#### **4.1.10.2 Tagesgang 20. August 2003**

In den Tagesgängen der Blattspiegelwerte für Fructose und Glucose zeigten sich weder eine ausgeprägte diurnale Rhythmik, noch wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven (4-15 b und 4-15 d). Die Blattspiegelwerte der Saccharose und Stärke wiesen hingegen eine deutliche Tagesrhythmik bei beiden Kollektiven auf, wobei die Mittelwerte der symptomtragenden Bäume konstant über denen der symptomlosen Bäume liegen (Abb. 4-15 f und 4-16 d). Dieser Trend findet sich konsequenterweise in den Tagesgängen des Gesamtzuckers und der Gesamtkohlenhydrate wieder (Abb. 4-16 b und f). Signifikant höhere Mittelwerte (t-Test) weisen die symptomtragende Bäume jedoch nur zu Tagesbeginn im Fall der Saccharose, Stärke und der Gesamtkohlenhydrate auf (Abb. 4-15 f und 4-16 d, f).

#### 4.1.10.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen

Anhand der Ergebnisse der Kohlenhydratbestimmungen an Blättern bestätigte sich die Annahme, dass die *Phytophthora*-Erkrankung in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Gaswechselformen einen Einfluss auf den Blattgehalt der aus der CO<sub>2</sub>-Assimilation hervorgehenden Zucker (Glucose und Fructose) und deren Transport- (Saccharose) und Speicherform (Stärke) hat.

Die geringeren Nettphotosyntheseraten der symptomtragenden Bäume spiegeln sich jedoch nur geringfügig im Blattgehalt der Monosaccharide Glucose und Fructose wider. Sowohl im Jahresgang als auch im Tagesgang zeigten sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven.

Die Beeinträchtigung des Assimilattransportes (Phloemstromes) scheint massiv zu sein, da trotz deutlich geringerer Nettphotosyntheseraten über nahezu die gesamte Vegetationsperiode hinweg konstant höhere Saccharose- und Stärke-Blattspiegelwerte bei Blättern symptomtragender Bäume gemessen wurden. Der Tagesgang der Stärke zeigte dies ebenfalls deutlich an: Die Stärkewerte waren am späten Nachmittag bei symptomtragenden Bäumen außergewöhnlich erhöht (Abb. 4-16 d).

Die durch Addition der bestimmten Zucker- und Stärkeblattspiegelwerte ermittelten Gesamtzucker- und Gesamtkohlenhydrat-Blattspiegelwerte wiesen im Jahresverlauf in den Hochsommermonaten Juli und insbesondere August auf einen leicht erhöhten (statistisch nicht signifikanten) Gesamt-Assimilatgehalt der Blätter symptomtragender Bäume hin. Beim Tagesgang im August erwies sich dieser Trend der Ergebnisse als ebenfalls konsistent. Insgesamt deuten die Ergebnisse der Blatt-Kohlenhydratanalysen auf eine massive Beeinträchtigung des „Phloem loading“ bei symptomtragenden Bäumen hin, da trotz erniedrigter Photosyntheseleistung die Blätter dieser Bäume ähnlich hohe und teilweise sogar deutlich höhere Saccharose-, Stärke- und Gesamtzucker- sowie Gesamtkohlenhydrat-Blattspiegelwerte aufwiesen. Dies zeigte sich sowohl im Jahresverlauf als auch im Tagesgang.

## 4.2 Ergebnisse der Infektionsversuche

### 4.2.1 Phytopathologische Arbeiten

#### 4.2.1.1 Ergebnisse der Isolierung aus dem Freiland

Im Herbst 2003 konnten aus gewässerbegleitenden Erlenbeständen im Einzugsgebiet der Flüsse Glonn und Amper (im Raum Dachau und Freising) insgesamt fünf verschiedene Isolate der Erlen-*Phytophthora* gewonnen werden (Tab. 4-13). Alle Isolate wurden aus Gewebe von Rindennekrosen am Stamm befallener Erlen gewonnen. Die Isolate wurden im Winter 2003/2004 anhand ihrer physiologischen, morphologischen und genetischen Eigenschaften im Labor charakterisiert und anschließend in die hauseigene Mykothek aufgenommen (Registrierung durch IFB-Nr.).

Lfd. Nr.	Herkunft der Isolate		Erlenart	Baumalter (Jahre)	Probenart	Entnahmedatum	IFB-Nr.
	Name des nächstgelegenen Ortes (Kreis/Land)	Geograph. Lage					
1	Asbach (DAH/BY)	48°23'N, 11°28'O	<i>A. glutinosa</i>	~10	Rinde	29. Okt. 2003	ALN 401
2	Zolling/Erlau (FS/BY)	48°27'N, 11°46'O	<i>A. glutinosa</i>	~20	Rinde	4. Nov. 2003	ALN 402
3	Haindlfing/Moos (FS/BY)	48°27'N, 11°44'O	<i>A. glutinosa</i>	~50	Rinde	5. Nov. 2003	ALN 403
4	Haindlfing/Moos (FS/BY)	48°27'N, 11°44'O	<i>A. glutinosa</i>	12-15	Rinde	7. Nov. 2003	ALN 404
5	Haindlfing/Moos (FS/BY)	48°27'N, 11°44'O	<i>A. glutinosa</i>	12-15	Rinde	8. Nov. 2003	ALN 405

Tabelle 4-13: Herkunft der im Herbst 2003 im Freiland gesammelten *Phytophthora alni* ssp. Isolate. IFB (Institute of Forest Botany) = Fachgebiet Krankheiten der Waldbäume der TU München. DAH = Dachau, FS = Freising, BY = Bayern.

#### 4.2.1.2 Charakterisierung der Isolate

Im Rahmen der Charakterisierung der im Freiland gesammelten Isolate wurde zu Vergleichszwecken ein Referenzisolat von *Phytophthora alni* subsp. *alni* benutzt. Das Referenzisolat stammte aus der Mykothek des Fachgebietes Krankheiten der Waldbäume der Technischen Universität München. Es handelte sich dabei um ein Reisolat des ursprünglichen Isolates IFB-ALN 235. Dieses wurde im November 2001 aus einer Rindennekrose in ca. 1 m Höhe am Stamm einer alten ca. 80 Jahre alten Schwarzerle im Überflutungsbereich des Mains bei Hallstadt (Bayern) von Dr. Thomas Jung isoliert. Das Reisolat ALN 377 stammt aus dem Oktober 2003. Es wurde nach einem Pathogenitätstest aus einer Schwarzerlen-Rindennekrose isoliert. Das Isolat ist aggressiv und gehört zur Standardform der Erlen-*Phytophthora* bzw. zur Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* (persönliche Mitteilung T. Jung 2006).

##### 4.2.1.2.1 Physiologische Charakterisierung durch Kulturwachstumsversuche

In Kulturwachstumsversuchen auf Karottenagar zeigten die Isolate 2, 3 und 5 ebenso wie das Referenzisolat von *Phytophthora alni* subsp. *alni* (ALN 377) ein maximales radiales Wachstum im Dunkeln bei einer Lufttemperatur von ca. 25°C (Abb. 4-17). Die Isolate 1 und 4 hingegen wiesen ein Wachstumsoptimum bei höheren Temperaturen (ca. 27°C) auf. Hinsichtlich der Temperaturobergrenze für das Kulturwachstum (Maximumtemperatur) konnten zwischen den getesteten Isolaten keine Unterschiede festgestellt werden. Alle Isolate wuchsen weiterhin mit geringen Zuwachsraten bei 30°C Lufttemperatur. Bei 32°C stellten alle Isolate das Wachstum nahezu ein, die Tageszuwachsrate fielen auf Werte unter 1 mm d<sup>-1</sup>.

Die Isolate zeigten bei 25°C auf Karottenagar radiale Zuwachsraten zwischen 5,0 und 8,0 mm d<sup>-1</sup>; Werte die in der Literatur für die Standardform *Phytophthora alni* subsp. *alni* angegeben werden (Brasier 2004).

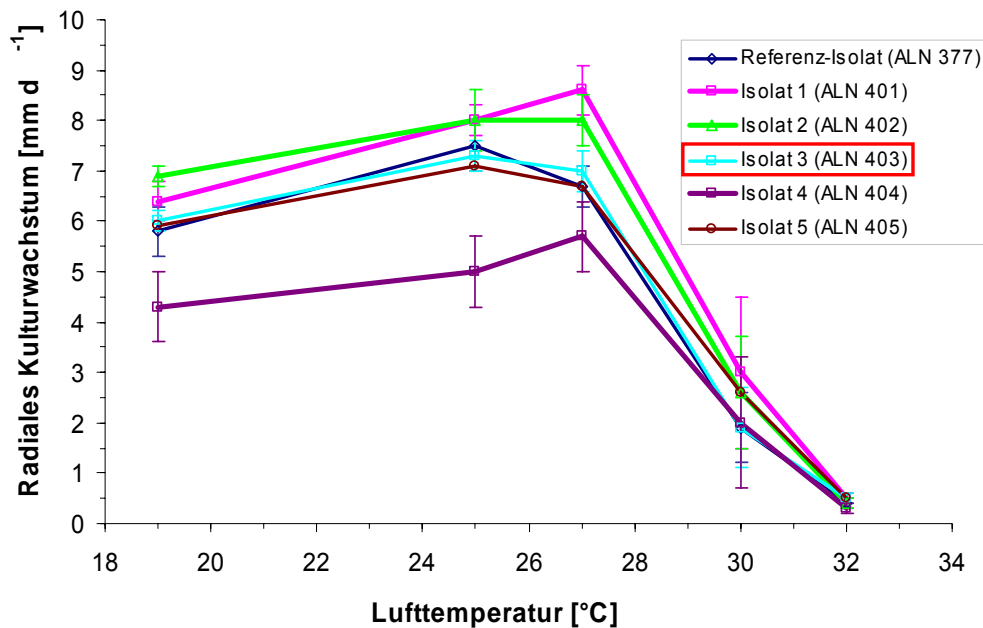


Abbildung 4-17: Mittelwerte des radialen Kulturwachstums von fünf verschiedenen aus dem Freiland (im Herbst 2003) gewonnenen *Phytophthora alni* Isolaten und eines Referenzisolates. Dargestellt sind die Mittelwerte ( $\pm$  Standardabweichung) des radialen Zuwachses von fünf Kulturen je Isolat pro Temperaturstufe (19, 25, 27, 30 und 32°C).

#### 4.2.1.2.2 Morphologische Charakterisierung der Isolate

##### Kulturwachstumsmuster auf Karottenagar

Alle gesammelten *Phytophthora alni* Isolate zeigten auf Karottenagar (CA) nach 14 Tagen Inkubation im Dunkeln bei 25°C in ihren Kulturwachstumsmustern hohe Übereinstimmung mit dem Referenzisolat. Durchweg wiesen die getesteten Isolate filzige, flach auf dem Substrat anliegende Myzelkulturen mit wenig oder keinem Luftmyzel auf (Abb. 4-18). Die Kulturen zeichneten sich häufig durch unregelmäßige äußere Wachstumsgrenzen aus, was auf sektorweise unterschiedlichen Zuwachs der Kolonien beruhte. Dadurch erscheinen die Kulturen teilweise leicht stern- oder rosettenförmig. Die beschriebenen Kulturwachstums-Charakteristika sind typisch für die Standardform des Pathogens bzw. die Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* (Brasier et al. 2004).

Bei höheren Lufttemperaturen als 25°C zeigten die Isolate veränderte Wachstumsmuster; so nahm bereits bei 27°C bei allen Isolaten die Bildung von Luftmyzel zu. Bei 30 und 32°C war das Kulturwachstum sehr gering und unregelmäßig, sodass sich auch nach 14 Tagen Inkubation keine deutlichen Muster ergaben.

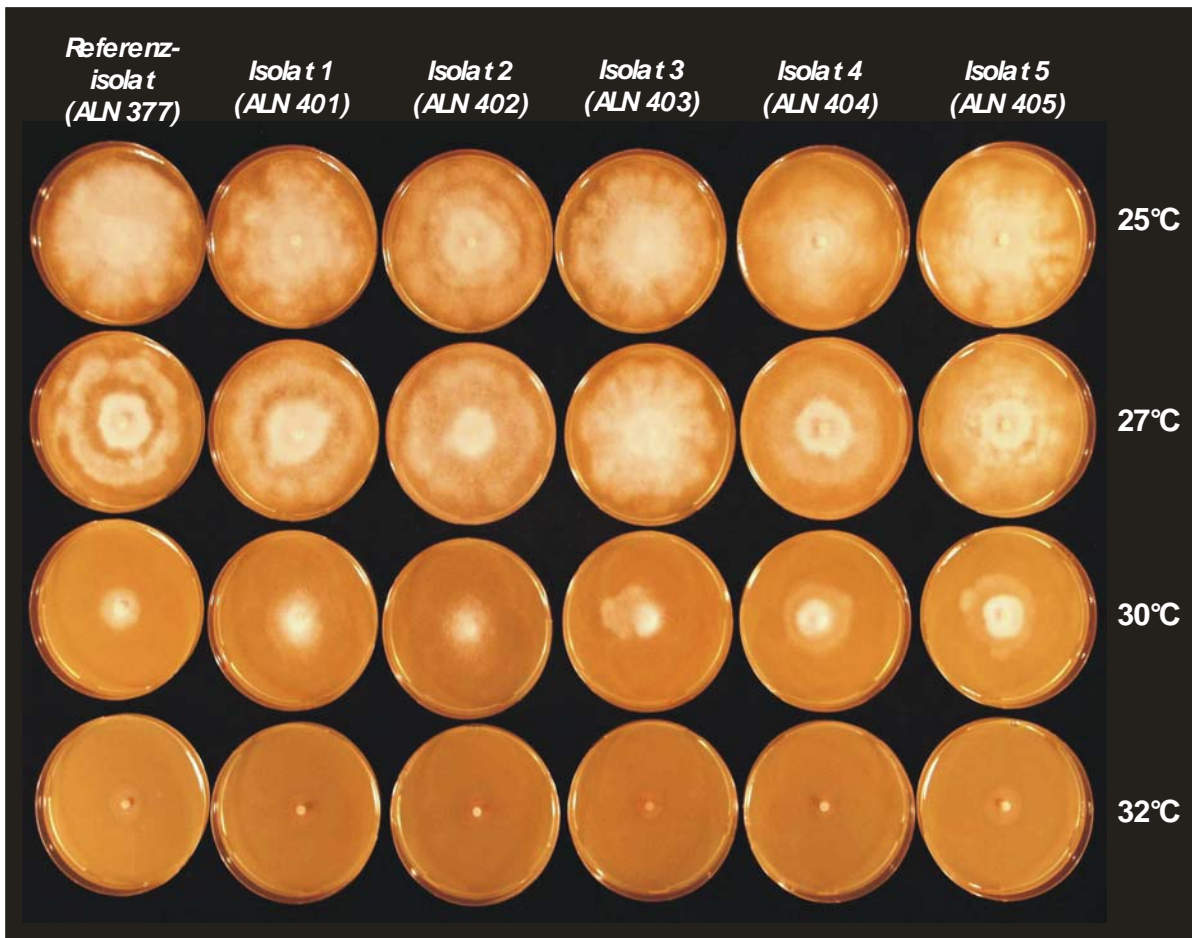


Abbildung 4-18: Kulturmuster des Referenzisolats (ALN 377) und der im Herbst 2003 im Freiland gesammelten Isolate 1-5 (ALN 401-405) auf 20 ml Karottenagar (CA) nach 14 Tagen Inkubation im Dunkeln bei 25°, 27°, 30° und 32°C.°

### Morphologie der Gametangien (Antheridien- und Oogonienform)

Alle im Freiland aus Erlenrinde gewonnenen *Phytophthora* Isolate erwiesen sich als homothallisch (selbstfertil), so wie es für die Art *Phytophthora alni* typisch ist. Die Isolate produzierten in Einzelkultur bei 19° C in Dunkelheit auf Karottenagar (CA) nach zehntägiger Inkubation regelmäßig und reichhaltig Gametangien. Alle fünf Isolate zeigten bei Betrachtung im Lichtmikroskop meist dickwandige Oogonien mit einer überwiegend wellig bis leicht warzig ornamentierten Oberflächenstruktur (Abb. 4-19 a-d). Selten waren hingegen vollständig glattwandige oder mit koralloiden Ausstülpungen versehene Oogonienoberflächen zu beobachten. Die Oogonien waren häufig kegelförmig bzw. konisch spitz zulaufend gestielt; ein hoher Anteil wies abortive Oospheren auf. Die überwiegend zweizelligen und langgestreckten Antheridien saßen bei allen Isolaten fast immer amphigyn am Oogonium an. Die beschriebenen, bei allen fünf Isolaten vorherrschenden Gametangien-Charakteristika sind für die Standardform des Pathogens *Phytophthora alni* subsp. *alni* typisch.



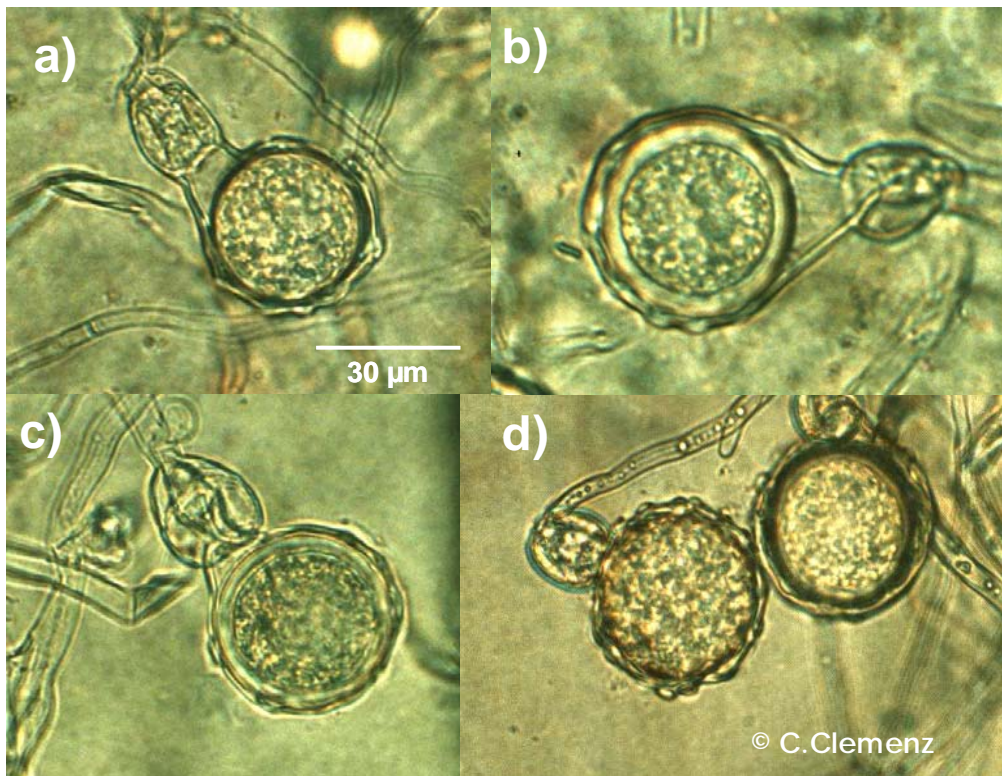


Abbildung 4-19 a-d: Mikroskopische Aufnahmen der Gametangien von Isolat 3 (ALN 403, a-c) und Isolat 5 (ALN 405, d) nach 10 Tagen Wachstum der Kulturen auf Karottenagar (CA) bei 19°C in Dunkelheit.

#### 4.2.1.2.3 Molekularbiologische Charakterisierung mittels PCR-RFLP

Um abschließende Gewissheit über die Unterart der aus dem Freiland gewonnenen *Phytophthora alni* Isolate zu erhalten, wurden diese mittels PCR-RFLP-Methode genetisch mit einem Referenzisolat (ALN 377) der aggressiven Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* verglichen.

Nach DNA-Extraktion aus frischem Myzel der Isolate (14 Tage alte Kulturen) und anschließender PCR mit den spezifischen Primern ITS4 und IST6 (Bonants et al. 1997 und Brasier et al. 1999) wurde ein ca. 940 Basenpaare umfassender Abschnitt der rDNA der Isolate vervielfältigt. Die amplifizierten Polynukleotide umfassten die ITS1-, 5.8S-Gen- und ITS2-Region der rDNA und wurden in einem weiteren Arbeitsschritt mit fünf verschiedenen Restriktionsenzymen verdaut (AclI, AluI, EcoO109I, MspI und TaqI). Abschließend wurden die nach dem Verdau entstandenen kurzen Polynukleotide auf Agarosegelen aufgetrennt. Da alle fünf gesammelten Freiland-Isolate nach Verdau ihrer rDNA durch die genannten Restriktionsenzyme identische Bandenmuster mit dem Referenzisolat aufwiesen (Abb. 4-20), sind sie alle der aggressiven Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* zuzuordnen.

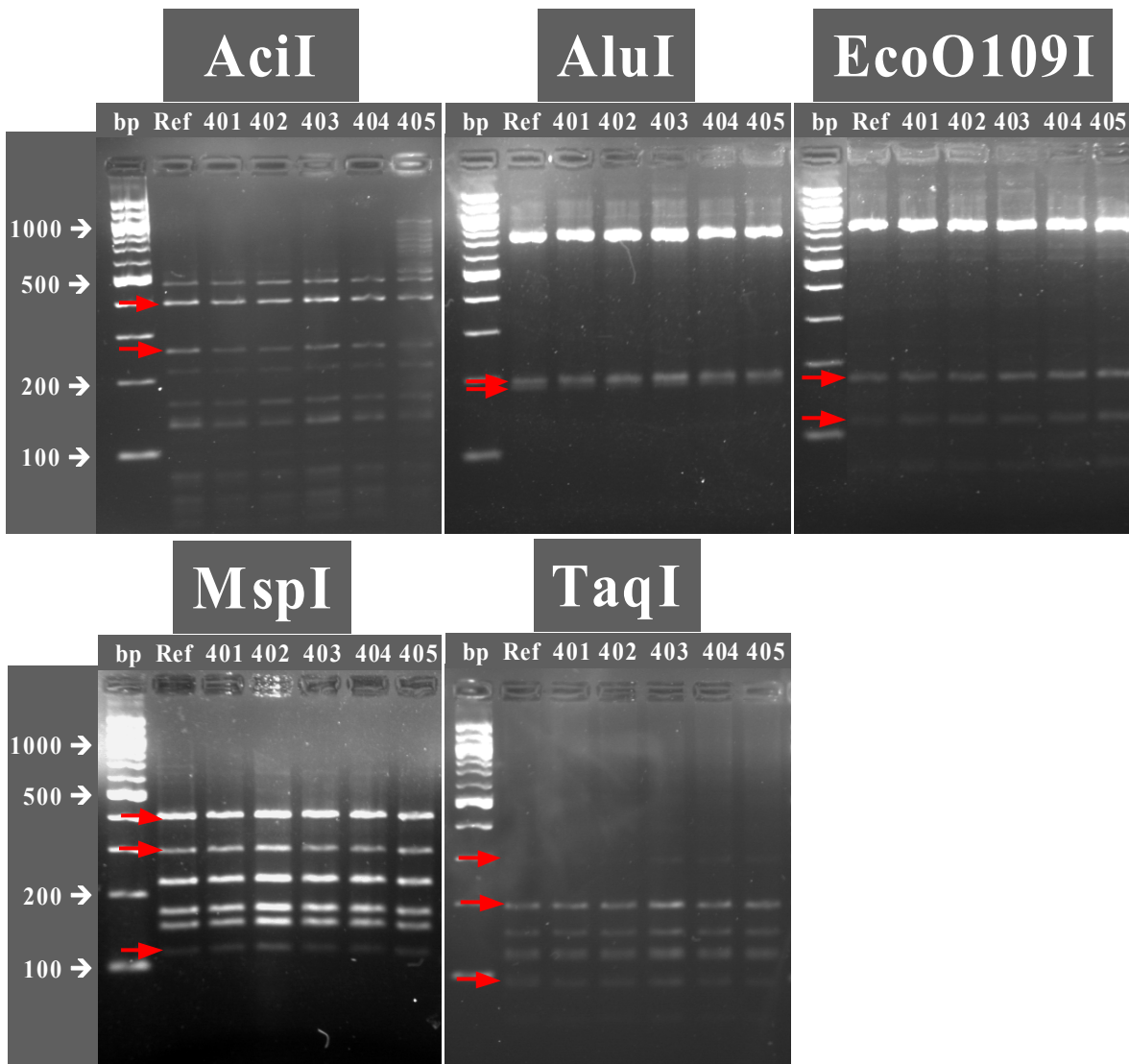


Abbildung 4-20: Agarosegele nach Verdau der ITS-Sequenzen der Freiland-Isolate (ALN 401-405) und des Referenzisolates (ALN 377) mit den Restriktionsenzymen *Acil*, *AluI*, *EcoO109I*, *MspI* und *TaqI*. Für die genetische Charakterisierung entscheidende Banden sind mit roten Pfeilen markiert.

#### 4.2.1.2.4 Zusammenfassung der Charakterisierungsergebnisse

In der Zusammenschau der physiologischen, morphologischen und genetischen Charakterisierungsergebnisse (Tab. 4-14) zeigte sich, dass alle im Herbst 2003 gesammelten Isolate in der Mehrzahl der untersuchten Eigenschaften eine hohe Übereinstimmung mit dem Referenzisolat aufwiesen und dementsprechend alle Isolate der aggressiven Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* zugeordnet werden konnten. Für die im Frühjahr 2004 folgenden Infektionsversuche an dreijährigen Erlentopfpflanzen wurde aus den fünf frischgewonnen Isolaten das Isolat 3 (ALN 403) ausgewählt, da es in Bezug auf Literaturangaben (Brasier 2004) für die Unterart *Phytophthora alni* subsp. *alni* besonders typische Merkmalsausprägungen zeigte und in der Summe aller untersuchten Charakteristika dem Referenzisolat besonders ähnlich war.

Merkmal	Ausprägung
<b>Physiologie</b>	
<b>Optimumtemperatur</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 25°C: Isolat Nr. 2, 3, 5 u. Referenz-Isolat (ALN 377)</li> <li>○ 27°C: Nr. 1 u. 4</li> </ul>
<b>Maximumtemperatur</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 32°C: Alle Isolate inklusive Referenz-Isolat</li> </ul>
<b>Kulturwachstum</b>	
<b>Muster/Form</b> nach 14 Tagen auf 20 ml Karottenagar (CA) bei 25°C in Dunkelheit	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Flach auf dem Substrat anliegend, wenig Luftmyzel, bei allen Isolaten relativ ähnlich, leicht stern- bzw. rosettenförmige Kulturmuster</li> </ul>
<b>Wuchsgeschwindigkeit (mm d<sup>-1</sup>)</b> auf CA bei 25°C in Dunkelheit, radiale Kulturzuwachsermittlung nach 72h	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Alle Isolate mit einer Ausnahme zeigten ähnlich hohe mittlere radiale Zuwachsraten zwischen 7,1 und 8,0 mm/d (Referenz 7,5 mm/d),</li> <li>○ Isolat Nr. 4 blieb mit 5,0 mm/d deutlich zurück</li> </ul>
<b>Morphologie der Gametangien</b>	
<b>Oogonienform</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bei allen Isolaten meist dickwandig mit überw. welliger oder leicht ornamentierter Oberfläche, häufig abortiv</li> </ul>
<b>Antheridienform</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bei allen Isolaten häufig zweizellig und amphigyn am Oogonium anliegend; somit identisch mit dem Referenz-Isolat</li> </ul>
<b>ITS Typ</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Alle Isolate zeigen die selben Polymorphismen wie das Referenz-Isolat nach Verdau der ITS 1 und ITS 2 Regionen der rDNA mit den beschriebenen Enzymen</li> </ul>

Tabelle 4-14: Zusammenfassende Darstellung der Charakterisierung der gewonnenen *Phytophthora alni* Isolate anhand physiologischer, morphologischer und genetischer Kriterien.

#### 4.2.1.3 Mortalität der stamminokulierten Erlen-topfpflanzen

Während der Infektionsversuche an dreijährigen Erlen-topfpflanzen starb in der ersten Vegetationsperiode (2004) nach Versuchsbeginn nur ein zweifach stamminokulierter Baum (Abb. 4-21, 2x *P. alni*, Nr. 1). Diese Erle verlor Anfang August 2004 (ca. 120 dpi) alle Blätter und vertrocknete vollständig (inkl. Knospen). Alle anderen Bäume zeigten, verglichen mit den Kontrollen, teilweise massive Blattverluste. Sie waren jedoch im Herbst 2004 noch nicht abgestorben.

Im folgenden Frühjahr (Anfang April 2005, ca. 360 dpi) vermochten jedoch nur noch drei Erlen-topfpflanzen der einfachen Stamminokulation (Nr. 3, 5 und 6) und eine Erlen-topfpflanze der zweifachen Stamminokulation (Nr. 5) wieder auszutreiben, wobei eine Erle der einfachen Stamminokulation während der Blattentfaltung Ende April (ca. 380 dpi) trotz wassergesättigtem Wurzelraum vertrocknete (Abb. 4-21, 1x *P. alni* Nr. 5). Dementsprechend standen in der Vegetationsperiode 2005 nur noch drei von anfänglich zwölf stamminfizierten Erlenpflanzen für weitere Untersuchungen zur Verfügung.

Die Mortalitätsrate aller *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminfizierten Erlen-topfpflanzen lag also circa ein Jahr nach Inokulation bei 75%. Bei getrennter Betrachtung der Inokulationsvarianten lag der Anteil abgestorbener Erlen bei der zweifachen Stamminokulation mit 83% etwas höher als bei der einfachen Stamminokulation mit 67%.

Alle zwölf Kontrollpflanzen (sechs je Inokulationsvariante) der Infektionsversuche überlebten den gesamten Versuchszeitraum bis zur Ernte Ende September 2005. Keine der Kontrollpflanzen wies während des gesamten Zeitraumes Anzeichen einer *Phytophthora*-Infektion noch sonstige auffällige Vitalitätsmängel auf. Stamm und Wurzeln der Kontrollpflanzen wurden nach Ernte der Bäume auf verdächtige Veränderungen (Läsionen bzw. Nekrosen) ohne Befund untersucht.

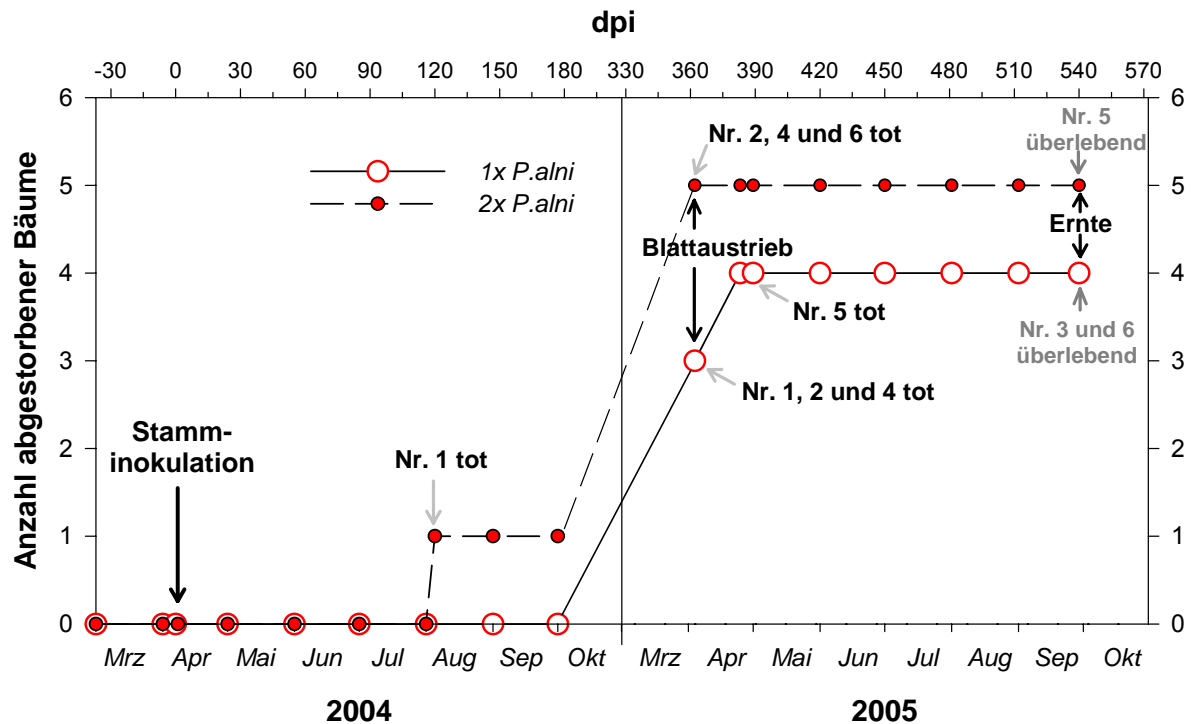


Abbildung 4-21: Mortalität der dreijährigen Erlen topfpflanzen (*Alnus glutinosa*) in den Jahren 2004 und 2005 nach einfacher und zweifacher Stamminokulation mit *Phytophthora alni* subsp. *alni*.

#### 4.2.1.4 Pathogenwachstum im Wirtsgewebe

##### 4.2.1.4.1 Vertikale Läsionsentwicklung stammaufwärts

Sowohl bei einfacher (einseitiger) als auch bei zweifacher (zweiseitiger) Stamminokulation mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* zeigte sich anhand der Messung der pathogenbedingten Läsionsentwicklung stammaufwärts ein unterschiedliches Wachstum des Pathogens im Rindengewebe dreijähriger Erlen (Abb. 4-23 a-c). Die Reaktionen der einzelnen stamminfizierten Erlen topfpflanzen reichten von nahezu vollständiger Resistenz bis hin zu extrem hoher Anfälligkeit. Dies ist sicherlich mit der genetischen Heterogenität innerhalb der Wirtspflanzen und daraus resultierenden individuell unterschiedlichen Wirt-Parasit-Interaktionen, zu erklären, da keine Klone verwendet wurden. Die vertikale Läsionsentwicklung stammaufwärts bei einer sehr anfälligen Erle (Baum Nr. 1 der einfachen Stamminokulationsvariante) ist in Abb. 22 dargestellt. Insbesondere im Falle der drei „überlebenden“, im folgenden Frühjahr wieder austreibenden, Erlen Nr. 3 und 6 der einfachen und Nr. 5 der zweifachen Stamminokulation konnte sich *Phytophthora alni* subsp. *alni* nur mit geringem Erfolg vertikal im Kortexgewebe ausbreiten (Abb. 23 a-c).





Abbildung 4-22: Vertikale Rindenläsionsentwicklung nach einseitiger Stamminokulation mit *P. alni* subsp. *alni* in ca 7 cm Stammhöhe bei einer sehr anfälligen Schwarzerlentopfpflanze in der Vegetationsperiode 2004.

Die durchschnittliche Wachstumsrate des Pathogens bei hoch anfälligen Individuen über die Vegetationsperiode 2004 hinweg (von Anfang April bis Ende Oktober) betrug bei der einfachen Inokulation 1,6 mm pro Tag und bei der zweifachen Inokulation 1,7 mm pro Tag (Maximalwerte). Der mittlere Läsionsfortschritt in diesem Zeitraum der gesamten Kollektive der einfach bzw. zweifach stamminokulierten Erlen betrug hingegen nur 0,8 bzw. 0,7 mm pro Tag (Mittelwerte). Höchste durchschnittliche vertikale Wachstumsraten des Pathogens wurden bei einfacher Inokulation im April mit

1,4 mm pro Tag und bei zweifacher Inokulation im September und Oktober mit 1,2 mm pro Tag beobachtet. Bei der zweifachen Infektion war das Pathogenwachstum auf der Nordseite der Stämmchen im Vergleich zur südlich exponierten Stammseite zum Ende der Vegetationsperiode hintendenziell etwas höher (Abb. 4-23 b, c und 4-24). Im Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test) erwiesen sich diese Unterschiede jedoch als statistisch nicht signifikant. Die über den gesamten Beobachtungszeitraum vergleichsweise stärkere durchschnittliche vertikale Läsionsentwicklung bei der einfachen Inokulationsvariante (Abb. 24), erwies sich nur im April als signifikant ( $p \leq 0,05$ ).

Im Jahresverlauf des mittleren Läsionsfortschritts zeichnete sich bei beiden Inokulationsvarianten eine mehrphasige Wachstumsdynamik des Pathogens ab. Wobei die beiden Inokulationsvarianten hinsichtlich der Rhythmik des Läsionsfortschritts einige Unterschiede zeigten (Abb. 4-25).

Im zweiten Jahr der Infektionsversuche kam es in der Vegetationsperiode (2005) zu keiner weiteren vertikalen Läsionsentwicklung bei den überlebenden stamm-inokulierten Erlen. Dies lässt darauf schließen, dass das Pathogen durch starken Frost im Winter 2004/2005 abgetötet oder vom Wirt entgültig eingegrenzt wurde.

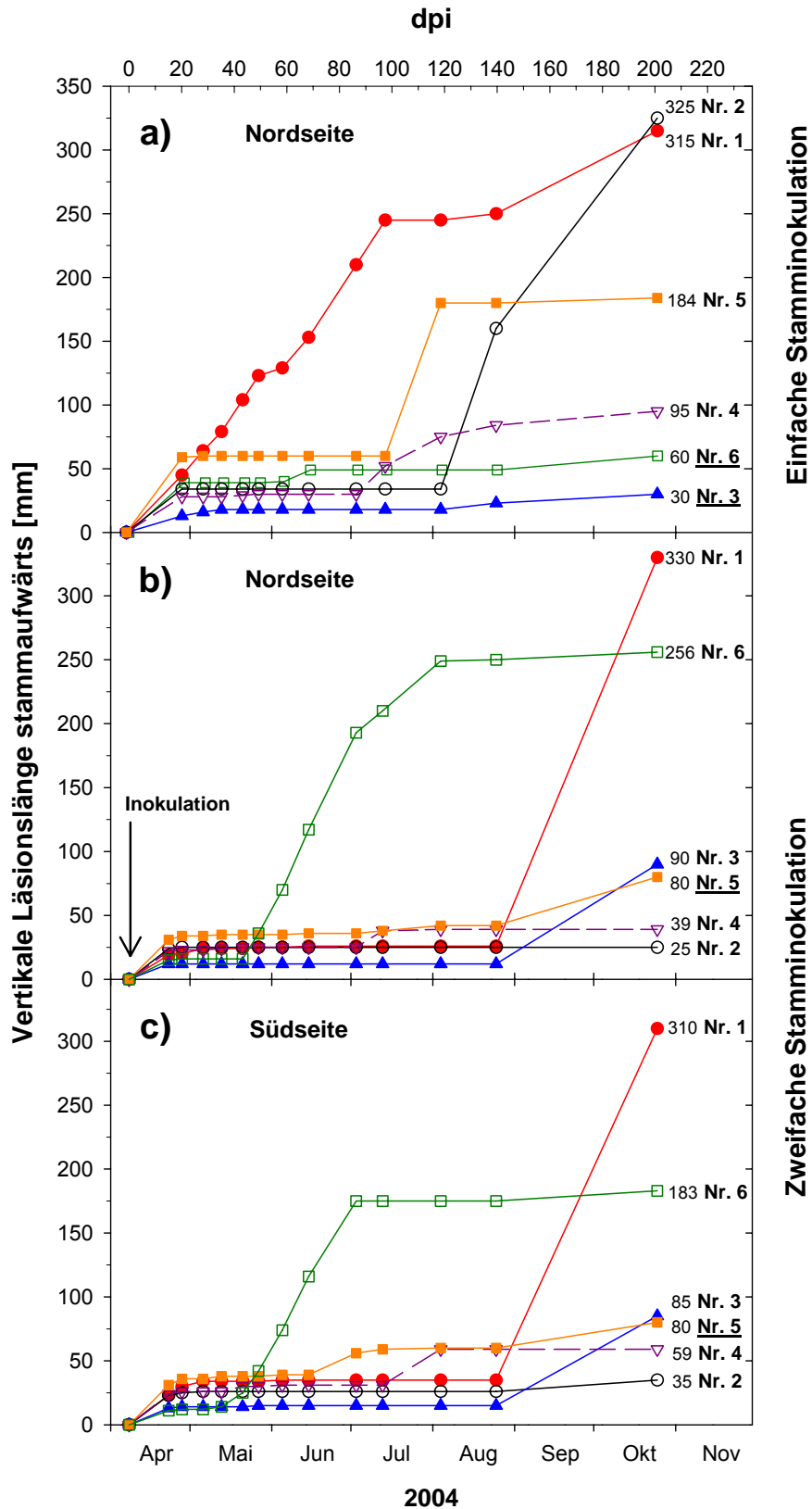


Abbildung 4-23 a-c: Einzelbaumdarstellung der Erhebungen des pathogenbedingten vertikalen Läsionsfortschritts in der Vegetationsperiode 2004 bei stamm-infizierten Erlen. Die Nummern der im Folgejahr (2005) vollständig wieder austreibenden Erlen sind unterstrichen dargestellt. Teilabbildung (a) stellt die Läsionsentwicklung bei einfach stamm-inokulierten Erlen, Teilabbildung (b) u. (c) bei zweifach stamm-inokulierten Erlen auf der nördlich (b) bzw. auf der südlich (c) exponierten Stammseite dar.



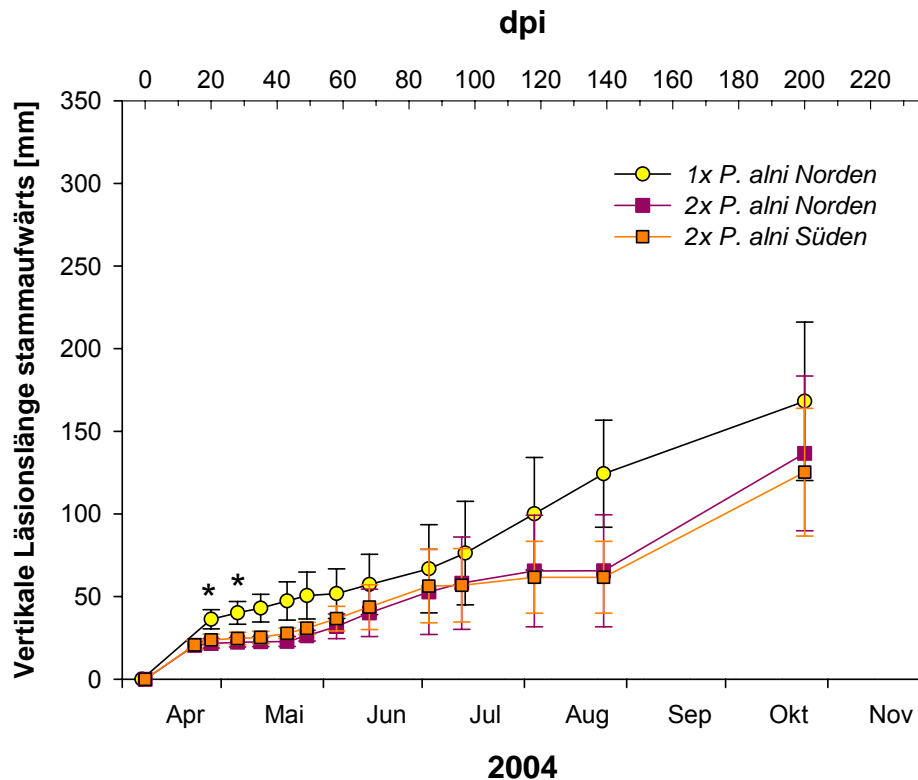


Abbildung 4-24: Jahresverlauf der Mittelwerte des vertikalen Läsionsfortschritts auf der Rindenoberfläche von einseitig und zweiseitig stamminkulierten Erlenpflanzen. Bei der einfachen Inokulation wurde das Pathogen auf der Nordseite des Stammes inseriert, bei der zweifachen Variante sowohl auf der Nord- als auch auf der Südseite. Jeder Verlauf repräsentiert den Mittelwert von jeweils sechs Bäumen ( $n=6$ ). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler der Mittelwerte dar (SE). Unterschiede der Mittelwerte der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante im einseitigen t-Test sind mit Sternen gekennzeichnet,  $* p \leq 0,05$ .

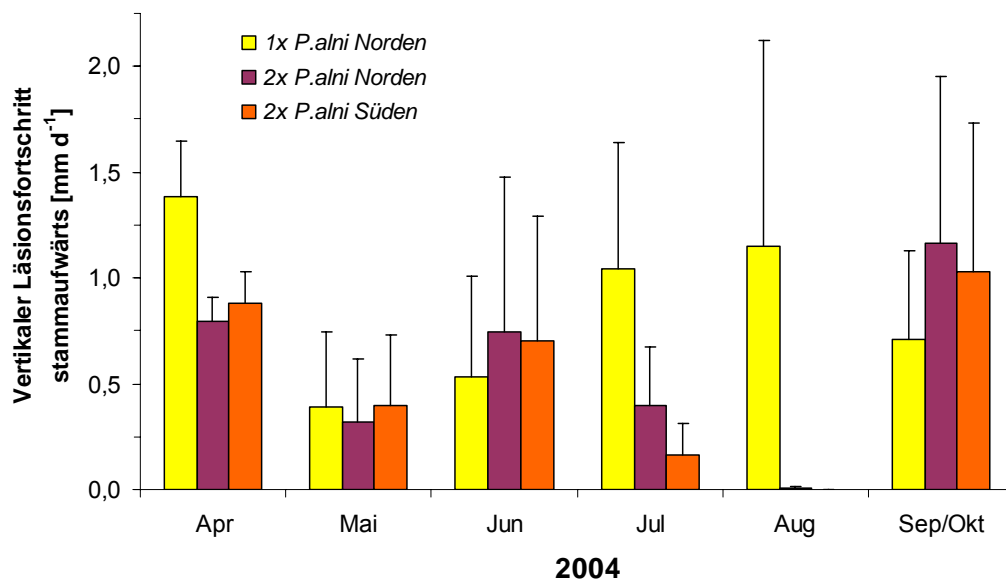


Abbildung 4-25: Mittlerer monatlicher vertikaler Läsionsfortschritt auf der Rindenoberfläche von einseitig und zweiseitig stamminkulierten Erlenpflanzen. Bei der einfachen Inokulation wurde das Pathogen auf der Nordseite des Stammes inseriert, bei der zweifachen Variante sowohl auf der Nord- als auch auf der Südseite. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert von jeweils sechs Bäumen ( $n=6$ ). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar (SE).

Bei beiden Varianten zeigte das Pathogen nach Inokulation im Frühjahr (Anfang April, vor Blattaustrieb) zunächst ein zügiges vertikales Wachstum (Abb. 4-25, April), doch bereits im Mai ging der mittlere Läsionsfortschritt bei beiden Varianten deutlich zurück. Im Fall der einfachen Stamminokulation stieg das vertikale Pathogenwachstum von Juni an in den Hochsommer hinein wieder stetig an, um im August ähnlich hohe Werte wie im April zu erreichen. Im Spätsommer und Herbst (September und Oktober) breitete sich das Pathogen mit mäßigem Fortschritt weiter im Kortextgewebe der einfach stamminfizierten Erlen aus. Bei den zweifach stamminokulierten Erlen hingegen war, nach einer kurzfristigen Steigerung des Läsionsfortschrittes im Juni, in den Hochsommermonaten Juli und August eine deutliche Depression des vertikalen Pathogenwachstums zu verzeichnen. Darauf folgte wieder ein sehr starker Läsionsfortschritt in den Herbstmonaten September und Oktober.

#### **4.2.1.4.2 Stammumfassende Läsionsentwicklung (Gürtelung)**

Wie bereits beschrieben (Kap. 3.9.4.3), wurde ebenfalls die durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* verursachte stammumfassende Rindenzerstörung (Gürtelung in % des Stammumfanges) im unteren Stammbereich anhand der Rindennekrosenentwicklung bei allen künstlich infizierten Erlenpflanzungen in der Vegetationsperiode 2004 erhoben.

Dies sollte sowohl die stammumfassende Ausbreitung des Pathogens und mögliche Abwehrreaktionen der einzelnen Bäume dokumentieren, als auch Aufschluss über das Ausmaß und die Dynamik der möglichen Beeinträchtigung des Assimilatstromes durch das Pathogen im Bast der infizierten Erlenpflanzen geben.

Bei der Einzelbaumbetrachtung des stammumfassenden Läsionsfortschritts (Abb. 4-26) zeigte sich bei der einfachen Inokulation ein ebenfalls sehr heterogenes Bild des Kollektivs, welches die Beobachtungen der unterschiedlichen Anfälligkeit der Individuen bei der vertikalen Läsionsentwicklung bestätigt. Auch hier fielen die im Folgejahr wieder austreibenden Erlen (Abb. 4-26 a, Nr. 3 und 6) im Vergleich zu den übrigen Individuen durch einen geringeren Anteil an Rindenzerstörung auf. Diese Unterschiede innerhalb des Kollektivs der einfach stamminokulierten Erlen manifestierten sich zum Ende der Vegetationsperiode hin besonders deutlich. Das Kollektiv der zweifach stamminokulierten Erlen erwies sich hinsichtlich des stammumfassenden Läsionsfortschritts (Gürtelung) als insgesamt deutlich homogener (Abb. 4-26 b). Im Unterschied zur einseitigen Inokulation zeigten die einzelnen Bäume der zweifachen

Variante durchweg sehr ähnliche Gürtelungsprozente, wobei zum Ende der Vegetationsperiode hin die Differenzen zwischen den Individuen eher ab- als zunahmen. Die zweiseitige Inokulation führte innerhalb kurzer Zeit (ca. 5 Wochen, 35 dpi) zu sehr hohen Rindenzerstörungsanteilen (tlw. Gürtelungsprozente  $\geq 90\%$ ) der infizierten Bäume, was nicht weiter verwundert, da die beiden Inokulationsstellen sich gegenüberliegend am Stamm platziert wurden. Somit sollte bei ähnlichem stammumfassenden Pathogenwachstum die zweiseitige Inokulation im Vergleich zur einseitigen zu etwa doppelt so hohen Gürtelungsprozentsen führen.

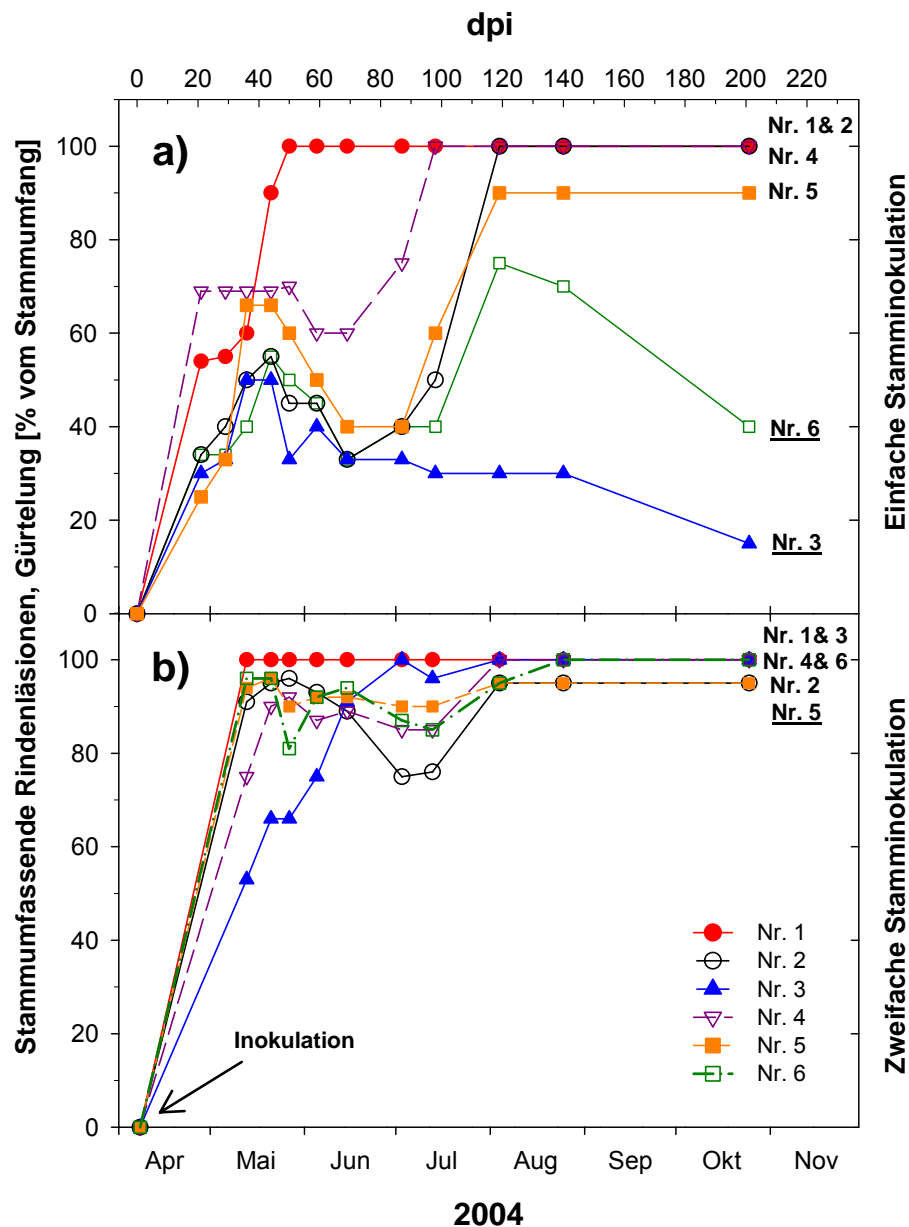


Abbildung 4-26: Einzelbaumdarstellung der Erhebungen des pathogenbedingten stammumfassenden Läsionsfortschritts in der Vegetationsperiode 2004 bei stamminfizierten Erlen. Die Nummerierungen der im Folgejahr (2005) vollständig wieder austreibenden Erlen sind unterstrichen dargestellt. Teilabbildung (a) stellt die Läsionsentwicklung bei einfach stammfunktulierten Erlen, Teilabbildung (b) bei zweifach stammfunktulierten Erlen dar.

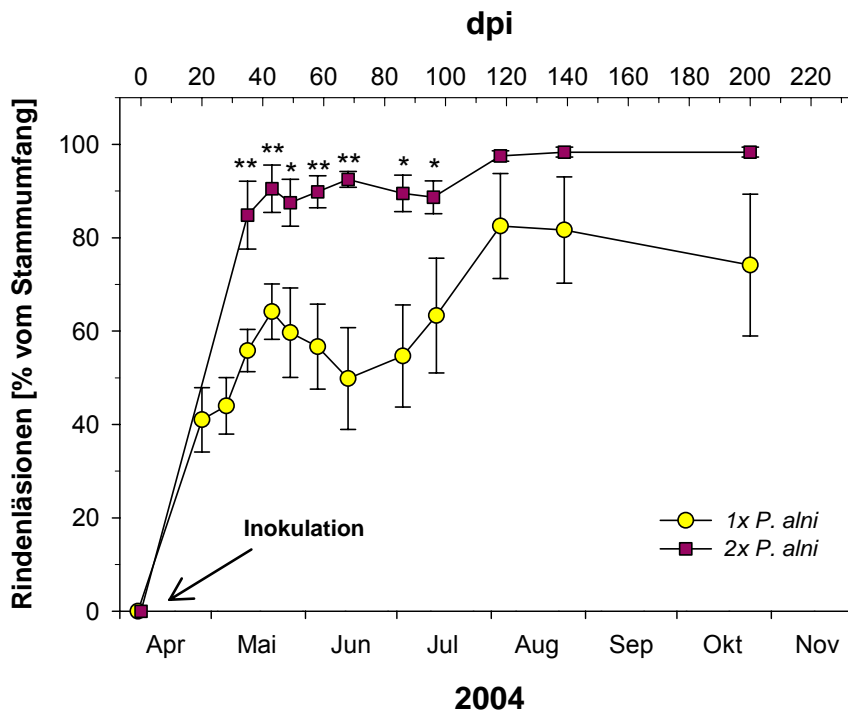


Abbildung 4-27: Jahresverlauf der Mittelwerte des stammumfassenden Läsionsfortschritts auf der Rindenoberfläche von einseitig und zweiseitig stamm-inokulierten Erlenpflanzen. Jeder Verlauf repräsentiert den Mittelwert von jeweils sechs Bäumen ( $n=6$ ). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar (SE). Unterschiede der Mittelwerte der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante im einseitigen *t*-Test sind mit Sternen gekennzeichnet, \*  $p \leq 0,05$  und \*\*  $p \leq 0,01$ .

Bei Analyse der Mittelwerte der stammumfassenden Rindenzerstörung (Gürtelung) der beiden Inokulationsvarianten (Abb. 4-27) traten Unterschiede in der Dynamik des Läsionsfortschritts besonders auffällig hervor.

Mitte Mai, sechs Wochen nach Inokulation (44 dpi, Abb. 4-27), zeigten die einfach inokulierten Bäume eine durchschnittliche Rindenzerstörung von nahezu zwei Drittel des Stammumfangs ( $64 \pm 15\%$  SD). Die zweifach inokulierten Erlen wiesen zu diesem Zeitpunkt bereits eine mittlere Gürtelung durch das Pathogen von mehr als 90% des Stammumfangs ( $91 \pm 12\%$  SD) auf. Ab diesem ersten Maximum Mitte Mai sank bei den einfach stamm-inokulierten Bäumen die pathogenbedingte Gürtelung bis Mitte Juni auf ca. 50% ( $\pm 24\%$  SD) wieder deutlich ab, was sich durch ein starkes Dickenwachstum des Stammes der infizierten Bäume im beschriebenen Zeitraum erklären lässt. In dieser Periode wurde demnach bei diesen Bäumen im Mittel mehr Rindengewebe neu gebildet als vom Pathogen befallen werden konnte. Im Anschluss an diese „Kompensationsphase“ stieg jedoch der Anteil des zerstörten Rindengewebes im Juli

wieder stetig an, um Anfang August das Jahresmaximum mit mehr als 80% ( $83 \pm 28\%$  SD) zu erreichen. Im Spätsommer und Herbst nahm die stammumfassende Rindenzerstörung wieder leicht ab und erreichte Ende Oktober einen Mittelwert von 74% ( $\pm 37\%$  SD).

Die zweifach stammminokulierten Erlen zeigten hingegen nach schwerwiegender Rindenzerstörung im April und Mai keine nennenswerte Verringerung der durchschnittlichen Gürtelung im Juni. Aufgrund des hohen Ausmaßes der Rindenzerstörung (Anteil nekrotischer Rinde) lässt sich vermuten, dass bei diesen Bäumen meist nur noch minimale Anteile des Kambiums intakt waren und das Dickenwachstum noch gesunder Rindenpartien nur unwesentlich zu einer Kompensation der pathogenbedingten Rindenzerstörung führte. Das Dickenwachstum reichte jedoch aus, um eine weitere Zunahme des Anteils zerstörter Rinde bis Mitte Juli zu verhindern. Schließlich wurden auch bei der doppelten Stamminfektion Maximalwerte der durchschnittlichen Gürtelung bereits im August ( $98 \pm 3\%$  SD) erreicht. Das durchschnittliche Ausmaß der stammumfassenden Rindenzerstörung durch das Pathogen war bei der zweifachen Inokulationsvarianten von Anfang der Beobachtungen bis in den Juli statistisch signifikant höher (einseitiger t-Test, vgl. Abb. 4-27) als bei der einfachen Inokulationsvariante.

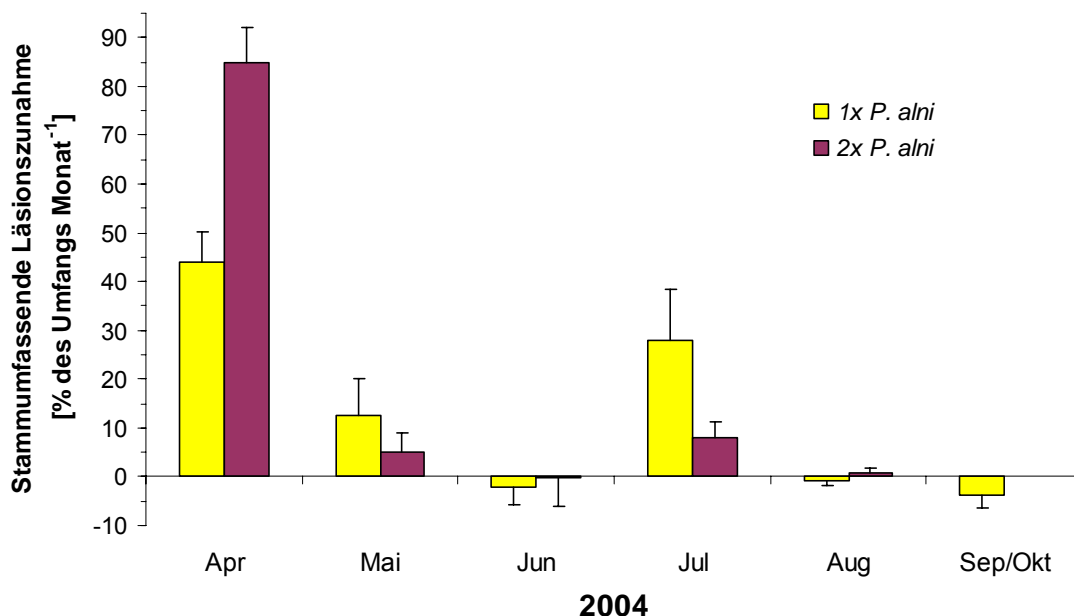


Abbildung 4-28: Mittlerer monatlicher stammumfassender Läsionsfortschritt auf der Rindenoberfläche von einseitig und zweiseitig stammminokulierten Erlenpflanzen. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert von jeweils sechs Bäumen ( $n=6$ ). Die Fehlerbalken stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar (SE).

Bei Betrachtung der mittleren monatlichen stammumfassenden Läsionszunahme (vgl. Abb. 4-28) zeigt sich nochmals deutlich, dass bei beiden Inokulationsvarianten der Fortschritt der Rindenzerstörung im ersten Monat nach Inokulation (April) am größten war. Im Falle der zweiseitigen Inokulation war er zu Beginn des Versuches (April) erwartungsgemäß mit 85% des Stammumfanges fast doppelt so hoch wie bei einfacher Inokulation (44%). Bei beiden Varianten nahm die stammumfassende Rindenzerstörung im Mittel im Mai und Juli zu, wobei entsprechend dem Anteil verbleibenden gesunden Rindengewebes die Zunahmen bei den einseitig stamm- infizierten Erlen größer ausfiel. Im Juni, August, September und Oktober stagnierte das Läsionsausmaß im Mittel bei beiden Varianten und nahm sogar im Fall der einfachen Stamminokulation in diesen Monaten prozentual erkennbar ab. Im zweiten Jahr der Inokulationsversuche nahm das Ausmaß der stammumfassenden Rindenzerstörung bei allen drei Überlebenden stamm- infizierten Erlen deutlich ab. Bei den beiden überlebenden Erlen der einfachen Inokulations- variante betrug die infektionsbedingte Gürtelung im Frühjahr (März 2005) 15 bzw. 40% des Stammumfanges und reduzierte sich bis Anfang September auf 8% bzw. 31%. Der überlebende Baum der zweifachen Stamminokulation konnte in der Vegetations- periode 2005 den Anteil des beeinträchtigten Stammumfanges von 90% auf 41% durch Wundkallusbildung und Kompensationswachstum der ungeschädigten Phloem und Xylempartien in Inokulations bzw. Läsionshöhe reduzieren.

#### **4.2.1.4.3 Rindentemperatur und Pathogenwachstum**

Der Vergleich der Rindenoberflächentemperatur mit dem Wachstum des Pathogens lässt anhand der Tagesmittelwerte keinen direkten Zusammenhang erkennen (vgl. Abb. 4-25 und 4-28 mit Abb. 4-29). Von Ende April 2004 bis zum Ende September wurden Tagesmittelwerte gemessen, die ein stetiges Wachstum des Pathogens im Bast erlauben sollten (vgl. Abb. 4-29, Tagesmittel). Die Tagesmittelwerte der Rinden- oberfläche lagen in der Vegetationszeit mit Ausnahme des Oktobers durchweg zwischen der Optimum- und Minimumtemperatur des Kulturwachstums von *Phytophthora alni* subsp. *alni* *in vitro*.

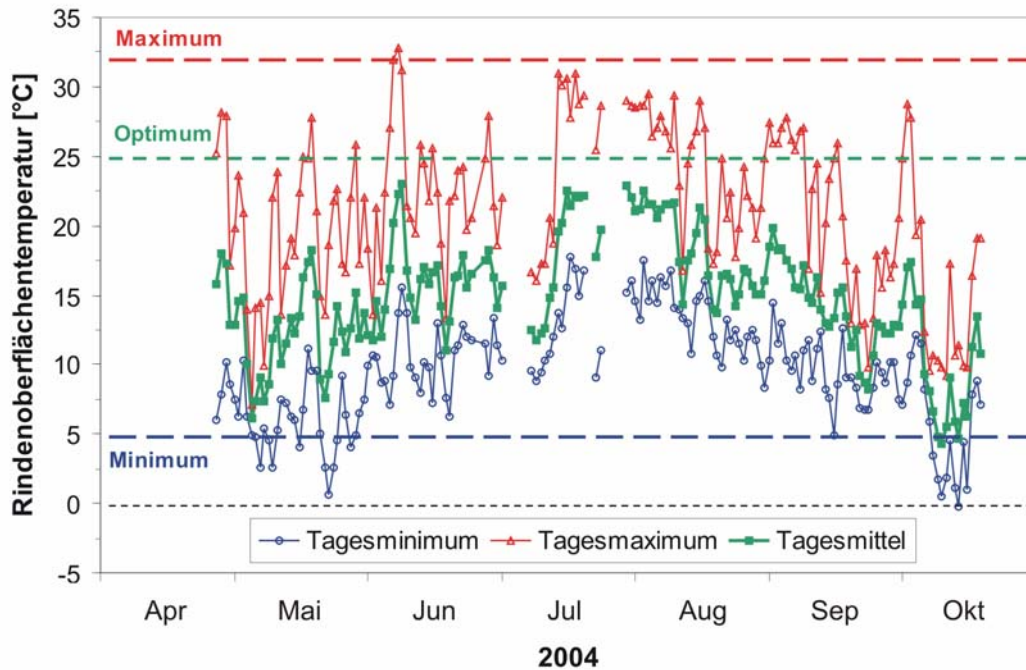


Abbildung 4-29: Temperatur auf der Rindenoberfläche einer stamminfizierten Erlenpflanze während der Infektionsversuche im Jahr 2004, ermittelt durch online-Temperaturmessung in Inokulationshöhe. Aufgetragen sind Tagesmaxima (rote Kurve), die Tagesminima (blaue Kurve) sowie die Tagesmittelmittelwerte (grüne Kurve). Darüber hinaus sind die Maximum-, Optimum- und Minimumtemperaturen des Kulturwachstums von *Phytophthora alni* subsp. *alni* in vitro angegeben.

#### 4.2.1.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der Läsionsmessungen

Die Ergebnisse der Läsionsmessungen bestätigten die im Freiland gewonnene Erfahrung, dass sich die einzelnen Individuen einer Schwarzerlenpopulation natürlicherweise unterschiedlich anfällig gegenüber der Erlenphytophthora zeigen. Dies erwies sich sowohl anhand der Ergebnisse des vertikalen, als auch des stammumfassenden pathogenbedingten Läsionsfortschritts. Es zeigte sich, dass die Erhebung der vertikalen und stammumfassenden Rindenläsionsentwicklung ein brauchbares Maß für das Pathogenwachstum darstellt und darüber hinaus Aufschluss über die Anfälligkeit bzw. das Abwehrvermögen der einzelnen infizierten Erlen gibt. Die Erlenpflanzen mit geringen vertikalen und den geringsten stammumfassenden Läsionsausmaßen vermochten die *Phytophthora*-Infektion zu überleben und im Folgejahr (2005) wieder auszutreiben (Abb. 4-23 und 4-26 sowie Abb. 4-21). Bei der Überwinterung der in 2004 stamminkulierten Erlen unter natürlichen Bedingungen im Freien, starb das Pathogen vermutlich während einer mehrwöchigen Frostperiode im Februar und März 2005 mit Temperaturen bis zu  $-25^{\circ}\text{C}$  ab. In der Vegetationsperiode 2005 kam es infolge dessen bei den drei überlebenden Bäumen der einzelnen Inokulationsvarianten des Vorjahres zu keiner weiteren Läsionsentwicklung.

## 4.2.2 Ergebnisse der ökophysiologischen Messungen

### 4.2.2.1 Messungen des Blattgaswechsels

Blattgaswechselfmessungen wurden an einfach und zweifach mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten Erlentopfpflanzen in der Vegetationsperiode 2004 und 2005 durchgeführt. Im ersten Jahr der Infektionsversuche (2004) wurde der Blattgaswechsel von Mitte Mai bis Ende August gemessen, im zweiten Jahr (2005) von Anfang Juli bis Anfang September. In der Vegetationsperiode 2004 zeigten die stamminokulierten Erlen infektionsbedingt im Vergleich zu Kontrollpflanzen reduzierte Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahme- und Transpirationsraten und deuten auf eine geringere stomatare Leitfähigkeit (gH<sub>2</sub>O) (Abb. 4-30 bis 4-32). Die Beeinträchtigung der Netto-Photosynthese, Blatt-Leitfähigkeit und der Transpiration durch die Infektion erwies sich bei der einfachen Stamminokulation als geringer ausgeprägt und setzte sehr viel später im Jahresverlauf ein. Einseitig stamminifizierte Erlen zeigten im Vergleich zu Kontrollpflanzen nur zum Ende der Messkampagne 2004, im Juli und August, statistisch signifikant niedrigere Mittelwerte der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation, Blatt-Leitfähigkeit und Transpiration ( $p \leq 0,05$ , einseitiger t-Test). Erste signifikante Unterschiede im Blattgaswechsel zu Kontrollen traten bei einfach stamminokulierten Erlen ca. dreieinhalb Monate (Gaswechselfmessung 106 dpi) bezüglich der Transpiration und der stomatären Blatt-Leitfähigkeit auf (Abb. 4-30 und 4-32).

Zweifach stamminokulierte Erlen hingegen zeigten bereits ab Juni, ca. zwei Monate nach Inokulation (Gaswechselfmessung 61 dpi), signifikant ( $p \leq 0,05$ ) niedrigere durchschnittliche Assimilations- und Transpirationsraten, sowie ab Juli (97 dpi) signifikant verringerte Blatt-Leitfähigkeiten (gH<sub>2</sub>O), wobei im Juli und August die Beeinträchtigung der o.g. Gaswechselfparameter im Vergleich zu Kontrollen hoch signifikant war ( $p \leq 0,01$  bzw.  $p \leq 0,001$ ).

Alle im Jahr 2004 stamminokulierten Erlen die im nächsten Frühjahr (2005) wieder auszutreiben vermochten, zeigten im Sommer 2005 keine messbare Beeinträchtigung des Blattgaswechsels im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Bemerkenswerterweise wiesen die einfach und zweifach stamminokulierten Pflanzen sowohl im ersten Jahr der Stamminfektion als auch im Folgejahr einen ähnlichen Wassernutzungskoeffizienten der Photosynthese („water use efficiency“, WUE) wie Kontrollpflanzen auf. Teilweise zeigten sie zum Zeitpunkt der stärksten Beeinträchtigung der



Photosynthese und Transpiration im Juli und August 2004 sogar signifikant höhere Wassernutzungskoeffizienten (Abb. 4-33 a und c).

Dies deutet darauf hin, dass bei den stamminokulierten Erlen trotz Infektion weiterhin der Stomataschluss auf Blattebene geregelt werden konnte. Zu Anfang der Gaswechselfmessungen (Ende Mai und Juni 2004) war ein geringer Anstieg (nicht statistisch signifikant) der blattinternen  $\text{CO}_2$ -Konzentration ( $c_i$ ) bei infizierten Erlen beider Inokulationsvarianten gegenüber Kontrollen zu beobachten (Abb. 4-34). Im Juli und im August sank der  $C_i$ -Wert infizierter Erlen unter das Niveau der Kontrollpflanzen. Mitte August, zum Zeitpunkt der letzten Gaswechselfmessungen in der Vegetationsperiode 2004, weisen infizierte Erlen beider Inokulationsvarianten einen statistisch signifikant niedrigeren mittleren  $C_i$ -Wert als Kontrollen auf.

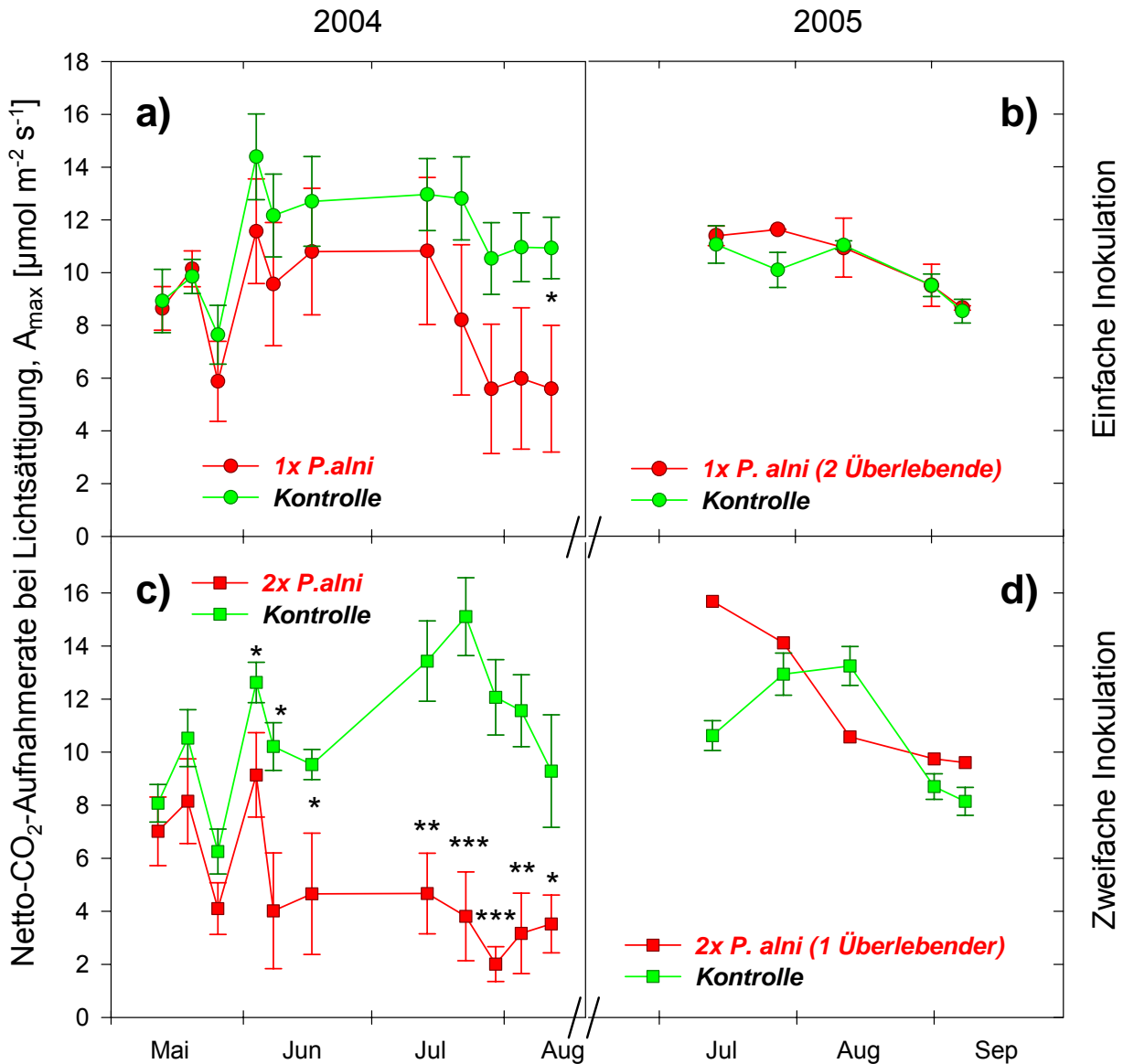


Abbildung 4-30: Netto-Photosyntheseraten in den Vegetationsperioden 2004 und 2005 der Blätter einfach (a,b) und zweifach (c,d) stamminokulierter Erlentopfpflanzen im Vergleich zu Kontrollern. Die Daten der Kontrollen und der infizierten Pflanzen sind für das Jahr 2004 als Mittelwert ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen angegeben. In der Vegetationsperiode 2005 konnten nur Daten von zwei überlebenden Pflanzen (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) der einfachen Stamminokulation und einer überlebenden Pflanze der zweifachen Stamminokulation erhoben werden. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte infizierter Pflanzen und der Kontrolle im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$  und \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

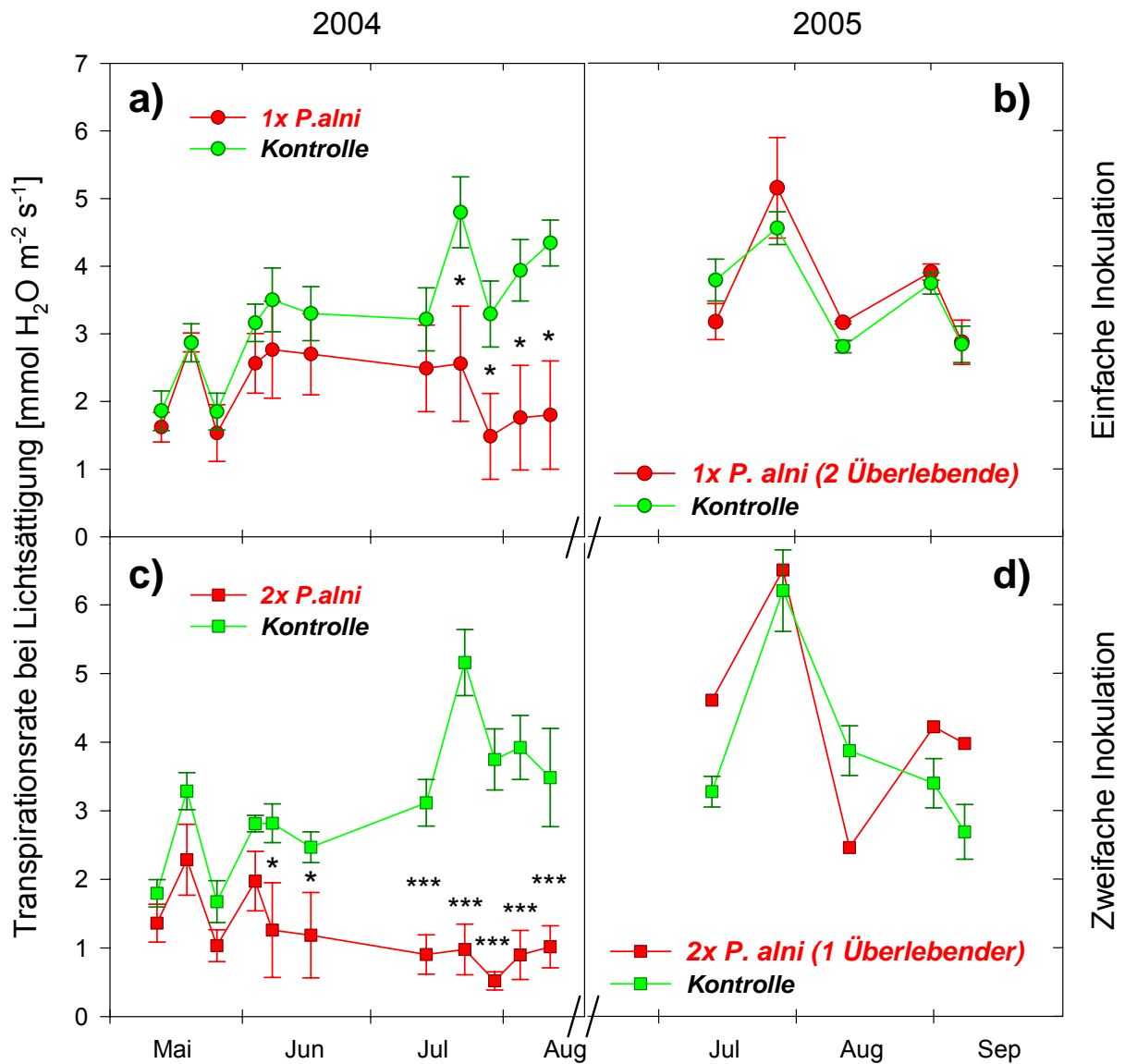


Abbildung 4-31: Transpirationsraten in den Vegetationsperioden 2004 und 2005 der Blätter einfach (a,b) und zweifach (c,d) stamminokulierter Erlentopfpflanzen im Vergleich zu Controllerlen. Die Daten der Kontrollen und der infizierten Pflanzen sind für das Jahr 2004 als Mittelwert ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen angegeben. In der Vegetationsperiode 2005 konnten nur Daten von zwei überlebenden Pflanzen (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) der einfachen Stamminokulation und einer überlebenden Pflanze der zweifachen Stamminokulation erhoben werden. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte infizierten Pflanzen und der Kontrolle im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$  und \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

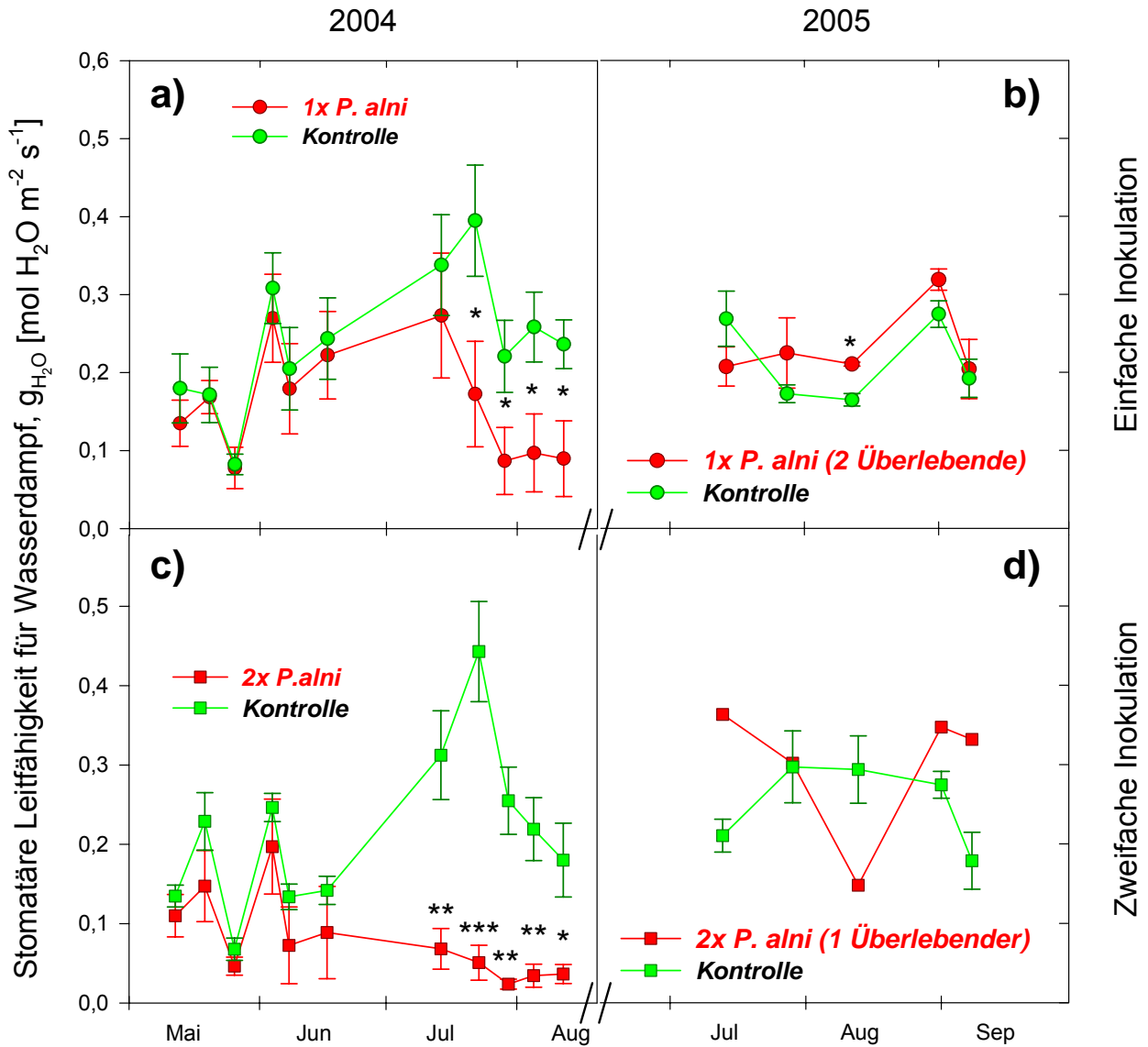


Abbildung 4-32: Stomatäre Blattleitfähigkeit für Wasserdampf ( $g_{H_2O}$ ) in den Vegetationsperioden 2004 und 2005 der einfach (a,b) und zweifach (c,d) stamminokulierten Erlenpflanzungen im Vergleich zu Kontrollen. Die Daten der Kontrollen und der infizierten Pflanzen sind für das Jahr 2004 als Mittelwert ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen angegeben. In der Vegetationsperiode 2005 konnten nur Daten von zwei überlebenden Pflanzen (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) der einfachen Stamminokulation und einer überlebenden Pflanze der zweifachen Stamminokulation erhoben werden. Statistisch signifikant höhere Mittelwerte im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$  und \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

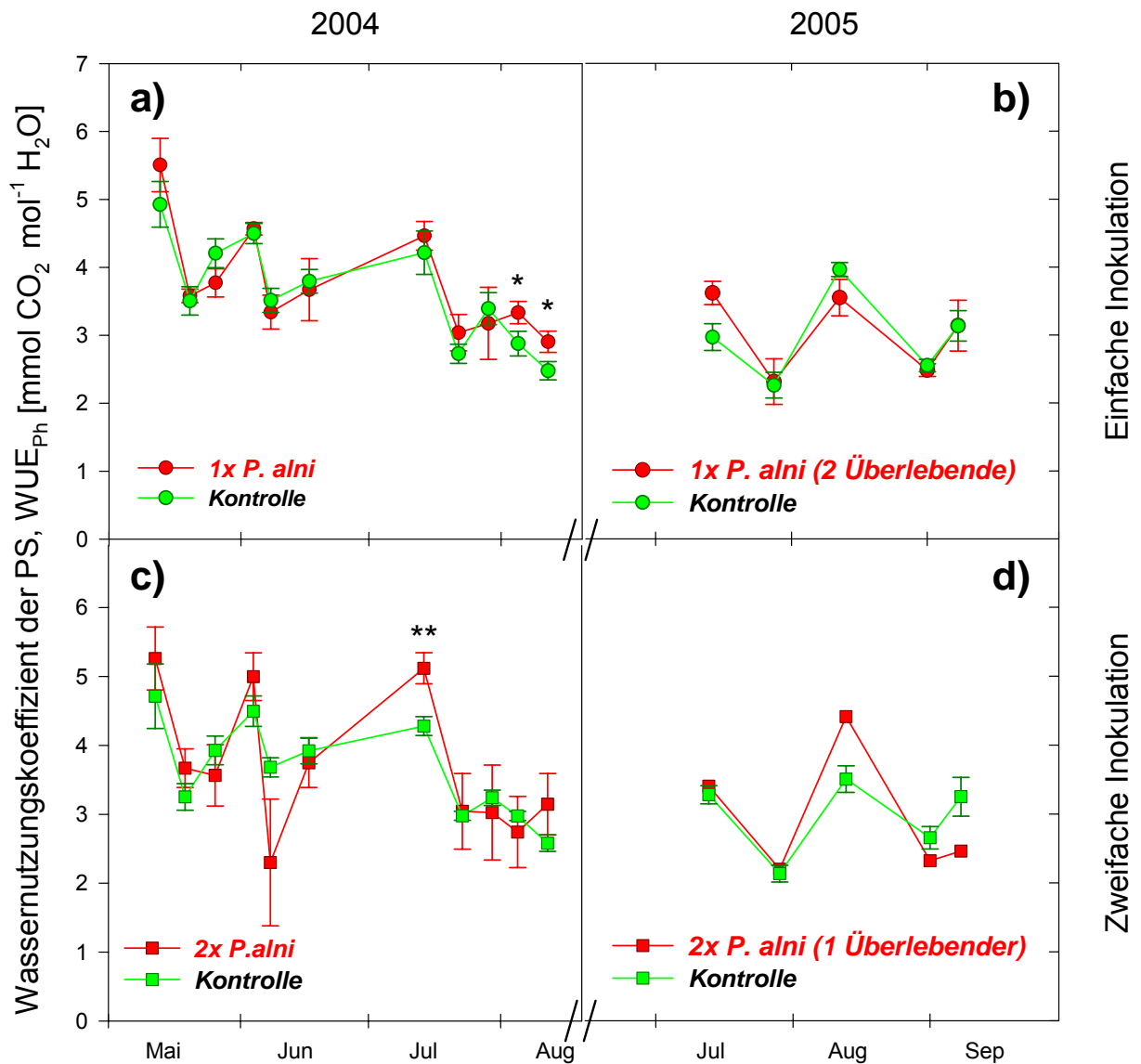


Abbildung 4-33: Wassernutzungskoeffizient der Blatt-Photosynthese (WUE<sub>Ph</sub>, „water use efficiency“) in den Vegetationsperioden 2004 und 2005 der einfach (a,b) und zweifach (c,d) stamminokulierten Erlentopfpflanzen im Vergleich zu Kontrollerlen. Die Daten der Kontrollen und der infizierten Pflanzen sind für das Jahr 2004 als Mittelwert (± Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen angegeben. In der Vegetationsperiode 2005 konnten nur Daten von zwei überlebende Pflanzen (Mittelwert ± Standardfehler) der einfachen Stamminokulation und einer überlebenden Pflanze der zweifachen Stamminokulation erhoben werden. Statistisch signifikant höhere Mittelwerte im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ , und \*\*  $p \leq 0,01$ .

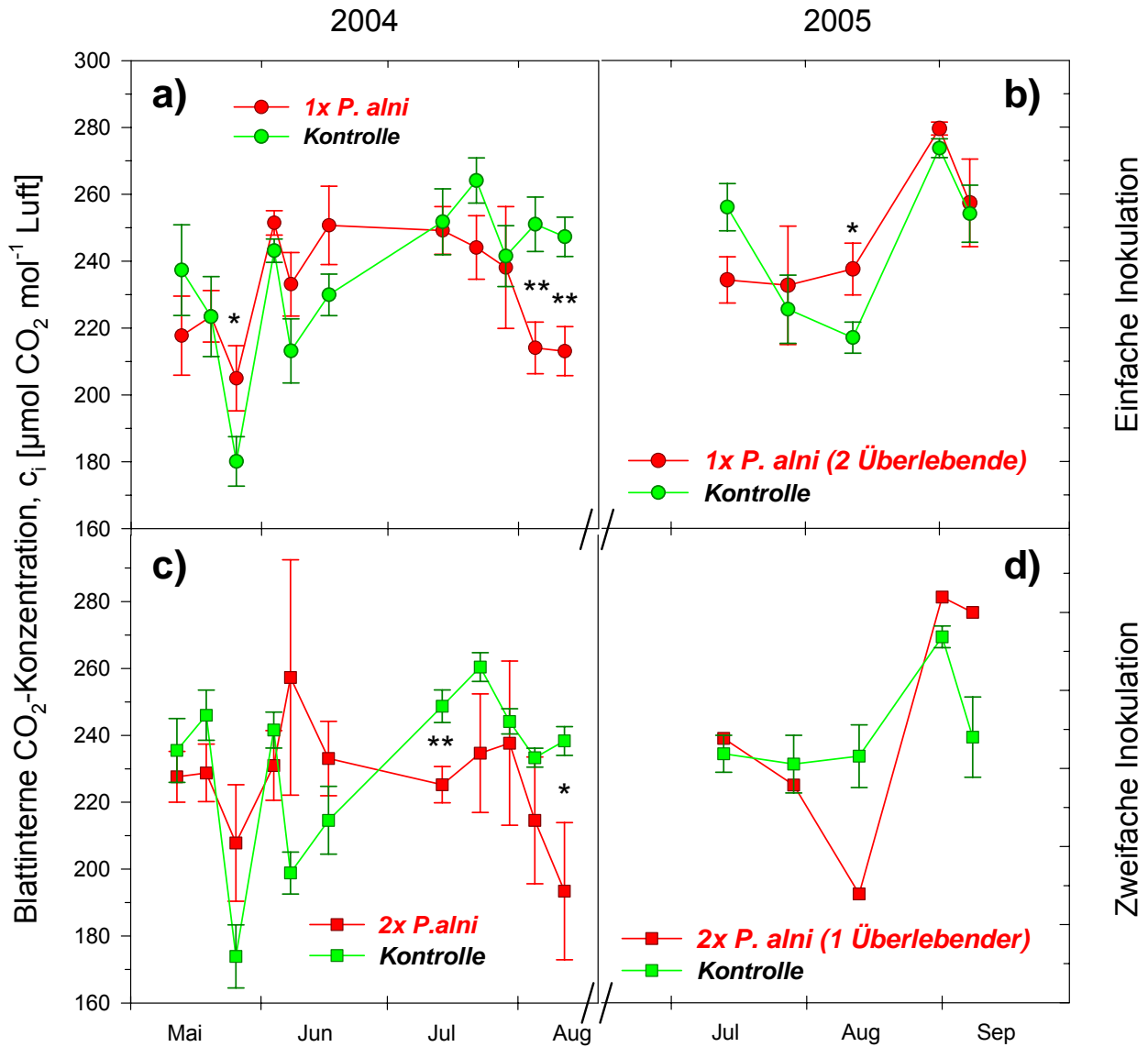


Abbildung 4-34:  $\text{CO}_2$ -Konzentration im Interzellularraum des Blattmesophylls ( $c_i$ ) in den Vegetationsperioden 2004 und 2005 der einfach (a,b) und zweifach (c,d) stamminokulierten Erlentopfpflanzen im Vergleich zu Kontrollern. Die Daten der Kontrollen und der infizierten Pflanzen sind für das Jahr 2004 als Mittelwert ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen angegeben. In der Vegetationsperiode 2005 konnten nur Daten von zwei überlebende Pflanzen (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) der einfachen Stamminokulation und einer überlebenden Pflanze der zweifachen Stamminokulation erhoben werden. Statistisch signifikant höhere Mittelwerte im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$  und \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

#### 4.2.2.2 Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation und stammumfassende Rindenzerstörung

Der Vergleich des Jahresverlaufs der Netto-Photosynthese im Jahr 2004 mit der stammumfassenden Rindenzerstörung ergab, dass die Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilationsrate der stamminokulierten Einzelbäume mit dem Ausmaß der pathogenbedingten Rindenzerstörung am Stammfuß negativ korreliert war. Die Rate der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahme nahm mit zunehmender Gürtelung ab.

Anhand der Einzelbaumdaten der einfach stamminokulierten Erlen (Abb. 4–35 a-f) zeigte sich diese Wechselbeziehung besonders anschaulich. Insbesondere die Erlen, welche im folgenden Frühjahr 2005 nicht mehr austrieben (Abb. 4–35: Nr. 1, 2, 4) wiesen von Mitte Juli bis zum Ende der Gaswechsellmessungen im August (2004) die geringsten Netto-Photosyntheseraten auf. Während dieser Zeitspanne erreichte das Ausmaß der Gürtelung bei den genannten Bäumen mehr als 90% des Stammumfangs. Baum Nr. 5 (Abb. 4–35 e) wies Ende August 2004 am Stammfuß Rindenzläsionen von etwa 90% des Stammumfangs auf und starb während des Blattaustriebs im Frühjahr 2005. Er vertrocknete trotz wassergesättigtem Wurzelbereich. Die im Folgejahr (2005) wieder komplett austreibenden Erlen (Nr. 3 und 6, in Abb. 4–35 c u. f unterstrichen) hingegen wiesen Ende August 2004 mit 30% bzw. 70% des Stammumfangs deutlich geringere Anteile der Rindenzerstörung auf, als die absterbenden Bäume. Dementsprechend war ihre Blatt-Assimilationsleistung deutlich höher und lag nahezu auf dem Niveau der Kontrollpflanzen (Abb. 4- 35 a).

Anhand der gezeigten Ergebnisse der einfachen Stamminokulation schienen pathogenbedingte Rindenzerstörungen über 80% des Stammumfangs zu irreversiblen Beeinträchtigungen der gesamten Baumphysiologie zu führen, die zumindest bei sehr jungen Erlen (in diesem Fall dreijährig) auf Gesamtbaumebene nicht mehr kompensiert werden konnten und zum Absterben der Pflanzen führten.

Des Weiteren zeigte sich anhand der dargestellten Wechselbeziehung bei fast allen Einzelbäumen der einfachen Stamminokulation (ausgenommen Baum Nr. 1) mit Rückgang der Gürtelung im Juni und Anfang Juli ein zwischenzeitlicher Anstieg (Erholung) der Blatt-Photosyntheseleistung, was ebenfalls auf einen engen kausalen Zusammenhang zwischen der Hemmung des Blattgaswechsels und der Rindenzerstörung am Stammfuß hindeutete. Die Rindenzerstörung am Stammfuß schien jedoch den Blatt-Gaswechsel verzögert zu beeinträchtigen.

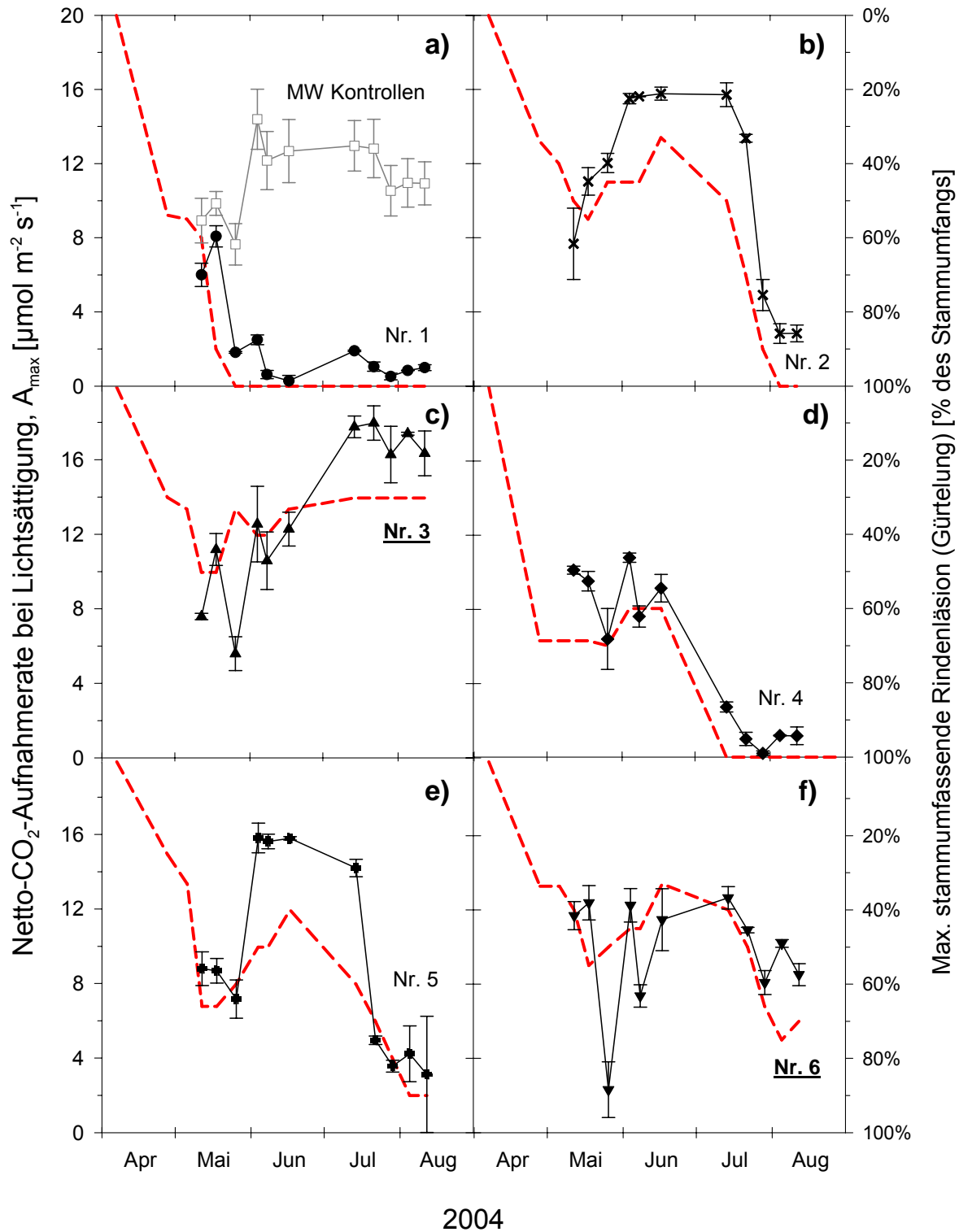


Abbildung 4-35: Verläufe des Ausmaßes der Rindenzerstörung (Gürtelung) am unteren Stammabschnitt von einseitig mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminkulierten Erlenpflanzen (*Alnus. glutinosa*) und der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahmerate bei Lichtsättigung ( $A_{max}$ ) der Blätter dieser Pflanzen. Die einzelnen Teilgrafiken (a-f) zeigen die stammumfassende Läsionsentwicklung invers aufgetragen (rot gestrichelte Linien) und den korrespondierenden Jahresverlauf der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation (schwarze Symbole und durchgezogene Linien) der Einzelbäume 1 bis 6 der einfachen Stamminkulation. Die Netto-Assimilationsraten der inkulierten Pflanzen sind als Mittelwert von drei Blättern pro Baum ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) angegeben. Zu Vergleichszwecken ist in der ersten Grafik (a) mit offenen Symbolen die mittlere Netto-Assimilationsrate ( $\pm$  SE) der sechs Kontrollpflanzen der einfachen Stamminkulation dargestellt. Die Nummern der noch im Folgejahr lebenden Bäume sind unterstrichen.



Im Vergleich zur einseitigen Inokulation führte die Infektion mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* bei zweiseitiger Stamminokulation innerhalb weniger Wochen zu einer deutlich stärkeren Gürtelung. Anfang Mai, fünf Wochen nach Inokulation (35 dpi), wiesen die zweiseitig inokulierten Erlen bereits eine durchschnittliche stammumfassende Rindenzerstörung von mehr als 80% des Stammumfangs auf (Abb. 4–36), die einfach inokulierten Pflanzen hingegen Zerstörungsanteile von weniger als 60% des Stammumfangs. Erstaunlicherweise zeigten die stärker geschädigten Erlen der zweifachen Inokulationsvariante erst verzögert ab Anfang Juni deutlich niedrigere mittlere Netto-Photosyntheseraten im Vergleich zu einfach inokulierten Pflanzen. Auf Grund der großen Streuung innerhalb der beiden Kollektive erwies sich jedoch die mittlere Netto-Assimilationsrate der zweifach inokulierten Erlen nur Mitte Juni und Mitte Juli als signifikant niedriger ( $p \leq 0,05$ , einseitiger t-Test). Diese signifikanten Unterschiede könnten auch mit dem Rückgang der Rindenzerstörung in diesem Zeitraum bei einfach inokulierten Erlen erklärt werden, was bei den zweifach inokulierten Pflanzen nicht der Fall war.

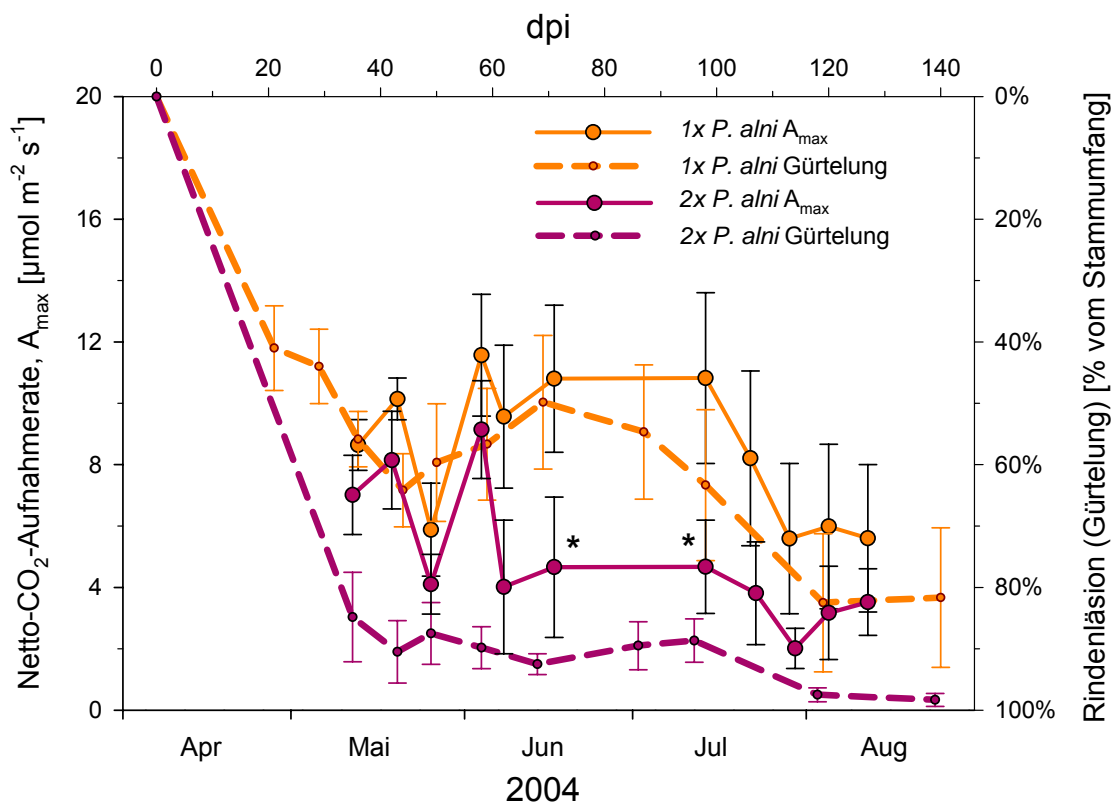


Abbildung 4-36: Vergleich der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahmerate bei Lichtsättigung ( $A_{max}$ ) und dem Ausmaß der stammumfassenden Rindenzerstörung (Gürtelung) der einfach (orange Darstellungen) und zweifach (violette Darstellungen) stammminokulierten Erlen-topfpflanzen. Die dargestellten Daten der stammminokulierten Erlen repräsentieren den Mittelwert ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen je Inokulationsvariante. Signifikant niedrigere Mittelwerte der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahmerate zweifach inokulierter Pflanzen im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ .

Die Auftragung der Daten der mittleren Rindenzerstörung (Gürtelung) gegen die durchschnittliche Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation unter Berücksichtigung beider Inokulationsvarianten lässt eine negative Korrelation zwischen beiden Parametern erkennen. Die Raten der Nettophotosynthese nahmen mit fortschreitender Gürtelung zusehends ab. Das Bestimmtheitsmaß der Regression betrug  $r^2=0,63$  (Abbildung 4-37).

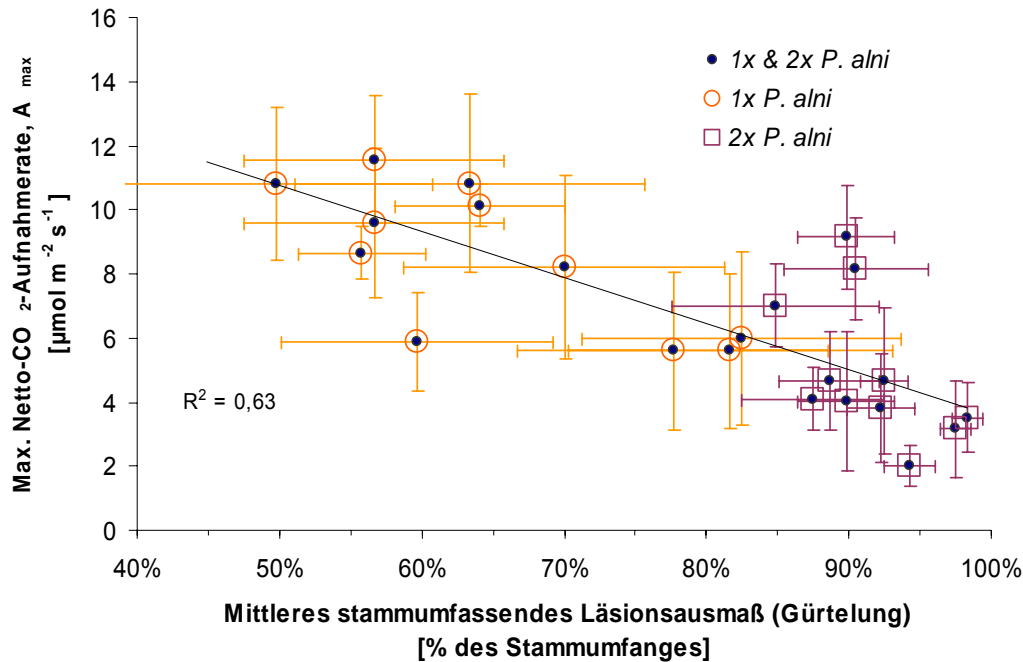


Abbildung 4-37: Korrelation zwischen der mittleren stammumfassenden Rindenzerstörung am Stammfuß und der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation von einseitig und zweiseitig stamminkulierten Erlentopfpflanzen über den gesamten Beobachtungszeitraum (Mai-August) im Jahr 2004. Die dargestellten Daten der stamminkulierten Erlen repräsentieren die Mittelwerte ( $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts) von jeweils sechs Pflanzen je Inokulationsvariante.

Bei Betrachtung der Korrelation der genannten Parameter für die Einzelbäume der einfachen Stamminokulation (Abb. 4-38) ergaben sich durch lineare Regression höhere Bestimmtheitsmaße ( $r^2=0,70$ ) im Vergleich zur vorherigen Mittelwertbetrachtung unter Einschluss aller stamminkulierten Erlen. Jedoch zeigte sich bei dieser Betrachtungsweise auch besonders deutlich die starke Streuung der Netto-CO<sub>2</sub>-Aufnahmeraten bei vergleichbarem Ausmaß der Rindenzerstörung innerhalb der Einzelbäume des Kollektivs. Bei Beschränkung der Betrachtung auf die im Folgejahr abgestorbenen Pflanzen der einfachen Stamminokulation verbesserte sich nochmals das Bestimmtheitsmaß der Korrelation (Abb. 4-38,  $r^2 = 0,78$ ).

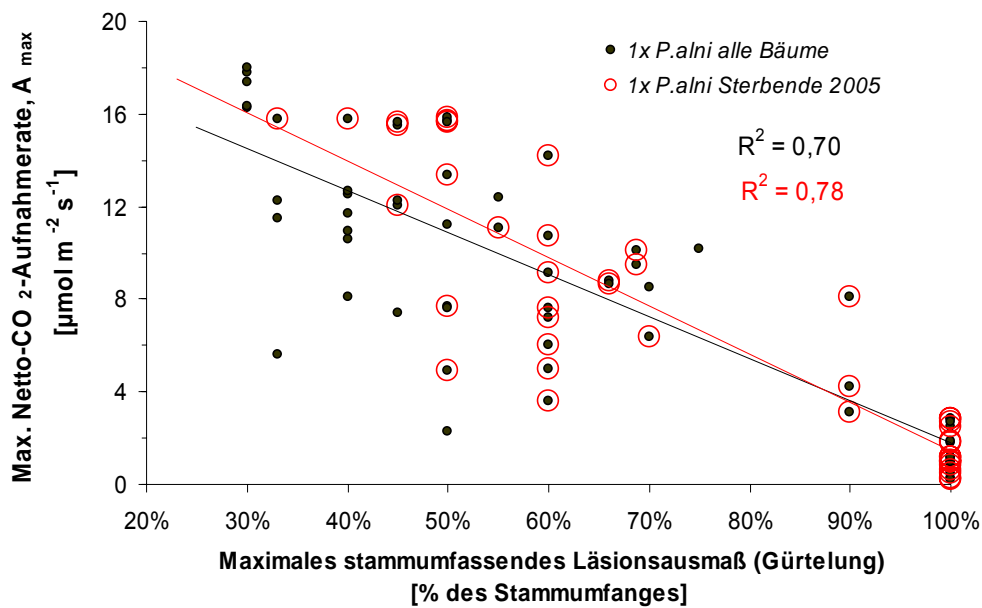


Abbildung 4-38: Korrelation zwischen der stammumfassenden Rindenerstörung am Stammfuß und der Netto-CO<sub>2</sub>-Assimilation aller einseitig stammnokulierten Erlen topfpflanzen über den gesamten Beobachtungszeitraum in 2004 (Mai bis August). Die Korrelation und Datenpunkte der im Folgejahr 2005 abgestorbenen Pflanzen (Sterbende) sind separat (rot) dargestellt.

#### 4.2.2.3 Ergebnisse der Wasserpotentialmessungen

Zweig-Wasserpotentialmessungen im Juli 2004, ca. 4 Monate nach Inokulation (115 bzw. 114 dpi), zeigten sowohl bei einfach als auch zweifach stammnokulierten Erlen topfpflanzen keine signifikanten Unterschiede für die Dämmerungswasserpotential-Werte (Predawn-Werte) im Vergleich zu Kontrollpflanzen (Abb. 4-39 a und b). Trotz der Infektion mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* am Stammfuß vermochten sich die Erlen über Nacht bis kurz vor Sonnenaufgang in ähnlichem Maße mit Wasser aufzusättigen wie nicht infizierte Kontrollpflanzen. Im Mittelwertvergleich der Predawn-Werte infizierter Erlen (zweiseitiger t-Test) mit denen der Kontrollpflanzen wiesen sowohl die einfach als auch die zweifach infizierten Erlenpflanzen keine statistisch signifikanten Unterschiede auf (Abb. 4-39 a und b). Weiterhin glichen die Predawn-Wasserpotentiale der infizierten Einzelbäume der einfachen und zweifachen Stammnokulation in hohem Maße denen der jeweiligen Kontrollbäume (Abb. 4-39 c und d).

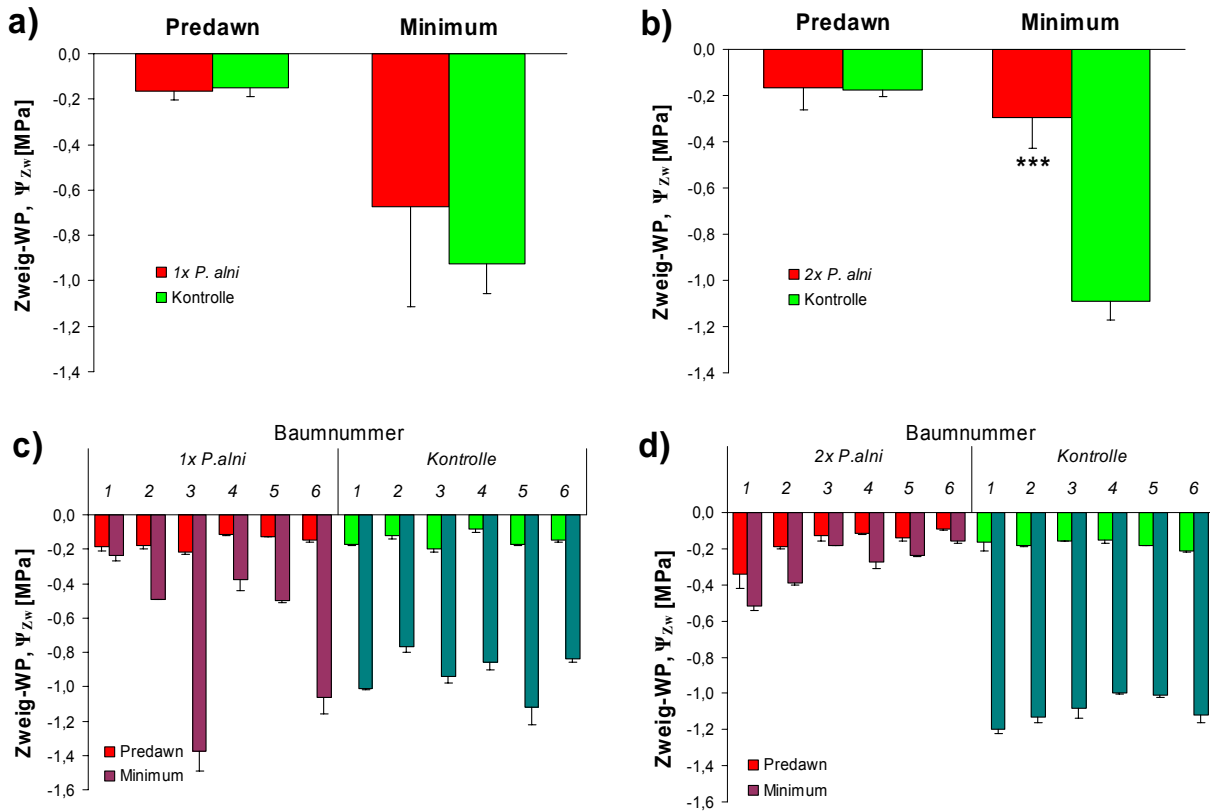


Abbildung 4-39 a-d: Predawn- und Minimum-Zweig-Wasserpotentiale 115 bzw. 114 Tage nach Inokulation (Ende Juli 2004) von einfach (a und b) und zweifach (b und d) *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamm-infizierten Erlen, sowie der Kontrollpflanzen der jeweiligen Inokulationsvarianten. Die Mittelwerte des Zweig-Wasserpotentials von jeweils sechs infizierten und sechs Kontrollpflanzen der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante sind mit Standardabweichung in Abb. a und b dargestellt. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte im einseitigen t-Test von infizierten und Kontrollpflanzen sind mit Sternen markiert, \*\*\*  $p \leq 0,001$ . Die Predawn- (helle rote bzw. helle grüne Säulen) und Minimum-Zweigwasserpotentiale (dunkel-rote bzw. dunkel-grüne Säulen) der Einzelbäume der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante sind in Abb. c bzw. d dargestellt. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert und die Standardabweichung aus 2-3 Messungen pro Baum.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Predawn-Messungen wiesen die stamm-infizierten Erlen größtenteils deutlich weniger negative Minimum-Zweig-Wasserpotentiale (Nachmittagswerte) als nicht infizierte Erlen (Kontrollen) auf (Abb. 4-39 a-d). Dies deutet auf eine geringere Transpiration und demzufolge auf stärker verengte Spaltöffnungen am Tage bei infizierten Erlen im Vergleich zu gesunden Pflanzen hin. Im Fall der einfachen Stamminokulation erwies sich der Unterschied im Minimum-Zweig-Wasserpotential zwischen Kontrollen und infizierten Erlen im Mittelwertvergleich (zweiseitiger t-Test) jedoch als nicht signifikant (Abb. 4-39 a), was auf die starke Streuung der Werte innerhalb der infizierten Pflanzen zurück zu führen ist. Insbesondere die im Folgejahr wieder austreibenden Erlen (Abb. 4-39 c, Nr. 3 und 6) zeigten ebenso negative Minimum-Zweig-Wasserpotentiale wie die Kontrollpflanzen und damit keine Beeinträchtigung der Blatttranspiration.

Die zweifach stamminfizierten Erlen wiesen dagegen ohne Ausnahme ein höheres (weniger negatives) Minimum-Zweig-Wasserpotential als die gesunden Pflanzen auf (Abb. 4-39 d). Im Mittelwertvergleich (zweiseitiger t-Test) erwies sich dieser Unterschied im Zweig-Wasserpotential zu gesunden Pflanzen als statistisch hoch signifikant (Abb. 4-39 b,  $p \leq 0,001$ ).

Erneute Zweig-Wasserpotential-Messungen Mitte August 2005 an den noch lebenden Erlenpflanzen der Infektionsversuche 2004 zeigten, dass die überlebenden stamminfizierten Pflanzen, vergleichbar mit den Messungen im Vorjahr, sowohl im Predawn- als auch Minimum-Zweig-Wasserpotential keine bedeutenden Unterschiede zu gesunden Kontrollpflanzen aufwiesen (Abb. 4-40 a-d).

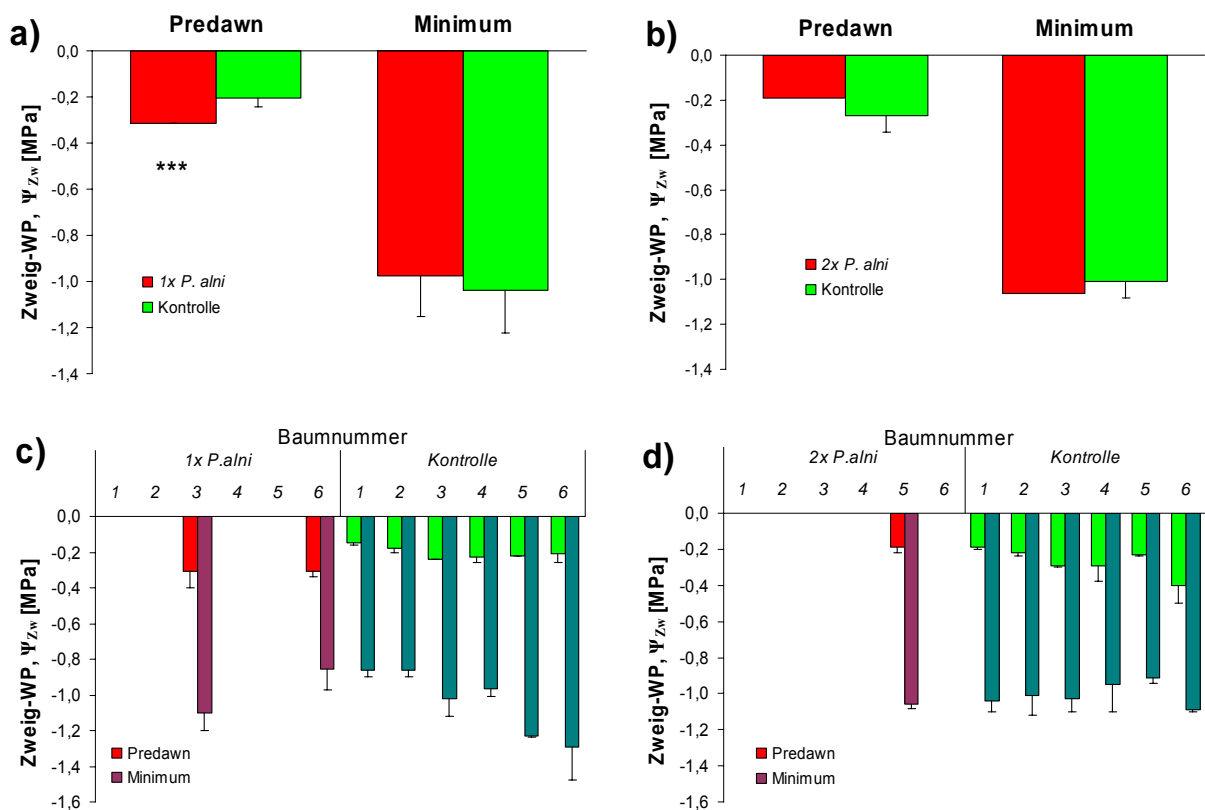


Abbildung 4-40: Predawn- und Minimum-Zweig-Wasserpotentiale 499 bzw. 498 Tage nach Inokulation (Mitte August 2005) von einfach (a und c) und zweifach (b und d) *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminfizierten Erlen, sowie der Kontrollpflanzen der jeweiligen Inokulationsvarianten. In Abb. a ist der Mittelwert (-Standardabweichung) des Zweigwasserpotentials von zwei infizierten und sechs Kontrollpflanzen der einfachen Inokulationsvariante dargestellt. Abb. b zeigt die Einzelwerte des überlebenden Baumes der zweifachen Inokulation im Vergleich zum Mittelwert der sechs Kontrollen. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte von infizierten und Kontrollpflanzen im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*\*\*  $p \leq 0,001$ . Die Predawn- (helle farbige Säulen) und Minimum-Zweig-Wasserpotentiale (dunkle farbige Säulen) der Einzelbäume der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante sind in Abb. c bzw. d dargestellt. Jede Säule repräsentiert den Mittelwert und die Standardabweichung aus 2-3 Messungen pro Baum.

Lediglich die Predawn-Wasserpotentiale der einfach stamminfizierten Erlen waren im Mittel etwas negativer (im zweiseitigen t-Test signifikant) im Vergleich zu den Werten der Kontrollerlen dieser Inokulationsvariante (Abb. 40 a). Sie lagen jedoch im Vergleich zu den Predawn-Werten der Kontrollbäume der zweifachen Stamminokulation auf dem selben Niveau (kein statistisch signifikanter Unterschied).

#### **4.2.2.4 Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen**

Ergänzend zu den Gaswechselfmessungen wurden während der Infektionsversuche in der Vegetationsperiode 2004 und 2005 an stamminfizierten und gesunden Erlen Blattproben für Kohlenhydratanalysen gesammelt. Die Blattproben wurden aus der oberen Kronenhälfte der Erlen in unmittelbarer Umgebung der Messäste der Gaswechselfmessungen entnommen. Die Probenahme erfolgte jeweils Anfang Juni und Mitte August in der Vegetationsperiode 2004 und 2005 zur Mittagszeit zwischen 12 und 13 Uhr (MEZ). An jedem Entnahmezeitpunkt wurden je Baum 3-5 Blätter (je nach Blattgröße) gesammelt und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Ergebnisse dieser Mischproben stehen stellvertretend für den mittleren Kohlenhydratgehalt der Blätter der Einzelbäume (Blattspiegelwert). Anhand dieser Einzelbaum-Blattspiegelwerte wurden der mittlere Blattspiegelwert der stamminfizierten Erlen und Kontrollen berechnet (Blattspiegelwert des Kollektivs). Im zweiten Jahr der Infektionsversuche lebten nur noch zwei infizierte Erlen der einfachen Inokulationsvariante und eine infizierte Erle der zweifachen Inokulationsvariante, sodass zumindest bei letztgenannter Inokulationsvariante Unterschiede der Blattspiegelwerte von infizierten Pflanzen und Kontrollen nicht statistisch (t-Test) getestet werden konnten.

Des Weiteren wurde ebenfalls der Xylosegehalt der Blattproben ermittelt. Die Blattgehalte waren dermaßen gering, dass die Ergebnisse nicht separat aufgeführt werden. Die Xyloseergebnisse flossen jedoch in die Berechnung der Gesamtzucker- und Gesamt-Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte mit ein.

Die Ergebnisse der Kohlenhydratanalysen (Abb. 4-41 a-f und 4-42 a-f) zeigten, dass sowohl einfach als auch zweifach stamminokulierte Erlen im Vergleich zu Kontrollpflanzen im ersten Jahr des Versuchs (im Juni und August 2004, 63 bzw. 133 dpi) und zu Beginn der Vegetationsperiode 2005 (Juni 2005, 428 dpi) höhere Glucose- und Fructose-Blattspiegelwerte aufwiesen. Zum Ende der Inokulationsversuche (August 2005, 498 dpi) waren diese Unterschiede nicht mehr ersichtlich.

Im Gegensatz zu den beiden Einfachzuckern Glucose und Fructose waren die Saccharose-Blattspiegelwerte infizierter Pflanzen im Vergleich zu Kontrollen im ersten Jahr der Inokulationsversuche (2004) leicht verringert. Signifikant niedrigere Saccharose-Blattspiegelwerte zeigten die infizierten Bäume jedoch nur im Juni 2004. Entsprechend den Ergebnissen der Zucker-Blattspiegelwerte zeigten die einfach stamminokulierten Erlentopfpflanzen in der Vegetationsperiode 2004 und im Juni 2005, jedoch nicht im August 2005, leicht erhöhte Gesamtzucker-Blattspiegelwerte (siehe Abb. 4-42 a). Diese Erhöhung erwies sich im Mittelwertvergleich mit Kontrollen jedoch als nicht signifikant (einseitiger t-Test). Zweifach inokulierte Erlen zeigten gegenüber gesunden Kontrollen über die gesamte Versuchsdauer erhöhte Gesamtzucker-Blattspiegelwerte (Abb. 4-42 b). Jedoch war der Unterschied zu Kontrollen nur im August 2004 statistisch abzusichern ( $p \leq 0,01$ , einseitiger t-Test). Ein deutlich erhöhter Gesamtzucker-Blattspiegelwert trat ebenfalls im Juni 2005 bei dem letzten überlebenden Baum der zweifachen Stamminokulation auf. Da es sich jedoch um einen Einzelwert handelte, konnte dieser Unterschied zu den Kontrollen nicht statistisch geprüft werden.

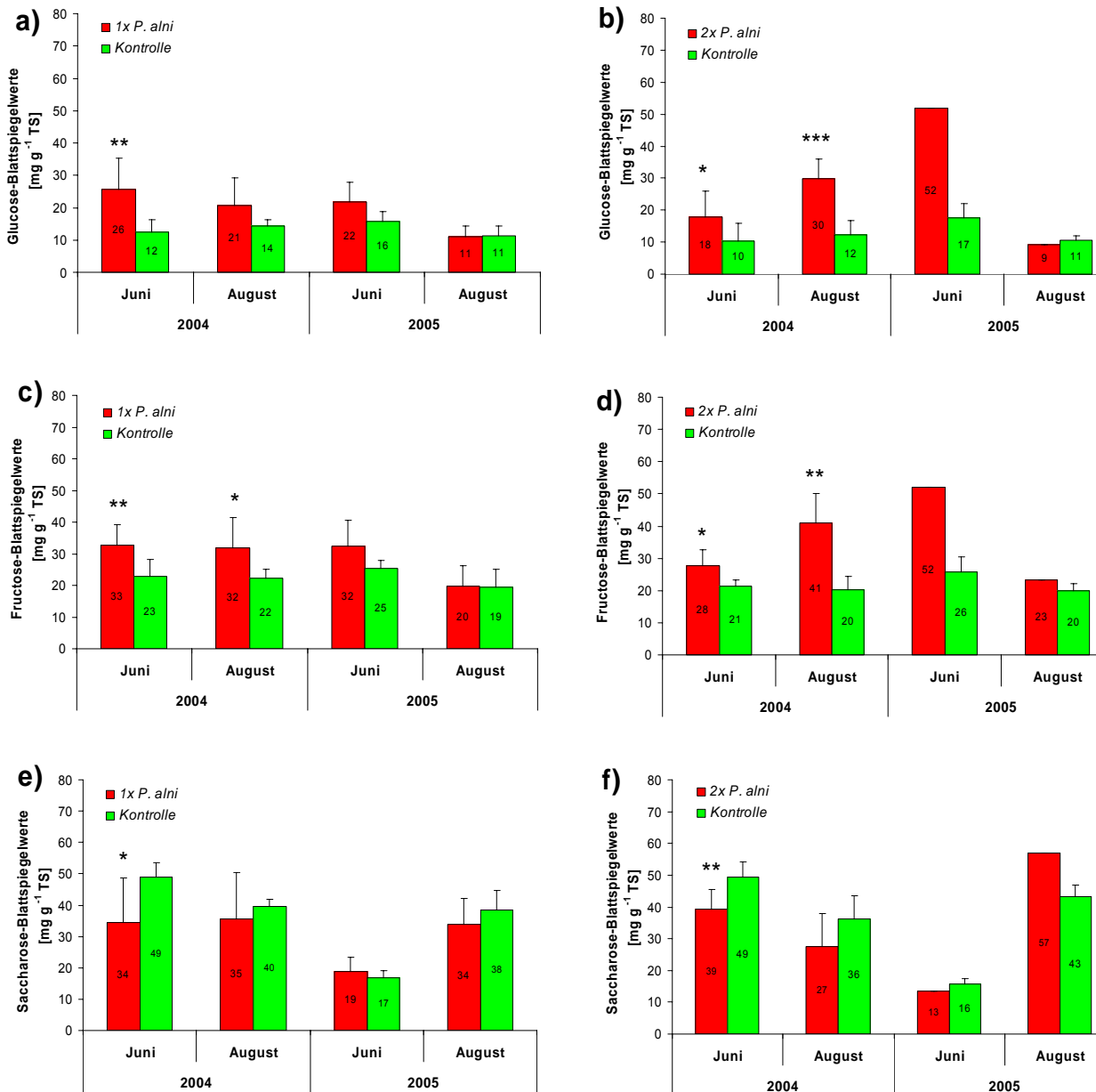


Abbildung 4-41 a-f: Zucker-Blattspiegelwerte einfach (a, c und e) und zweifach (b, d und f) *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminfizierten Erlen, sowie der Kontrollpflanzen der jeweiligen Inokulationsvarianten, Anfang Juni (63 bzw. 428 dpi) und Mitte August (133 bzw. 498 dpi) der Jahre 2004 und 2005. Für das Jahr 2004 ist der Mittelwert (+Standardabweichung) der Blattspiegelwerte von jeweils sechs bzw. fünf infizierten und sechs Kontrollpflanzen der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante dargestellt; für das Jahr 2005 der Mittelwert von zwei überlebenden Erlen der einfachen Inokulation und der Einzelwert der noch lebenden Erle der zweifachen Stamminokulation, sowie die Mittelwerte von jeweils sechs Kontrollen. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte von infizierten und Kontrollpflanzen im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ .



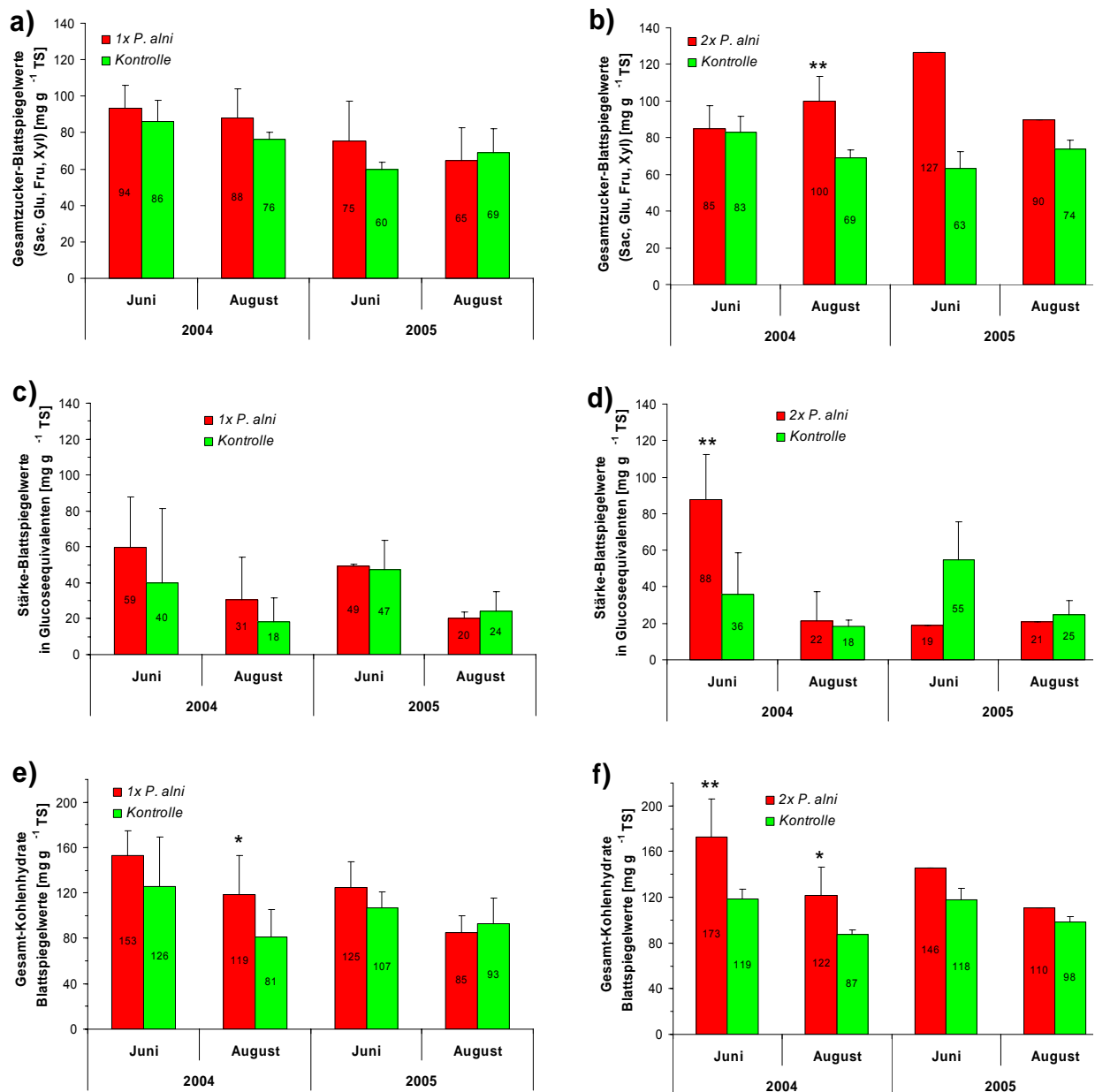


Abbildung 4-42: Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte einfach (a, c und e) und zweifach (b, d und f) *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminfizierten Erlen, sowie der Kontrollpflanzen der jeweiligen Inokulationsvarianten, Anfang Juni (63 bzw. 428 dpi) und Mitte August (133 bzw. 498 dpi) der Jahre 2004 und 2005. Für das Jahr 2004 ist der Mittelwert (+Standardabweichung) der Blattspiegelwerte von jeweils sechs infizierten und sechs Kontrollpflanzen der einfachen und zweifachen Inokulationsvariante dargestellt, für das Jahr 2005 der Mittelwert von zwei überlebenden Erlen der einfachen Inokulation und der Einzelwert der noch lebenden Erle der zweifachen Stamminokulation, sowie die Mittelwerte von jeweils sechs Kontrollen. Statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte von infizierten und Kontrollpflanzen im einseitigen t-Test sind mit Sternen markiert, \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ .

Die Stärke-Blattspiegelwerte einfach und zweifach stamminokulierter Erlepflanzen lagen in der Vegetationsperiode 2004 ebenfalls erkennbar über den Werten der Kontrollen, was im Folgejahr 2005 nicht mehr zu beobachten war. Im Jahr 2004 traten die größten Unterschiede des mittleren Stärke-Blattspiegelwertes zwischen infizierten

und gesunden Erlen im Juni auf. Diese Ergebnisse waren allerdings nur bei der zweifachen Stamminokulation statistisch signifikant (Abb. 4-42 d).

In Übereinstimmung mit den bereits vorgestellten Ergebnissen der Kohlenhydratanalysen an Blättern infizierter und gesunder Erlen zeigten stamminfizierte Erlen im Vergleich zu Kontrollen in der Vegetationsperiode 2004 und Anfang Juni 2005 erhöhte Gesamt-Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte (Abb. 4-42 e-f). Zum Ende der Infektionsversuche im August 2005 waren die Unterschiede zu Kontrollen nur mehr sehr gering. Statistisch signifikant höhere Gesamt-Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte (im einseitigen t-Test) wiesen die stamminfizierten Erlen jedoch nur in der Vegetationsperiode 2004 auf, die zweifach inokulierten Pflanzen sowohl im Juni als auch im August 2004, die einfach inokulierten Erlen hingegen nur im August 2004.

#### **4.2.2.5 Mikro- und Makroelementanalysen**

Um festzustellen, ob eine künstliche Stamminfektion mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* an jungen (dreijährigen) Erlentopfpflanzen, ebenso wie im Freiland bei natürlich infizierten adulten Erlen zu einer Unterversorgung der Blätter mit Stickstoff und anderen Nährelementen führt, wurden Anfang Juni 2004 (9 Wochen nach Inokulation) und Mitte August (19 Wochen nach Inokulation) von stamminfizierten und Kontrollerpflanzen Blattproben (3 Blätter/Baum) aus der oberen Kronenhälfte genommen und nach Trocknung und Zerkleinern einer Nährelementanalyse unterzogen.

Die Analysen der Blattproben aus dem Juni (63 dpi) ergaben für die Nährelemente Stickstoff (N), Phosphor (P) und Schwefel (S) keine signifikanten Unterschiede (einseitiger t-Test) der mittleren Blattspiegelwerte zwischen infizierten und nicht infizierten Erlen (Kontrollen). Dies war sowohl bei einfacher als auch bei zweifacher Stamminokulation der Fall (Tab. 4-15 und 4-16).

Dagegen zeigten die Blätter stamminfizierter Erlen im Juni deutlich geringere mittlere Blattspiegelwerte für Magnesium (Mg) und Calcium (Ca) im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Analysen an Blattproben aus dem August bestätigten weitgehend die Resultate von Anfang Juni (vgl. Tab. 4-15 mit 4-17 und 4-16 mit 4-18). Calcium- und Magnesium-Blattspiegelwerte einfach und zweifach infizierter Erlen waren im Vergleich zu Kontrollpflanzen weiterhin verringert, wobei die absoluten mittleren Calcium- und Magnesium-Blattspiegelwerte aller Versuchsbäume im Vergleich zum Juni etwas absanken (Tab. 4-15 bis 4-18). Darüber hinaus zeigten die Analyseergebnisse für den

August eine leicht verringerte Stickstoff-Ausstattung der Blätter infizierter Erlen an (Tab. 4-17 und 4-18, 17% und 10% Reduktion). Dies erwies sich bei der einfachen Inokulationsvariante sogar als statistisch signifikant (einseitiger t-Test).

Element (Maßeinheit)	einfach stamminokulierte Erlen		Kontroll- Erlen		Signifikanz- niveau  t-Test, einseitig	Reduktion (-) bzw. Erhöhung (+) in %  (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	MW	± SD	MW	± SD		
<b>C (% TS)</b>	<b>46,1</b>	± 2,6	<b>45,2</b>	± 1,6	n.s.	+2
<b>N (% TS)</b>	<b>2,1</b>	± 0,5	<b>2,3</b>	± 0,5	n.s.	-6
<b>P (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,2</b>	± 0,4	<b>1,2</b>	± 0,3	n.s.	-2
<b>S (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>2,1</b>	± 0,4	<b>1,9</b>	± 0,5	n.s.	+11
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>18,7</b>	± 7,1	<b>24,0</b>	± 8,3	n.s.	<b>-22</b>
<b>Mg (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>4,5</b>	± 0,8	<b>6,2</b>	± 1,3	p ≤ 0,05	<b>-27</b>
<b>K (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>7,2</b>	± 1,6	<b>7,2</b>	± 1,7	n.s.	+1

*Tabelle 4-15: Mittlere Blattspiegelwerte einiger Nährelemente von einfach Phytophthora alni subsp. alni stamminokulierten Erlen und gesunden Kontrollerlen 63 Tage nach Stamminokulation am 09.06.2004. Die Mittelwerte der beiden Kollektive wurden anhand der Blattspiegelwerte von jeweils sechs Bäumen berechnet. Dazu wurde zuvor der Nährelementgehalt einer Mischprobe von drei Blättern aus der oberen Kronenhälfte jedes Baumes bestimmt.*

Element (Maßeinheit)	zweifach stamminokulierte Erlen		Kontroll- Erlen		Signifikanz- niveau  t-Test, einseitig	Reduktion (-) bzw. Erhöhung (+) in %  (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	MW	± SD	MW	± SD		
<b>C (% TS)</b>	<b>47,1</b>	± 2,0	<b>45,0</b>	± 0,7	p ≤ 0,05	+5
<b>N (% TS)</b>	<b>1,9</b>	± 0,3	<b>2,1</b>	± 0,1	n.s.	-6
<b>P (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,0</b>	± 0,2	<b>0,9</b>	± 0,2	n.s.	+12
<b>S (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,8</b>	± 0,8	<b>1,7</b>	± 0,3	n.s.	+6
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>13,7</b>	± 4,7	<b>20,3</b>	± 3,8	p ≤ 0,05	<b>-31</b>
<b>Mg (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>3,5</b>	± 1,0	<b>5,4</b>	± 1,4	p ≤ 0,05	<b>-35</b>
<b>K (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>8,6</b>	± 2,5	<b>7,4</b>	± 1,8	n.s.	+16

*Tabelle 4-16: Mittlere Blattspiegelwerte ausgesuchter Nährelemente von zweifach Phytophthora alni subsp. alni stamminokulierten und gesunden Kontrollerlen 62 Tage nach Stamminokulation am 09.06.2004. Die Mittelwerte der beiden Kollektive wurden anhand der Blattspiegelwerte von jeweils sechs Bäumen berechnet. Dazu wurde zuvor der Nährelementgehalt einer Mischprobe von drei Blättern aus der oberen Kronenhälfte jedes Baumes bestimmt.*

Element (Maßeinheit)	einfach stamminokulierte Erlen		Kontroll- Erlen		Signifikanz- niveau  t-Test, einseitig	Reduktion (-) bzw. Erhöhung (+) in %  (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	MW	± SD	MW	± SD		
<b>C (% TS)</b>	<b>48,5</b>	± 1,4	<b>47,9</b>	± 1,3	n.s.	+1
<b>N (% TS)</b>	<b>1,9</b>	± 0,3	<b>2,3</b>	± 0,3	p ≤ 0,05	-17
<b>P (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>0,8</b>	± 0,2	<b>0,8</b>	± 0,1	n.s.	+7
<b>S (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,4</b>	± 0,5	<b>2,3</b>	± 1,2	n.s.	-39
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>11,8</b>	± 6,1	<b>18,2</b>	± 4,9	p ≤ 0,05	-36
<b>Mg (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>3,5</b>	± 1,5	<b>5,5</b>	± 1,7	p ≤ 0,05	-27
<b>K (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>7,2</b>	± 1,5	<b>7,2</b>	± 1,4	n.s.	+1

Tabelle 4-17: Mittlere Blattspiegelwerte ausgesuchter Nährelemente von einfach *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten Erlen und gesunden Kontrollerlen 133 Tage nach Stamminokulation am 18.08.2004. Die Mittelwerte der beiden Kollektive wurden anhand der Blattspiegelwerte von jeweils sechs Bäumen berechnet. Dazu wurde zuvor der Nährelementgehalt einer Mischprobe von drei Blättern aus der oberen Kronenhälfte jedes Baumes bestimmt.

Element (Maßeinheit)	zweifach stamminokulierte Erlen		Kontroll- Erlen		Signifikanz- niveau  t-Test, einseitig	Reduktion (-) bzw. Erhöhung (+) in %  (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	MW	± SD	MW	± SD		
<b>C (% TS)</b>	<b>49,7</b>	± 1,5	<b>48,5</b>	± 3,7	n.s.	+2
<b>N (% TS)</b>	<b>1,9</b>	± 0,3	<b>2,1</b>	± 0,3	n.s.	-10
<b>P (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,0</b>	± 0,2	<b>0,8</b>	± 0,2	p ≤ 0,05.	+28
<b>S (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>1,8</b>	± 0,7	<b>1,6</b>	± 0,2	n.s.	+17
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>10,1</b>	± 4,8	<b>15,5</b>	± 3,3	p ≤ 0,05	-35
<b>Mg (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>3,5</b>	± 1,2	<b>4,2</b>	± 0,9	n.s.	-17
<b>K (mg g<sup>-1</sup> TS)</b>	<b>8,8</b>	± 1,0	<b>6,9</b>	± 1,9	p ≤ 0,05	+28

Tabelle 4-18: Mittlere Blattspiegelwerte ausgesuchter Nährelemente von zweifach *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten Erlen und gesunden Kontrollerlen 132 Tage nach Stamminokulation am 18.08.2004. Die Mittelwerte der beiden Kollektive wurden anhand der Blattspiegelwerte von jeweils sechs Bäumen berechnet. Dazu wurde zuvor der Nährelementgehalt einer Mischprobe von drei Blättern aus der oberen Kronenhälfte jedes Baumes bestimmt.

### 4.3 Ergebnisse der Zuwachsmessungen

Im Rahmen der Infektionsversuche wurde der jährliche Zuwachs der stamminokulierten Erlen und gesunden Kontrollerlen erhoben. Dazu wurden vor Beginn und am Ende der Vegetationsperiode 2004 und 2005 die Sprosslänge und der Sprossdurchmesser (mit Rinde) der Versuchsbäume ermittelt. Im ersten Jahr der Infektionsversuche (2004) zeigten sowohl einfach als auch zweifach *Phytophthora alni subsp. alni* stamminokulierte Erlen im Vergleich zu Kontrollen signifikant verringerte Sprosslängen- und Durchmesserzuwächse (Tab. 4-19 und 4-20). Längen-, Dicken- und Flächenzuwächse waren im Durchschnitt bei zweifach inokulierten Versuchsbäumen 2004 geringer als bei einfach inokulierten Bäumen. Dieser Unterschied zwischen den Inokulationsvarianten erwies sich jedoch nur für den Durchmesserzuwachs und den davon abgeleiteten Stammflächenzuwachs im Mittelwertvergleich (einseitiger t-Test) als statistisch signifikant ( $p \leq 0,05$ ).

Im Vergleich zu Kontrollen waren die mittleren Sprosslängenzuwächse *Phytophthora alni subsp. alni* infizierter Erlen um ca. die Hälfte (49% bei einfacher Inokulation) bzw. um ca. zwei Drittel (63% bei zweifacher Inokulation) verringert. Der Durchmesserzuwachs in Wurzelhalshöhe war bei einfacher Inokulation im Vergleich zu Kontrollen um ca. ein Drittel geringer, bei zweifacher Inokulation um ca. zwei Drittel. In Inokulationshöhe war der Dickenzuwachs bei beiden Inokulationsvarianten stärker als am Wurzelhals reduziert. Dies war eine Folge der lokalen Zerstörung des Rindengewebes durch die *Phytophthora*-Infektion. Bezogen auf die Stammbasisfläche waren die Zuwachseinbußen infizierter Bäume im ersten Jahr der Infektionsversuche (Tab. 4-18 und 4-19) besonders hoch.

Im zweiten Jahr der Infektionsversuche (Tab. 4-21 und 4-22) zeigten die überlebenden stamminfizierten Erlen beider Inokulationsvarianten im Vergleich zu Kontrollerlen weiterhin einen reduzierten Sprosslängenzuwachs, jedoch einen ähnlich hohen und teilweise sogar höhere Durchmesser- bzw. Stammbasisflächenzuwächse als Kontrollen. Kontrollen der einfachen und zweifachen Stamminokulation zeigten im gegenseitigen Vergleich sowohl im Jahr 2004 als auch im Jahr 2005 keine statistisch signifikanten Unterschiede (t-Test) der Zuwachsparemeter. Unabhängig davon waren die Zuwächse der Kontrollen beider Inokulationsvarianten im zweiten Jahr der Infektionsversuche (2005) statistisch signifikant geringer als im ersten Jahr (2004).

einfache Stamm-Inokulation	Zuwachs 2004				Signifikanzniveau (einseitiger t-Test)	Reduktion(-) in % (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	1x <i>P. alni</i>		Kontrolle			
	Mittel	SD	Mittel	SD		
Sprosslänge (cm)	<b>40,0</b>	± 24,1	<b>77,9</b>	± 14,8	p ≤ 0,01	<b>-49</b>
Durchmesser Stammbasis (mm)	<b>15,9</b>	± 9,0	<b>24,8</b>	± 1,4	p ≤ 0,05	<b>-36</b>
Durchmesser in Inokulationshöhe (mm)	<b>13,6</b>	± 9,6	<b>23,5</b>	± 2,8	p ≤ 0,05	<b>-42</b>
Stammbasisfläche (cm <sup>2</sup> )	<b>5,9</b>	± 4,6	<b>10,1</b>	± 0,9	p ≤ 0,05	<b>-41</b>

Table 4-19: Zuwachsdaten der einfach *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamm-inokulierten dreijährigen Erlen und gesunden Controllerlen im Jahr der Inokulation (2004). Mittelwerte und Standardabweichung von jeweils sechs Bäumen pro Kollektiv (n=6).

zweifache Stamm-Inokulation	Zuwachs 2004				Signifikanzniveau (einseitiger t-Test)	Reduktion(-) in % (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	2x <i>P. alni</i>		Kontrolle			
	Mittel	SD	Mittel	SD		
Sprosslänge (cm)	<b>27,4</b>	± 13,0	<b>73,9</b>	± 16,9	p ≤ 0,001	<b>-63</b>
Durchmesser Stammbasis (mm)	<b>8,3</b>	± 3,7	<b>25,2</b>	± 2,1	p ≤ 0,001	<b>-67</b>
Durchmesser in Inokulationshöhe (mm)	<b>5,1</b>	± 4,2	<b>23,4</b>	± 1,0	p ≤ 0,001	<b>-78</b>
Stammbasisfläche (cm <sup>2</sup> )	<b>1,9</b>	± 1,4	<b>10,6</b>	± 1,3	p ≤ 0,001	<b>-82</b>

Table 4-20: Zuwachsdaten der zweifach *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamm-inokulierten dreijährigen Erlen und gesunden Controllerlen im Jahr der Inokulation (2004). Mittelwert und Standardabweichung von jeweils sechs Bäumen pro Kollektiv (n=6).

einfache Stamm- Inokulation	Zuwachs 2005				Signifikanz- niveau (einseitiger t-Test)	Reduktion(-), Erhöhung (+) in % (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	<i>1x P. alni</i>		Kontrolle			
	Mittel	SD	Mittel	SD		
Sprosslänge (cm)	<b>22,5</b>	± 14,8	<b>35,1</b>	± 20,6	n.s.	<b>-37</b>
Durchmesser Stammbasis (mm)	<b>9,6</b>	± 0,2	<b>8,7</b>	± 3,0	n.s.	<b>+10</b>
Stammbasis- fläche (cm <sup>2</sup> )	<b>7,4</b>	± 0,6	<b>6,1</b>	± 2,3	n.s.	<b>+21</b>

Table 4-21: Growth data of simple *Phytophthora alni* subsp. *alni* stem-inoculated four-year-old Erlen and healthy control Erlen in the second year after inoculation (2005). Mean and standard deviation of two surviving stem-inoculated trees (Tree No. 3 and 6) and of six control trees (n=2 bzw. 6).

zweifache Stamm- Inokulation	Zuwachs 2005				Signifikanz- niveau (einseitiger t-Test)	Reduktion(-), Erhöhung (+) in % (100% entspr. dem Mittelwert der Kontrollen)
	<i>2x P. alni</i>		Kontrolle			
	Einzelwert	SD	Mittel	SD		
Sprosslänge (cm)	<b>9,5</b>	---	<b>37,1</b>	± 10,1	---	<b>-74</b>
Durchmesser Stammbasis (mm)	<b>17,3</b>	---	<b>11,6</b>	± 4,5	---	<b>+49</b>
Stammbasis- fläche (cm <sup>2</sup> )	<b>9,1</b>	---	<b>8,7</b>	± 4,0	---	<b>+5</b>

Table 4-22: Growth data of a double *Phytophthora alni* subsp. *alni* stem-inoculated four-year-old Erle and healthy control Erlen in the second year after inoculation (2005). Single value of one surviving inoculated tree (Tree No. 5) and mean and standard deviation of six healthy control trees (n=1 bzw. 6).

## 5 Diskussion

### 5.1 Einfluss der Erkrankung auf den Blattgaswechsel und die Wasserverfügbarkeit in der Krone infizierter Schwarzerlen

#### 5.1.1 Freilanduntersuchungen

Bei Blattgaswechselfmessungen in der Vegetationsperiode 2003 unter natürlichen Lichtverhältnissen in der Sonnenkrone, zeigten Stamm- und Kronensymptome der Erlenphytophthora-Erkrankung tragende, ca. 20 jährige Schwarzerlen im Freiland im Vergleich zu symptomlosen Schwarzerlen geringere Nettophotosynthese- und Transpirationsraten sowie geringere stomatäre Leitfähigkeiten ( $gH_2O$ ) und Wassernutzungskoeffizienten ( $WUE_{Ph}$ ). Insbesondere im Hochsommer (Juli/August 2003) bei hoher Strahlungsintensität traten diese Unterschiede im Blattgaswechsel zwischen symptomtragenden und symptomlosen Schwarzerlen auf.

Die Beeinträchtigung des Blattgaswechsels von Pflanzen infolge von *Phytophthora*-Infektionen ist ein bekanntes Phänomen. Ploetz & Schaffer (1989) beobachteten an Avocado-Sämlingen (*Persea americana*) eine Verringerung der  $CO_2$ -Assimilation, Transpiration und stomatären Leitfähigkeit nach Wurzelinfektion mit *Phytophthora cinnamomi*. Dawson & West (1984) kamen zu ähnlichen Ergebnissen in Wurzelinfektionsversuchen mit dem selben Pathogen an *Eucalyptus sieberi*-Sämlingen und berichteten darüber hinaus über das Absinken des Wasserpotentials und des Wassergehaltes der Blätter sowie über eine reduzierte Wasserleitfähigkeit der Wurzeln bei infizierten Pflanzen. Auch Maurel et al. (2001a/b) beobachteten ein verringertes Blatt-Wasserpotential und eine reduzierte stomatäre Leitfähigkeit bei *Phytophthora cinnamomi* infizierten Sämlingen der Steineiche (*Quercus ilex*) und Edelkastanie (*Castanea sativa*). Schließlich fanden Crombie & Tippet (1990) bei Untersuchungen an adulten Bäumen in *Phytophthora cinnamomi* infizierten natürlichen Eucalyptus-Wäldern (*Eucalyptus marginata*), dass die stomatäre Leitfähigkeit bereits zu einem deutlich früheren Stadium der Erkrankung absank als das Blatt-Wasserpotential. Alle genannten Autoren führen die Beeinträchtigung des Blattgaswechsels und das Absinken des Wasserpotentials hauptsächlich auf die durch *Phytophthora cinnamomi* verursachte Wurzelzerstörung zurück. Die verringerte Wasseraufnahmefähigkeit bzw. Leitfähigkeit der Wurzel führe zu einem Wasserdefizit des Sprosses, welches anhand des verringerten Blatt-Wasserpotential erkennbar sei. Auf Blattebene versuchten die Pflanzen, dem Wassermangel des Sprosses durch einen verstärkten Stomatanschluss



zu begegnen. Maurel et. al. (2001a) fanden vergleichbare Beeinträchtigungen bezüglich der erwähnten physiologischen Parameter bei nicht infizierten (gesunden), durch Trockenheit gestressten Pflanzen. Im Gegensatz dazu ergaben ergänzende Zweig-Wasserpotentialmessungen ( $\Psi_{\text{predawn}}$  und  $\Psi_{\text{min}}$ ) an den Freilandern, über die gesamte Vegetationsperiode 2003 hinweg, im Vergleich zu symptomfreien Bäumen keine verringerte Wasserverfügbarkeit in der Krone symptomtragender Erlen. Vielmehr zeigten symptomtragende Bäume im Hochsommer (August) signifikant weniger negative Minimum-Zweigwasserpotentiale. Die Messung des Tagesganges des Zeig-Wasserpotentials einer symptomtragenden und einer symptomlosen Erle im August 2004 bestätigte nochmals die Ergebnisse der Wasserpotentialmessungen aus dem Jahr 2003. Die Wasserpotentialmessungen widerlegen also die Vermutung, dass die *Phytophthora*-Infektion einen erhöhten Trockenstress (stark negative Wasserpotentiale) in der Wirtspflanze verursachte. Es ist anzunehmen, dass die Infektion im Freiland nicht primär zur massiven Zerstörung der wasserleitenden Gewebestrukturen (Xylem) in der Wurzel des Wirtes führt. Diese Schlussfolgerung wird durch die Beobachtungen gestützt, dass die Erlen-*Phytophthora* bevorzugt das Rindengewebe des unteren Stammbereichs kolonisiert. Dies steht im Gegensatz zum Verhalten der nah verwandten Art *Phytophthora cinnamomi*, die z.B. an Avocado massive Wurzelschäden verursacht und den Wirt damit unter Trockenstress setzt. Die Folge sind deutlich negativere Wasserpotentiale infizierter im Vergleich zu gesunden Pflanzen (Sterne et al., 1978).

Ein weiterer interessanter Befund war, dass, obwohl keine Unterversorgung der Belaubung mit Wasser erkennbar war, es zu einer Beeinträchtigung der geschilderten Photosynthese-Parameter (verringerte Nettphotosynthese, Transpiration, stomatäre Leitfähigkeit und  $WUE_{\text{Ph}}$ ) kam. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Hemmung der Photosynthese durch Toxine des Pathogens sein, die systemisch in die Blätter gelangen. Als mögliche Kandidaten werden kleine *Phytophthora*-spezifische Proteine (< 10.000 kDa), sogenannte Elicitine, welche von *Phytophthora*-Arten während des Wachstums im Wirt in benachbartes Gewebe abgegeben werden, diskutiert (Brummer 2002, Brummer et al. 2002; Oßwald et. al. 2000). Allerdings zeigten die Ergebnisse von Fleischmann et al. (2005) und Maurel et al. (2004), dass diese Proteine bei Buchen und Eichen wohl nicht bei der systemischen Symptomentwicklung beteiligt sind.

Eine weitere mögliche Erklärung für den eingeschränkten Blattgaswechsel symptomtragender Erlen könnte die Endprodukthemmung der Photosynthese durch die beobachtete Phloemzerstörung am Stammfuß durch *Phytophthora alni* und nachträglich eindringende Wund- und Schwächeparasiten sein. Die Zerstörung des Phloems am Stammfuß symptomtragender Bäume betrug im Durchschnitt 47%; symptomlose Bäume wiesen hingegen nahezu keine Schäden des Rindengewebes am Stammfuß auf (Kap. 4.1.3). Dass es womöglich zu einem Phloemstau bei infizierten Erlen gekommen sein könnte, zeigte sich dadurch, dass Blätter symptomtragender Bäume trotz geringeren Nettphotosyntheseraten ebenso hohe und teilweise höhere Assimilatgehalte (Glucose, Fructose, Saccharose und Stärke) im Vergleich zu Blättern symptomloser Erlen aufwiesen.

### 5.1.2 Infektionsversuche

Blattgaswechsellmessungen im ersten Jahr der Infektionsversuche (2004) an *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten dreijährigen Erlen zeigten hohe Übereinstimmung mit den Befunden erkrankter Erlen aus dem Freiland (2003). Infolge der Infektion zeigten inokulierte Erlen gegenüber Kontrollen eine signifikant reduzierte stomatare Leitfähigkeit und eine niedrigere Nettphotosynthese- und Transpirationsrate der Blätter. Die verringerte stomatare Leitfähigkeit (Kap. 4.1.1) und Transpirationsrate der Blätter spiegelte sich in statistisch signifikant weniger negativen Minimum-Zweig-Wasserpotentialen (Nachmittagsmessungen) infizierter Erlen gegenüber gesunden Kontrollen wider und deuten auf eine hohe Wasserverfügbarkeit in der Krone trotz Stamminfektion hin. Dies bestätigt wiederum die Beobachtungen aus dem Freiland, dass die Stamminfektion mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* nicht primär zu einer Beeinträchtigung des Wassertransportes im Xylem führen muss.

Signifikant erhöhte Kohlenhydrat-Blattspiegelwerte (Glucose, Fructose und Stärke) stamminokulierter Erlen zum Zeitpunkt der ersten signifikanten Beeinträchtigung des Blattgaswechsels (Anfang Juni 2004) weisen auf einen Stau des Assimilattransportes infolge der Cortexzerstörung am Stammfuß durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* hin. Gleichzeitig konnten verringerte Blattspiegelwerte der Saccharose bei infizierten Erlen beobachtet werden, was darauf schließen lässt, dass auf Grund des Phloemstaus weniger Transportzucker (Saccharose) im Blatt metabolisiert wird und die Primärprodukte der Assimilation (Fructose und Glucose) in erhöhtem Maße in Form von Stärke gespeichert werden.

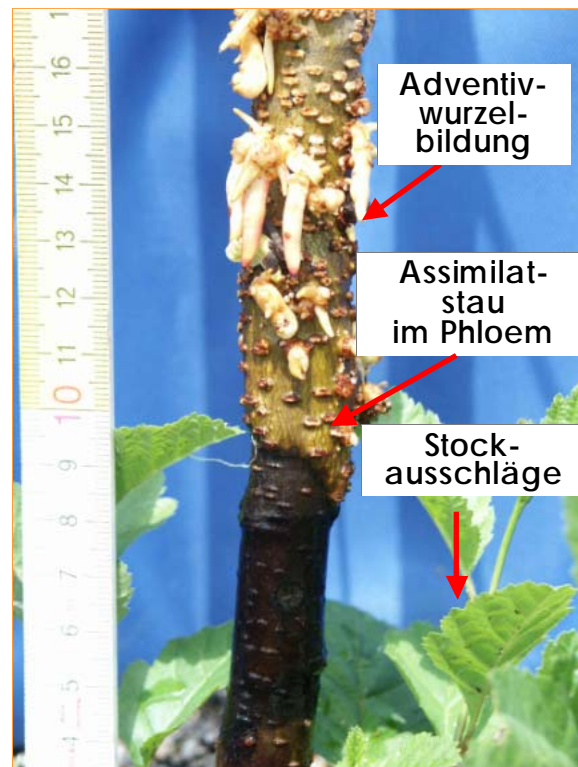


Abbildung 5-1: Adventivwurzelbildung oberhalb der durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* verursachten Rindenläsionen und Stockausschlagsbildung am Stammfuß infolge des Phloemstaus im dazwischen liegenden Rindengewebe des Stammes.

Demzufolge könnte es infektionsbedingt zu einer Inhibition der stammabwärts gerichteten Kohlenstoff-Allokation von den Blättern zur Wurzel und zu einer Anreicherung von Stärke in den Blättern kommen, was schließlich zu einer Endprodukthemmung der Photosynthese führte (Stitt & Schulze 1994). Die Bildung von Adventivwurzel bei vollständig stammumfassend geringelten Erlen oberhalb der Rindenläsionen und von Stockausschlägen am Wurzelhals deuteten ebenfalls auf eine massive Störung des Phloemstroms durch das Pathogen hin (Abbildung 5-1). Weiterhin stimmen erhöhte Gesamtzucker- und Gesamtkohlenhydrat-Blattspiegelwerte infizierter Erlen im August, trotz erheblich verringerter Nettphotosyntheseraten sowie die Korrelation zwischen der Beeinträchtigung der Nettphotosynthese und dem Ausmaß der Phloemzerstörung am Stammfuß (Kap. 4.2.2.2), mit diesem Erklärungsansatz überein. Vergleichbare Effekte bezüglich der Kohlenhydratakkumulation im Blatt auf die Photosynthese fanden Arraya et al. (2006) an Bohne (*Phaseolus vulgaris*) durch Zugabe von Saccharose über die Wurzel und Krapp & Stitt (1995) an Spinat (*Spinacia oleracea*) nach Unterbrechung des Phloemstroms am Blattstiel durch Kältegürtelung. Weiterhin fanden Schumacher et al. (2005) ebenfalls einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Größe der Rindennekrosenfläche am Stamm *Phytophthora alni* infizierter dreijähriger Erlen und der Verringerung der stomatären

Leitfähigkeit bzw. Nettophotosyntheserate. Bei sehr großen bzw. stammumfassenden Rindennekrosen sank die stomatäre Leitfähigkeit und die Nettophotosynthese einiger Bäume nahezu bis auf Null ab (Schumacher et al. 2005).

Das Szenario der Endprodukthemmung der Photosynthese vorausgesetzt, verhindert der stärkere Stomatenschluss bei infizierten Erlen auf Blattebene einerseits ein Absinken der  $WUE_{Ph}$  und andererseits den Anstieg der  $CO_2$ -Konzentration ( $c_i$ ) im Interzellularraum des Blattmesophylls (Schulze & Hall 1982). Dem zufolge könnte die gemessene Veränderung im Blattgaswechsel infizierter Erlen als eine systemische Reaktion auf die lokale Infektion durch *Phytophthora alni* am Stammfuß gedeutet werden. Zum Zeitpunkt der Probennahme für die Blatt-Kohlenhydratanalysen in 2004 (Juni und August) war die Phloemzerstörung am Stammfuß durch das Pathogen bei den meisten inokulierten Erlen noch nicht stammumfassend und somit der Phloemstrom nicht gänzlich unterbrochen. Dem zufolge war bei diesen die Erhöhung der Einfachzucker- (Glucose und Fructose) und der Stärke-Blattspiegelwerte häufig, aber nicht immer signifikant. Das Kollektiv der zweiseitig stamminokulierten Erlen wies deutlich stärkere Rindenerstörungen (Gürtelung) am Stammfuß als einfach stamminokulierte Erlen auf. Dem entsprechend waren die Zucker und Stärke-Blattspiegelwerte bei zweiseitiger Inokulation am stärksten erhöht und im Vergleich zur Kontrolle um das zwei- bis dreifache gesteigert. Krapp & Stitt (1995) berichteten von einer zwei- bis fünffachen Akkumulation von Saccharose, Glucose, Fructose und Stärke nach viertägiger Unterbrechung des Phloemstroms durch Kältegürtelung am Blattstiel von Spinatblättern. Parallel zur Assimilat-Akkumulation beobachteten sie eine Verringerung der Photosynthese, einen Abfall der maximalen Rubisco-Aktivität, die Herunterregulation des *rbcS*-Gens (kleine Untereinheit der Rubisco) und zwei weiterer Photosynthese-relevanter Gene (*cab* = Chlorophyll a bindendes Protein und *atpD* = D-Untereinheit der ATP-Synthase). Nach Aufhebung des Kälteblocks am Blattstiel verzeichneten sie innerhalb von zwei Tagen eine stetige Erholung der Photosynthese und den Anstieg der Transkripte für die *rbcS*-, *cab*- und *atpD*-Gene auf das Niveau ungegürtelter Kontrollen.

Trotz signifikanter verringerter Photosynthese zeigten stamminokulierte Erlen im Vergleich zu Kontrollen in 2004 keine oder nur geringe Unterschiede im Wassernutzungskoeffizienten der Photosynthese ( $WUE_{Ph}$ ). Dies deutet auf ein noch immer weitestgehend synchronisiertes Zusammenspiel von Photosynthese und stomatärer Regelung bei stamminfizierten Erlen hin. In Übereinstimmung mit den oben

genannten Ergebnissen von Stitt & Krapp (1995) zeigten die überlebenden Bäume der Stamm-Infektionsversuche im Sommer des Folgejahres 2005, nach deutlicher Überwallung und Kompensation des nekrotischen Rindengewebes im Frühjahr 2005, keine messbare Beeinträchtigung des Blattgaswechsels gegenüber Kontrollbäumen (vgl. Kap. 4.2.2.1).

Der deutliche Abfall der blattinternen  $\text{CO}_2$ -Konzentration ( $C_i$ ) bei infizierten Erlen zum Ende der Gaswechsellmessungen in der Vegetationsperiode 2004, könnte mit dem verstärkten Stomataschluss bei annähernd gleichbleibender Rubisco-Aktivität erklärt werden. Ein weiterer Grund für die verringerte stomatäre Leitfähigkeit infizierter Pflanzen könnte ein hormonelles Ungleichgewicht zwischen Wurzel und Spross gewesen sein, wie es auch Maurel et al. (2001a) bei *Phytophthora cinamomi* wurzelinfizierten Eichensämlingen (*Quercus* spp.) diskutierten. Cahill et al. (1986) zeigten ebenfalls für *Eucalyptus marginata*, dass es infolge der Infektion mit *Phytophthora cinnamomi* zu einer verringerten Cytokininkonzentration im Xylemsaft kam, was eine verringerte Öffnungsweite der Stomata nach sich zog.

Da die Wurzeln vermutlich durch den pathogenbedingten Phloemstau an einer Assimilatunterversorgung litten, könnte dies zu einer verringerten Cytokinin-Produktion der Feinwurzeln führen. Erschwerend könnte hinzukommen, dass infolge der reduzierten Blatttranspiration der Hormontransport über das Xylem von der Wurzel zum Spross verringert ist.

Aufgrund der verringerten Assimilation der Blätter *Phytophthora alni* subsp. *alni* infizierter Erlen, könnte es bei hoher Strahlungsintensität zu einer Photoinhibition der Lichtreaktion kommen, welche langfristig zu irreversiblen Schäden der Chloroplasten führen würde (Larcher 2001). Damit ließen sich die häufig zu beobachtenden Chlorosen und Nekrosen an lichtexponierten Blättern infizierter Erlen erklären, obwohl diese nicht unter Wassermangel litten. Darüber hinaus ist zu vermuten, dass es aufgrund der verringerten Blatttranspiration bei hoher Lichteinstrahlung zu einer unzureichenden Wärmeabfuhr und damit zu einem Wärmestau im Blattinneren kommt, was auf Dauer ebenfalls Schäden am Blattgewebe verursachen würde. Nach Larcher (2001) führen erhöhte Temperaturen im Blattgewebe zu Veränderungen des physikochemischen Zustandes von Biomembranen und der Konformation von Proteinköpfen, insbesondere von Thylakoidmembranen. Deshalb seien Störungen der Photosynthese eines der ersten Anzeichen einer Hitzebelastung.

## 5.2 Einfluss der Erkrankung auf die Belaubung

Symptomtragende Bäume im Freiland zeigten eine deutlich verringerte Belaubung. Im Vergleich zu symptomlosen Bäumen war bei symptomtragenden Bäumen das an Probeästen bestimmte Verhältnis zwischen Blatttrockenmasse und Astquerschnittsfläche (AQF) signifikant verringert. Symptomlose Bäume trugen im Durchschnitt dreimal mehr Blatttrockensubstanz pro AQF. Dies belegt einen erheblichen Blattverlust symptomtragender Bäume und deutet auf eine krankheitsbedingt verringerte Verzweigung hin. Die errechnete Blatttrockensubstanz der gesamten Krone der Versuchsbäume im Freiland war bei symptomtragenden Erlen ca. achtmal geringer als bei symptomlosen Bäumen. Die durch SLA-Proben (pro Kronendrittel) hergeleitete Blattfläche der Einzelbäume war bei symptomtragenden Bäumen durchschnittlich neunfach geringer. Etwas andere Relationen zwischen den symptomtragenden und symptomlosen Bäumen hinsichtlich der Blatttrockenmasse und Blattfläche erklären sich durch Unterschiede in der SLA zwischen den beiden Kollektiven. Blätter symptomtragender Bäume wiesen insgesamt signifikant niedrigere SLA-Werte auf, was morphologisch betrachtet bei diesen auf dickere Blätter im Vergleich zu symptomlosen Bäumen schließen lässt. Darüber hinaus nahm bei symptomlosen Bäumen die SLA mit steigender Kronenhöhe ab. Besonders große Unterschiede in der SLA bestanden bei diesen Bäumen zwischen dem obersten Kronendrittel und den darunter liegenden Kronenteilen. Somit ist bei den symptomlosen Bäumen anhand der Blattmorphologie eine Unterteilung der Belaubung in eine Sonnenkrone (mit Sonnenblättern) im obersten- und in eine Schattenkrone (mit Schattenblättern) im untersten sowie einen Übergangsbereich im mittleren Kronendrittel zu erkennen. Symptomtragende Bäume wiesen im Vergleich zu symptomlosen Bäumen auch in den beiden unteren Kronendritteln geringere SLA-Werte auf. Dies lässt bei symptomtragenden Bäumen eine Anpassung der Belaubung in den unteren Kronenteilen auf ein erhöhtes Lichtangebot durch Blattverluste in den oberen Kronenpartien vermuten.

Die erheblichen Differenzen in der durchschnittlichen Blattmasse und Blattfläche symptomtragender und symptomloser Bäume im Freiland lassen sich weder durch Altersunterschiede noch durch erhebliche Diskrepanzen bezüglich des Stammdurchmessers der Versuchsbäume erklären. Beide Kollektive wiesen anhand von Jahrringzählungen ein nahezu identisches Alter auf (durchschnittlich 20 bis 21 Jahrringe). Der mittlere Brusthöhendurchmesser symptomloser Bäume lag zum Ende der

Untersuchungen bei 16,9 cm, derjenige der symptomtragenden Bäume mit 15,8 cm (7% geringer) nur etwas darunter.

Die Unterschiede in der Blattmasse und Blattfläche lassen sich zumindest teilweise über die durchschnittlich mehr als zwei Meter geringere Baumhöhe symptomtragender Bäume gegenüber symptomlosen Bäumen erklären, was auf eine Verringerung des Höhenwachstums bzw. ein Zurücksterben des Gipfeltriebes infolge der Infektion bei symptomtragenden Bäumen hindeutet.

Wesentliche Ursache für die geringere Blattmasse und -fläche symptomtragender Bäume ist jedoch, wie bereits oben erwähnt, die erkrankungsbedingt verringerte Belaubungsdichte der Äste, was sich mit dem signifikant verringerten Verhältnis zwischen Blattfläche und AQF erklären lässt.

Symptomtragende Bäume wiesen trotz Befall durch holzerstörende Pilze im unteren Stammbereich durchschnittlich ein dreifach geringeres Verhältnis zwischen Laubfläche und visuell intakter Xylemfläche (in 40 cm Stammhöhe) auf. Daraus kann geschlossen werden, dass symptomtragende Bäume über die dreifache leitende Xylemfläche pro Blattfläche verfügen. CT-Aufnahmen der Stämme (in 1 m Stammhöhe) bekräftigen diesen Befund,

Einschränkend ist jedoch anzumerken, dass sowohl die visuelle Bestimmung als auch die computertomographische Erhebung der Wassersättigung des Gewebes keine Auskunft über die wasserleitende Funktion der verbleibenden „unbeeinträchtigten“ Xylemfläche symptomtragender Bäume liefert. Bei Berücksichtigung der Wasserleitfähigkeit der intakten Xylemfläche könnten sich andere Verhältnisse zwischen Blattfläche und „intakter“ Xylemfläche für symptomtragende und symptomlose Bäume ergeben.

Vielmehr deutet der abnehmende Quotient zwischen Laubfläche und wasserleitender Stammquerschnittsfläche auf eine verringerte Leitfähigkeit des verbleibenden funktionsfähigen Xylems bei symptomtragenden Bäumen hin. Zweig-Wasserpotentialmessungen zeigten, dass die Wasserfügbarkeit in der Krone symptomführender Erlen nicht eingeschränkt ist. Dies deutet darauf hin, dass diese Bäume durch Reduzierung der Belaubung (Blattwurf) trotz verringerter Leitfähigkeit des Stammes weiterhin die Wasserfügbarkeit in der Krone aufrechterhalten können. Ursache der verringerten Leitfähigkeit des verbleibenden leitenden Xylemgewebes könnten Cavitationen und daraus resultierende Embolien im Xylem sein, welche durch das Eindringen der beobachteten pilzlichen Holzerstörer verursacht würden.

### 5.3 Einfluss der Erkrankung auf den Xylemfluss im Stamm

Infolge der Besiedelung des Xylems durch holzerstörende Pilze im unteren Stammbereich symptomtragender Erlen im Freiland (Ausnahme Baum -B3) war der wasserleitende Querschnitt ebendort erheblich verringert (statistisch signifikant). In 1,0 m Stammhöhe betrug der visuell durch Holzfäulen beeinträchtigte Anteil bei erkrankten Bäumen durchschnittlich 27% (CT-Bildauswertung), in 0,4 m Stammhöhe sogar 44%. Im visuell intakten Xylem symptomtragender Erlen war die gemessene Flusssdichte ( $\text{kg H}_2\text{O d}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) gegenüber den Werten symptomloser Bäumen verringert. Insbesondere im äußeren Splintbereich (0-2 cm Splinttiefe) wiesen symptomtragende Erlen im Durchschnitt eine mehr als 50% niedrigere Flusssdichte auf. Dies lässt sich einerseits anhand des erniedrigten Verhältnisses zwischen Blattfläche und leitender Querschnittsfläche bei den erkrankten Erlen erklären, wobei die reduzierte Blattfläche einen geringeren Transpirationssog innerhalb des Stammes bedingen sollte. Andererseits könnte, wie bereits in Kapitel 5.2 erwähnt, der Befall der Stämme durch ligninabbauende Pilze und dem daraus resultierenden Lufteintritt zu einer verringerten Leitfähigkeit des noch intakten Xylemgewebes geführt haben. Möglicherweise trifft beides zu. Diese Hypothese wird durch die Ausnahmestellung von Baum Nr. 3 (-B3) der symptomtragenden Bäume gestützt. Dieser Baum zeigte nur geringen Blattverlust und keinen Befall durch Holzerstörer am Stamm und wies dementsprechend ähnlich hohe Flusssichten im Xylem wie symptomlose Bäume auf. Anhand der ermittelten Flusssichten in 0-2 cm und 2-4 cm Splinttiefe der einzelnen Versuchsbäume wurde der Tageswasserverbrauch je Baum errechnet. Bei Bäumen die von Holzfäule betroffen waren, wurde bei der Berechnung des Wasserverbrauchs nur der intakte Anteil des Xylems berücksichtigt. Bei Bezug des errechneten Wasserverbrauchs auf die ermittelte Blattfläche zeigte sich, dass die symptomtragenden Bäume einen vergleichbar hohen und teilweise höheren Wasserverbrauch aufweisen. Dies ist vermutlich auf die erhöhte Kronentransparenz bei symptomtragenden Bäumen zurückzuführen, sodass es innerhalb der Kronen erkrankter Bäume nur zu einer geringen Beschattung tiefer liegender Laubpartien gekam. Dementsprechend ist anzunehmen, dass die Transpiration und damit der Wasserverbrauch in den unteren Kronenteilen bei symptomtragenden Bäumen im Vergleich zu symptomlosen, voll belaubten Erlen höher lag. Gaswechsellmessungen wurden hingegen nur in der Sonnenkrone (oberes Kronendrittel) beider Kollektive durchgeführt, sodass keine



Daten über die Blattranspiration symptomloser und symptomtragender Bäume aus der „Schattenkrone“ vorliegen.

Insgesamt lassen die Ergebnisse der Xylemflussmessungen im Freiland auf eine Anpassung der Belaubungsdichte symptomtragender Erlen an eine erkrankungsbedingte Verringerung des wasserleitenden Querschnitts durch das Eindringen von holzzerstörenden bzw. -besiedelnden Pilzen in den Stamm schließen. Durch die gezielte Aufgabe von Anteilen der Belaubung könnten symptomtragende Erlen bei Beeinträchtigung des leitenden Querschnitts durch Holzfäulen dem Auftreten von Trockenstress in der Krone begegnen. Dementsprechend konnte keine verringerte Wasserverfügbarkeit anhand der durchgeführten Zweig-Wasserpotentialmessungen in den Kronen symptomtragender Erlen festgestellt werden.

Es ist zu vermuten, dass primäre Rindeninfektionen durch *Phytophthora alni* die Besiedelung des Xylems durch lignicole Pilze erheblich begünstigen, da ein großer Anteil der an Erlen auftretenden Holzzerstörer Wund- und Schwächeparasiten sind (Schumacher 2004), deren Eindringen die Verwundung des lebenden Rindengewebes (Rindenläsionen oder Astabbruchstellen) voraussetzt.

## 5.4 Nährelementeausstattung der Blätter erkrankter Erlen

### 5.4.1 Freilanduntersuchungen

Die Blätter symptomtragender Erlen im Freiland zeigten, im Vergleich zu denen symptomloser Bäume, signifikant geringere mittlere Blattspiegelwerte an Stickstoff (N), Phosphor (P) und Schwefel (S). Die Blattspiegelwerte der drei genannten Nährelemente waren bei symptomtragenden Bäumen durchschnittlich um etwa 25% reduziert. Wenn man mit einbezieht, dass die Blattmasse symptomtragender Bäume stark verringert war, sind die Effekte der Infektion auf den gesamten Nährstoff-Pool der Bäume betrachtet noch weit größer einzuschätzen. Dies lässt darauf schließen, dass die infolge der Stamminfektion verringerte Kohlenstoff-Allokation vom Spross zur Wurzel sich negativ auf die N-Fixierung der Wurzelsymbionten (*Frankia*-Bakterien: *Actinomyces alni*) ausgewirkt hat. Dies hätte letztlich zu einer geringeren N-Verfügbarkeit in geschädigten Bäumen geführt und könnte den verringerten N-Gehalt der Blätter erklären. Da Phosphor hauptsächlich durch Mykorrhiza-Pilze für die Pflanzenwurzeln verfügbar wird (Larcher 2001), dürfte die Ursache der verringerten Phosphor-Ausstattung geschädigter Bäume auf eine infektionsbedingte verringerte

Mykorrhizierung der Feinwurzeln zurückgehen. Die verringerte Schwefelausstattung der Blätter symptomtragender Erlen könnte ebenfalls darin begründet sein, da die Schwefelaufnahme der Wurzeln zumindest teilweise über Mykorrhiza-Pilze vollzogen werden kann. Andererseits ist die Aufnahme der Wurzel von Phosphor und Schwefel aus der Bodenlösung als Anionen mit einem erheblichen Energieaufwand für die Pflanze verbunden, da der Nährstofftransport entgegen eines Konzentrationsgradienten zwischen Rhizosphere und Pflanzencytoplasma vollzogen werden muss (Mimura 1999). Insbesondere bei Unterversorgung der Wurzeln durch Assimilate sollten solche energieaufwändigen Transportvorgänge beeinträchtigt sein.

Die mittleren Blattspiegelwerte anderer wichtiger Nährelemente hingegen, wie Magnesium (Mg), Calcium (Ca) und Kalium (K), waren im Vergleich zu symptomlosen Bäumen bei symptomtragenden Erlen, nahezu unverändert (Kap. 4.1.9). Das könnte darauf hindeuten, dass die Wurzel Aufnahme von Kationen und der Transpirationsstrom von der Wurzel bis in die Baumkrone trotz Infektion noch weitestgehend uneingeschränkt sind. Der etwas geringere C-Gehalt der Blätter symptomführender Erlen ließe sich durch die reduzierte Photosyntheseleistung und eine infektionsbedingt höhere Blattatmung (Agrios 2005) infizierter Bäume erklären.

#### 5.4.2 Infektionsversuche

Im Gegensatz zu den Ergebnissen adulter Erlen im Freiland, zeigten *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminfizierte dreijährige Erlentopfpflanzen, verglichen mit Kontrollen, zwei bzw. vier Monate nach Inokulation (63 und 133 dpi), keine signifikant erniedrigten Stickstoff-, Phosphor- und Schwefelgehalte der Blättern. Bei einfacher Stamm-inokulation waren die Stickstoff-Blattspiegelwerte nach 133 dpi ausnahmsweise signifikant erniedrigt. Blätter zweifach infizierter Erlen zeigten zu diesem Zeitpunkt ebenfalls eine leicht geringere N-Ausstattung als die der Kontrollen. Dies könnte darauf hindeuten, dass sich mit zunehmender Dauer der Infektion die Stickstoffversorgung der Blätter über die Wurzel verschlechterte.

Die Calcium- und Magnesium-Ausstattung der Blätter stamminfizierter Erlen war hingegen bei beiden Inokulationsvarianten zwei und vier Monate nach Inokulation nahezu durchgehend statistisch signifikant gegenüber Kontrollen verringert. Dies lässt im Gegensatz zu den adulten Erlen im Freiland auf eine erhebliche Beeinträchtigung des Transports dieser beiden Kationen über den Xylemstrom infolge der Stamminfektion mit *Phytophthora alni* schließen. Eine mögliche Erklärung dafür

könnte die, bei den Gaswechselformen beobachtete, verringerte Blattranspiration bei infizierten Erlen sein. Diese würde direkt den Xylemfluss und den Nähr-elementetransport negativ beeinflussen. Die Kaliumausstattung der Blätter stamm-inokulierter Erlen war erstaunlicherweise nicht verringert, was möglicherweise mit der hohen Mobilität des Kaliums innerhalb von Pflanzen (Marschner 1995) erklärbar wäre.

## 5.5 Pathogenwachstum im Wirtsgewebe und dieses beeinflussende Faktoren

Eines der zentralen Ziele der Stamminfektionsversuche mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* an dreijährigen Erlentopfpflanzen war es, Aufschluss darüber zu gewinnen, wie schnell das Pathogen das Wirtsgewebe besiedelt und welches die begrenzenden Faktoren für das Pathogenwachstum sind. Als Maß für das Pathogenwachstum wurde die vertikale und stammumfassende Rindenläsionsentwicklung genutzt.

In einem Beobachtungszeitraum von ca. 200 Tagen, der die gesamte Vegetationsperiode 2004 abdeckte (Anfang April bis Ende Oktober), betrug die durchschnittliche vertikale Ausbreitung des Pathogens im Wirtsgewebe bei einseitiger Stamminokulation  $0,8 \text{ mm d}^{-1}$  bzw.  $0,7 \text{ mm d}^{-1}$  bei zweiseitiger Stamminokulation. Höchste durchschnittliche vertikale Wachstumsraten des Pathogens wurden bei einfacher Inokulation im April mit  $1,4 \text{ mm d}^{-1}$  und bei zweifacher Inokulation im September und Oktober mit  $1,2 \text{ mm d}^{-1}$  beobachtet. Schumacher et al. (2005) verzeichneten im Vergleich dazu über eine Versuchsdauer von 90 Tagen einen ca. doppelt so hohen täglichen Läsionsfortschritt durch *Phytophthora alni* an dreijährigen Erlen. Eine mögliche Ursachen für die deutlich höheren Wachstumsraten des Pathogens bei Schumacher et al. (2005) könnte einerseits sein, dass Schumacher im Gegensatz zu den hier vorgestellten Versuchen (unter Freilandbedingungen), seine Infektionsversuche im Gewächshaus bei vergleichsweise konstanten äußeren Faktoren (Temperatur und Luftfeuchtigkeit) durchführte. Andererseits mögen die Unterschiede in der Verwendung anderer *Phytophthora alni* Isolate (Spreewald/Brandenburg) und Pflanzenherkünfte (Mittel- und Ostdeutsches Tief- und Hügelland) begründet sein. Ungeachtet dessen wies in unseren Infektionsversuchen das vertikale Pathogenwachstum und die stammumfassende Läsionsentwicklung in 2004 (April bis Oktober) erhebliche saisonale Unterschiede innerhalb und zwischen den Inokulationsvarianten (einfache und zweifach) auf (Kap. 4.2.1.4). Dies lässt auf eine individuell sehr unterschiedliche Anfälligkeit des verwendeten Pflanzenmaterials (Sonderherkunft: Landsberg am

Lech/Alpenvorland) schließen. Da keine Klone verwendet wurden, ist dies vermutlich auch auf die genetische Heterogenität der Versuchspflanzen zurückzuführen. Resistenzversuche von Gibbs (2003) in Großbritannien an jungen Erlen 15 verschiedener Herkünfte widerlegten die Hypothese einer möglichen Resistenz auf Provenienzebene von *Alnus glutinosa* gegenüber *Phytophthora alni*. Dagegen zeigten die Beobachtungen von Jung & Blascke 2004 und Streito et al. 2002 im Freiland eine „natürliche Resistenz“ bzw. erhöhte natürliche Toleranz einzelner Individuen gegenüber dem Pathogen. Die Auswertung beider Stamminokulationsversuche zeigte, dass die höchste Wachstumsaktivität (vertikal und stammumfassend) des Pathogens im April, also im ersten Monat nach Stamminokulation, gemessen wurde (Kap. 4.2.1.4). Die vertikale Läsionsmessung zeigte einen deutlichen Rückgang des Pathogenwachstums im Mai. Im Juni nahm die vertikale Pathogenausbreitung wieder zu und erreichte in den Sommermonaten Juli und August bis zum Ende der Beobachtungen im Oktober wieder ähnlich hohe Werte wie im April. Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von Schumacher (2003) zur saisonalen Aktivität von *Phytophthora alni* anhand seiner Isolierungserfolge im Freiland (Spreewald, Brandenburg) aus drei Folgejahren. Demnach ist die Aktivität des Pathogens und die Isolationsrate im zeitigen Frühjahr (April) hoch und sinkt daraufhin im Mai und Juni deutlich ab. Dies ist nach Schumacher (2003) darauf zurückzuführen, dass im April einerseits die äußeren Bedingungen (Temperatur und Wassersättigung im Wirtsgewebe) den Ansprüchen des Pathogens bereits genügen und andererseits das Abwehrvermögen der Erlen noch gering ausgeprägt ist. Im Gegensatz dazu ist die verringerte Aktivität des Pathogens im Mai und Juni durch die möglicherweise einsetzende Synthese von Abwehrsubstanzen, getrieben durch die anlaufende Photosynthese und das Einsetzen des Stamm- und Wurzelwachstums, bedingt. Schumacher (2003) zeigte weiter, dass die Erlen-*Phytophthora* ab Juli bis zu den ersten Frösten Ende des Jahres wieder mit hohen Erfolgsraten isoliert werden konnte. In den frostreichen Wintermonaten von Dezember bis März war die Pathogenentwicklung stark gehemmt und eine Isolierung war nur selten möglich. Ähnliche Aktivitätsphasen bzw. saisonale Unterschiede des Isolierungserfolges von *Phytophthora alni* beschrieb auch Streito (2000, 2002b) für Frankreich, obwohl dort ein milderes Winterklima vorherrscht. Brasier & Kirk (2001) beobachteten bei Pathogenitätstests mit *Phytophthora alni* an gefälltten Erlen-Stammabschnitten ebenfalls eine starke saisonale Variation der Rindenläsionsentwicklung. In Ihren

Experimenten verursachte *Phytophthora alni* die großflächigsten Rindenläsionen an Stammabschnitten, die im Zeitraum von Juli bis Oktober gefällt wurden und geringere Rindenschäden an November bis März geernteten Stämmen.

Im Gegensatz zu den hier vorgestellten Ergebnissen und Erfahrungen aus Isolierungsversuchen im Freiland verzeichneten Brasier & Kirk (2001) wiederholt in Pathogenitätstest nahezu keine Läsionenbildung an Stammabschnitten (20-30 cm Durchmesser) adulter Erlen, welche im April, zum Zeitpunkt des Blattaustriebes, geschlagen wurden. Brasier & Kirk (2001) begründeten dies damit, dass insbesondere im April zum Zeitpunkt des Blattaustriebes in der Rinde gespeicherte Assimilate und pathogenhemmende Metabolite zur Abwehr mobilisiert werden. Dies steht im Widerspruch zu unseren Ergebnissen der Infektionsversuche an jungen Erlen und könnte auf Unterschiede im Abwehrvermögen zwischen juvenilen und adulten Erlen zu Beginn der Vegetationsperiode hindeuten.

Der Vergleich der Rindenoberflächentemperatur in der Vegetationsperiode 2004 mit dem Wachstum des Pathogens ließ anhand der Tagesmittelwerte keinen direkten Zusammenhang erkennen (Kap. 4.2.1.4). So unterschritten die aufgezeichneten Tagesminimumwerte der Rindenoberfläche nur im Mai und Oktober die Minimumtemperatur des Kulturwachstums des Pathogens von ca. 5°C (Brasier et al. 1995). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die tatsächliche Temperatur in der inneren Rinde, dort wo das Pathogen hauptsächlich wächst, durch die isolierende Wirkung des Gewebes sicher etwas über den gemessenen Tagesminima auf der Rindenoberfläche lag. Gleiches gilt sinngemäß für die ermittelten Tagesmaxima, wobei die tatsächlichen maximalen Temperaturen im Gewebe etwas unter den gemessenen Oberflächenwerten liegen sollten. Die obere Temperaturgrenze für das Kulturwachstum von *Phytophthora alni* subsp. *alni*, die in unseren Wachstumsversuchen bei 32°C lag, wurde im gesamten Beobachtungszeitraum nur an einem Tag, Anfang Juni, auf der Rindenoberfläche überschritten. Insbesondere im Juli und Anfang August lagen die Tagesmaxima der Rindenoberflächentemperatur häufig deutlich über der Optimumtemperatur für das Pathogenwachstum. Im Falle der einfach stamminkulierten Erlen wuchs das Pathogen in den beiden Sommermonaten trotzdem vertikal weiter. Stammumfassend dehnte es sich im Juli ebenfalls stark aus. Bei der zweifachen Inokulationsvariante hingegen zeigte der vertikale und stammumfassende Läsionsfortschritt in den beiden besonders warmen Monaten Juli und August einen Rückgang. Angesichts dieser unterschiedlichen Ergebnisse war ein eindeutiger Einfluss der

Rindentemperatur auf das Pathogenwachstum in unserer Versuchsreihe nicht abzuleiten. Es ist zu vermuten, dass; sofern die Rindentemperatur nicht dauerhaft (Tage bis Wochen) außerhalb der oberen und unteren Temperaturgrenzen des Kulturwachstums von *Phytophthora alni* subsp. *alni* liegt, das Wachstum maßgeblich von anderen Einflussgrößen als die Gewebetemperatur bestimmt wird. Als Gründe für die wechselnde Aggressivität werden saisonale Schwankungen im Wassergehalt des Bastes und, wie bereits erwähnt, die jahreszeitlich unterschiedliche Fähigkeit des Wirtes, Kohlenhydrate und fungitoxische Metabolite für die Pathogenabwehr zu mobilisieren, diskutiert (Cahill & McComb 1992, Schumacher 2004, Brasier & Kirk 1999). Dass geringe Wassergehalte der Rinde die Entwicklung von *Phytophthora*-Pathogenen beeinträchtigen, zeigten Studien von Tippett et al. (1987) und von Marcais et al. (1993). Darüber hinaus zeigten Schumacher et al. (2006) im Laborversuch an inokulierten Erlensamen, dass *Phytophthora alni* verhältnismäßig wenig tolerant gegenüber Kälte ist. Die Lagerung inokulierter Samen bei  $-15^{\circ}\text{C}$  bzw.  $-5^{\circ}\text{C}$  führte innerhalb von drei Tagen bzw. dreißig Tagen zum Tod des Pathogens. Dreißigtägige Aufbewahrung bei  $0^{\circ}\text{C}$  überlebte *Phytophthora alni* hingegen. Bei unseren Infektionsversuchen erwies sich, in Übereinstimmung zu den Ergebnissen von Schumacher (2006), *Phytophthora alni* im Wirtsgewebe als kälteempfindlich. Bei der Überwinterung (2004/2005) der stamminokulierten Erlen unter natürlichen Bedingungen im Freien, starb das Pathogen vermutlich während einer mehrwöchigen Frostperiode im Februar und März 2005 mit Temperaturen bis zu  $-25^{\circ}\text{C}$  ab. In der Vegetationsperiode 2005 kam es infolge dessen bei den drei überlebenden Bäumen der einzelnen Inokulationsvarianten des Vorjahres zu keiner weiteren Läsionsentwicklung.

Das starke vertikale und stammumfassende Pathogenwachstum beider Infektionsvarianten direkt nach der Inokulation im April und der erkennbare Zuwachsrückgang im Mai waren vermutlich auch darauf zurückzuführen, dass die Erlentopfpflanzen, nach Inokulation in der zweiten Aprilwoche, um einen möglichst hohen Infektionserfolg zu gewährleisten, die ersten drei Wochen des Versuchs (bis Ende April) frostfrei im Gewächshaus standen. Nachdem die Versuchsbäume daraufhin für den restlichen Versuchsfortgang in eine Vegetationshalle mit klimatischen Bedingungen, die dem Freiland entsprechen, umgestellt wurden, waren sie deutlich größeren Temperaturschwankungen ausgesetzt, was vermutlich ebenfalls zu dem Wachstumsrückgang des Pathogens im Mai beitrug.

Entscheidende Einflussgröße für den Grad der Beeinträchtigung der Physiologie des Wirtes scheint anhand unserer Untersuchungen das Ausmaß der stammumfassenden Phloemzerstörung (Gürtelung) durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* und die dadurch einhergehende Veränderung im Kohlenstoffhaushalt des Wirtes zu sein. Das vertikale Pathogenwachstum gibt darüber keine Auskunft und kann, wie hier gezeigt, höchstens Aufschluss über Phasen unterschiedlicher Aktivitäten des Pathogens liefern. In den vorgestellten Infektionsversuchen an dreijährigen Erlenpflanzen wurde gezeigt, dass die Infektion mit *Phytophthora alni* subsp. *alni* alleine ausreichte, den Wirt zum Absterben zu bringen. Die Besiedelung der Wurzel durch das Pathogen ist damit nicht unbedingt nötig, um den Wirt zu töten.

Insgesamt waren nach ca. einem Jahr Versuchsdauer 75% der stamminkulierten Erlen (67% bei einfacher und 83% bei zweifacher Stamminkulation) abgestorben. Erlen, welche Ende Oktober 2004 stammumfassende Rindenläsionen von 90% und mehr aufwiesen, vermochten im Frühjahr 2005 fast ausnahmslos nicht mehr auszutreiben. Dies deutet ebenfalls auf eine starke Beeinträchtigung des Phloemtransportes durch die Infektion hin, was vermutlich im Herbst, bei nahezu vollständig gegürtelten Bäumen, die Verlagerung der Assimilate in die Wurzeln verhinderte, welche für den Blattaustrieb im nächsten Frühjahr von entscheidender Bedeutung sind.

## 5.6 Einfluss des Pathogens auf das Wirtswachstum

Im ersten Jahr der Infektionsversuche (2004) zeigten sowohl einfach als auch zweifach *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminkulierte Erlen, im Vergleich zu Kontrollen, signifikant verringerte Sprosslängen- und Durchmesserzuwächse (Kap. 4.3). Der verringerte Zuwachs infizierter Erlen ist vermutlich hauptsächlich auf die verringerte Assimilationsleistung ihrer Blätter in Folge der Phloemzerstörung am Stamm zurückzuführen. Darauf deutet auch die Beobachtung hin, dass Längen- und Dickenzuwächse bei zweifach inkulierten Versuchsbäumen mit besonders stark stammumfassenden Rindenläsion (Gürtelungsprozenten) durchschnittlich stärker reduziert waren als bei einfach inkulierten Bäumen mit geringerer Phloemzerstörung am Stamm. Eine weitere Ursache könnte sein, dass ein Teil des assimilatorisch gewonnenen Kohlenstoffs der Pflanzen in die Abwehr des Pathogens und nicht in das Sprosswachstum investiert wurde. Insbesondere im direkten Infektionsbereich am Stamm wäre zu erwarten, dass das Pflanzengewebe erhöhte Atmungsraten aufwies,

da große Energiemengen für die Produktion und Mobilisierung von Abwehrsubstanzen benötigt werden (Agrios 2005). Die besonders starke Reduktion des Dickenzuwachses in Inokulationshöhe der infizierten Erlen war wahrscheinlich auf die Zerstörung des Stammkambiums durch das Pathogen zurückzuführen. Jüptner (2006) zeigte anhand ökophysiologischer (Fluoreszenz- und Absorptionsanalysebilder) und histologischer Untersuchungen an Stammquerschnitten *Phytophthora alni* subsp. *alni* inokulierter Erlen, dass das gesamte lebende Rindengewebe inklusive Kambium und Phloem durch das Pathogen zerstört wurde. Im zweiten Jahr der Infektionsversuche (2005) zeigten die drei noch lebenden stamminokulierten Erlen keine weitere Beeinträchtigung des Gaswechsels auf Blattebene nachdem im Winter das Pathogen abgestorben war und keine weitere Läsionsentwicklung im Rindengewebe mehr stattfand. Das Höhenwachstum des Sprosses der überlebenden infizierten Pflanzen war jedoch auch in der Vegetationsperiode 2005 im Vergleich zu gesunden Kontrollen verringert. Durchmesser- bzw. Stammbasisflächenzuwächse waren hingegen ähnlich hoch und teilweise höher. Dies deutet auf eine verstärkte Investition der infizierten Pflanzen in das Dickenwachstum des Sprosses hin, um Verluste des Vorjahres an Kambium-, Xylem- und Phloemgewebe möglichst schnell zu kompensieren. Im Freiland wiesen symptomtragende Bäume gegenüber symptomlosen Bäumen ebenfalls einen reduzierten Dickenzuwachs auf. Im Beobachtungszeitraum (Juli 2003 bis September 2005) zeigten symptomtragende Erlen im Freiland ein um ca. 40% verringertes Dickenwachstum des Brusthöhendurchmessers. Dies könnte einerseits auf die krankheitsbedingte reduzierte Assimilationsfläche der Krone, andererseits auf die Zerstörung des Kambium- und Rindengewebes im unteren Stammbereich (durchschnittlich 47% visuell geschädigt in 0,4 m Stammhöhe) durch primäre *Phytophthora alni*-Infektionen und Sekundärpathogene zurückzuführen sein. Darüber hinaus ist eine erhöhte Umsteuerung des Metabolismus erkrankter Bäume in Abwehrmechanismen vorstellbar, um zum Beispiel die Holzerstörer im Stamm einzugrenzen (Kompartimentierungs-Konzept nach Shigo 1994).



## 5.7 Bedeutung parasitischer Weißfäuleerreger im Rahmen der Erlen- *Phytophthora*-Erkrankung

Wie die Untersuchungen an Stammscheiben und Stammabschnitten der Versuchsbäume im Freiland zeigten, waren drei von vier symptomtragenden Erlen im unteren Stammbereich (max. bis in 2,5 m Stammhöhe) von holzerstörenden Pilzen massiv befallen (44 bis 66% des Xylemquerschnitts in 0,4 m Stammhöhe). Symptomlose Erlen hingegen zeigten keinen Befall. Dass im Rahmen des Erlensterbens auch Weißfäuleerreger eine Rolle spielen, wurde bereits mehrfach von Schumacher (2002, 2003, 2004) beschrieben. In Übereinstimmung mit unseren Untersuchungen im Freiland an symptomtragenden Erlen kommt Schumacher (2003) zu dem Schluss, dass, wenngleich das neuartige Erlensterben primär durch die rezent entstandene Erlen-*Phytophthora* verursacht wird, sich jedoch unabhängig vom Bestandesalter in vielen Fällen eine komplexere Pathogenese feststellen lässt, der verschiedene Wund- und Schwächeparasiten angehören können. Dabei dienen den sekundären Parasiten die nekrotisierten Gewebe bevorzugt als Eintrittspforte in die geschwächten Bäume. Der einsetzende Holzabbau führe zu einem zusätzlichen physiologischen und mechanischen Stabilitätsverlust, wodurch der Krankheitsprozess forciert werde (Schumacher 2003). In Untersuchungen zu den Ursachen des Erlensterbens im Biosphärenreservat Spreewald, fanden Schumacher et al. (2006) an 20% der primär durch *Phytophthora alni* spp. erkrankten Bäume Pilzfruchtkörper von insgesamt zehn verschiedenen Weißfäuleerregern. Die Pilzfruchtkörper wurden insbesondere an absterbenden oder bereits abgestorbenen Rindenpartien *Phytophthora alni* ssp. infizierter Erlen gefunden. Unter den auftretenden Weißfäuleerregern ist der Erlen-Schillerporling (*Innonotus radiatus* [Fr.] P. Karst.) auf Grund seiner Stetigkeit und seiner pathologischen Bedeutung hervorzuheben. Die Infektion durch *Innonotus radiatus* erfolgte immer stammbürtig, z.B. über Rindenläsionen oder Astabbruchstellen (Schumacher 2004). Weitere häufig auftretende und ihres pathologischen Potentials wegen bedeutende Weißfäuleerreger an Erlen sind der meist über Wurzeln eintretende und Stockfäulen verursachende Hallimasch (*Armillaria melea* s. l.) sowie die beiden stammbürtigen Pilze Hochthronender Schüppling (*Pholiota aurivella*) und Schiefer Schillerporling (*Innonotus obliquus*) (Schumacher 2003, 2004). Im Falle der hier untersuchten symptomtragenden Versuchsbäume im Freiland konnte bis auf *Phellinus punctatus* L. (Mündl. Mitteilung M. Blaschke, LWF Bayern 2006), der jedoch nur als schwacher Parasit bzw. als Saprophyt an Erle eingeschätzt wird (Jahn 1967),

kein weiterer Artennachweis der holzerstörenden Pilze erbracht werden. Fruchtkörperbildung der Weißfäulepilze wurde an den Stämmen symptomtragender Erlen im Freiland nicht beobachtet.

Anhand der hier vorgestellten Ergebnisse der ökophysiologischen und phytopathologischen Untersuchungen an natürlich *Phytophthora alni* infizierten Erlen im Freiland und stamminokulierten Erlentopfpflanzen sowie den Beobachtungen von Schumacher (2004) lassen sich folgenden Szenarien im Rahmen der Pathogenese des neuartigen Erlensterbens ableiten:

- Verringertes Abwehrvermögen der Wurzel primär *Phytophthora alni* infizierter Erlen durch verringerte Assimilatversorgung aus der Krone infolge pathogenbedingter Zerstörung eines Teils des Phloemgewebes am Stamm.
- Durch die Schwächung der Wurzel erleichtertes Eindringen von wurzelbürtigen Stockfäulen, wobei insbesondere *Armillaria mellea* s. l. zu nennen ist.
- Primäre Rindeninfektionen durch *Phytophthora alni* und dadurch entstehende Rindenläsionen fördern das Eindringen von stammbürtigen Wund- und Schwächeparasiten (*Innonotus radiatus* u. a.).
- Die Holzbesiedelung durch Weißfäulepilze führt zum Verlust eines Teils der wasserleitenden Querschnittsfläche und verringert möglicherweise die Leitfähigkeit des verbleibenden wasserleitenden Querschnitts durch Lufteintritt in den Stamm (Cavitationen → Embolien in den Leitgefäßen).
- Der Sproß gerät unter Trockenstress und reagiert darauf mit Laubabwurf, was die reduzierte Belaubung infizierter Erlen erklärt.
- Weitere Zerstörung des Rindengewebes und Kambiums am Stammfuß über das Ausmaß der primären Rindenläsionen durch *Phytophthora alni* hinaus werden durch parasitische Weißfäulerreger verursacht. Insbesondere *Armillaria* sp. ist in der Lage, auch das Rinden- und Kambiumgewebe zu besiedeln (Agris 2005).
- Darüber hinaus führt der Holzabbau durch Weißfäulepilze zur mechanischen Destabilisierung befallener Bäume.

## 5.8 Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen Freiland- und Infektionsversuchen

Auf Grund der unterschiedlichen Vorgehensweise bei Gaswechselformen im Freiland (bei natürlichem Licht) und bei Infektionsversuchen (bei Lichtsättigung der Photosynthese) ist das Ausmaß der Beeinträchtigung des Blattgaswechsels durch die Erlen-*Phytophthora*-Erkrankung bei adulten Erlen und juvenilen Erlen nur schwer zu vergleichen. Jedoch zeigten symptomtragende Erlen im Freiland ebenfalls bei hoher Lichtintensität ( $\text{PPFD} > 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), in Analogie zu stamminfizierten Erlen, reduzierte Nettphotosyntheseraten. Das Ausmaß der Phloemzerstörung am Stammfuß belief sich bei symptomtragenden Erlen auf durchschnittlich 44% (zwischen 29% und 67% bei den Einzelbäumen). Bei *Phytophthora alni* subsp. *alni* stamminokulierten Erlentopfpflanzen betrug es hingegen zum Zeitpunkt der letzten Gaswechselformen (ca. 140 dpi) im August der Vegetationsperiode 2004 bei einfacher Inokulation im Durchschnitt 82%, bei zweifacher Inokulation durchschnittlich 98%. Deshalb wäre zu erwarten, dass das Ausmaß der Beeinträchtigung der Physiologie auf Blattebene und Gesamtbaumebene an künstlich stamminfizierten juvenilen Topfpflanzen deutlicher zu erkennen ist, als bei natürlich infizierten Altbäumen im Freiland. Dementsprechend zeigten, im Gegensatz zu symptomtragenden Freilandbäumen, insbesondere zweiseitig stamminokulierte Topfpflanzen mit sehr hohen Gürtelungsprozents am Stammfuß deutlich (signifikant) erhöhte Blattassimilatgehalte und zum Ende des Beobachtungszeitraumes in 2004 (August) ein fast vollständiges Erliegen des Blattgaswechsels. Die verringerte stomatäre Leitfähigkeit (Kap. 4.1.1) und Transpirationsrate der Blätter dieser zweifach infizierten Topferlen spiegelten sich in statistisch hoch signifikant geringer negativen Minimum-Zweigwasserpotentialen (Nachmittagsmessungen) gegenüber gesunden Kontrollen wider. Bei symptomtragenden Bäumen im Freiland kam es in Folge der Erkrankung nur zu einem geringfügigen Anstieg der Minimum-Zweigwasserpotentiale (nur im Hochsommer leicht signifikant). Analysen der Nährstoffausstattung an Blättern der Versuchsbäume im Freiland lassen vermuten, dass bei symptomtragenden Bäumen der Xylemstrom noch so weit funktioniert, dass eine Versorgung der Blätter mit leicht verfügbaren Nährelementen (Ca, Mg und K) trotz Erkrankung gewährleistet bleibt. Eine verringerte Stickstoff-, Phosphor- und Schwefel-Ausstattung der Blätter symptomtragender Erlen im Freiland deutet auf eine dauerhaft verringerte Versorgung (chronischer Mangel) der Wurzel mit Assimilaten auf Grund der Phloemzerstörung am Stamm hin.

Stamminokulierte Topfpflanzen hingegen zeigten eine verringerte Calcium- und Magnesium-Ausstattung der Blätter, was auf eine deutliche Beeinträchtigung des Transpirationsstromes durch den infektionsbedingten starken Stomataschluss auf Blattebene hindeutet. Wasserpotentialmessungen zeigten, sowohl im Freiland bei symptomtragenden Bäumen als auch bei stamminokulierten Erlen, dass die festgestellte Beeinträchtigung des Gaswechsels nicht primär auf einer verringerten Wasserverfügbarkeit in der Krone der Bäume beruht. Vielmehr lassen die gesammelten Ergebnisse der Inokulationsversuche darauf schließen, dass die physiologische Beeinträchtigung des Wirtes durch die *Phytophthora alni*-Infektion primär vom Ausmaß der pathogenbedingten Phloemzerstörung am Stammfuß bestimmt wird.

Bei symptomtragenden Erlen im Freiland wurde zusätzlich zu der primären *Phytophthora alni*-Infektion eine Besiedelung des Xylems durch Weißfäulerreger festgestellt, welches den Ergebnissen der Xylemflussmessungen nach zu einer Beeinträchtigung des Wassertransports im Baum führt und sehr wahrscheinlich den Krankheitsprozess beschleunigt.

Insgesamt führte die Stamminfektion durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* bei jungen Erlentopfpflanzen zu einem schnell voranschreitenden Krankheitsprozess, sodass bereits ein Jahr nach Inokulation 75% der Versuchspflanzen abgestorben waren. Symptomtragende adulte Erlen im Freiland hingegen zeigten einen deutlich langsameren und teilweise sogar stagnierenden Krankheitsfortschritt. Keine der vier symptomtragenden Erlen im Freiland verstarb innerhalb des Beobachtungszeitraums von 2 ½ Jahren (April 2003 bis September 2005), obwohl diese erhebliche Schäden des Rinden- und Kambialgewebes (29 bis 65% zerstört) am Stammfuß durch *Phytophthora alni*-Infektionen und Folgepathogene aufwiesen. Die verbleibende Bastfläche reichte zumindest aus, um das Überleben der infizierten Bäume zu gewährleisten. Somit stellte sich der Krankheitsprozess des durch *Phytophthora alni* verursachten Erlensterbens bei adulten Bäumen, mit großen zu besiedelnden Rinden- und Kambialflächen im Vergleich zu jungen Erlen mit geringen Stammumfängen als erheblich langwieriger dar.

## 6 Schlussfolgerung

### 6.1 Erklärungsmodell

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten ökophysiologischen und phytopathologischen Untersuchungen sowie die Zuhilfenahme vorhandener Literaturdaten (Kapitel 5), lassen auf eine Abfolge von Mechanismen auf verschiedenen, baum-internen Skalenebenen schließen, die dem Absterben von *Phytophthora alni* infizierten Schwarzerlen zu Grunde liegen.

Folgende Kausalkette des Krankheitsablaufes kann aufgrund der Untersuchungsergebnisse abgeleitet werden, wobei primäre und sekundäre sowie lokale und systemische Effekte der *Phytophthora alni*-Infektion unterschieden werden können. Die vielschichtigen Effekte einer *Phytophthora alni*-Infektion auf die Physiologie des Wirtes sind in Abbildung 6-1 dargestellt.

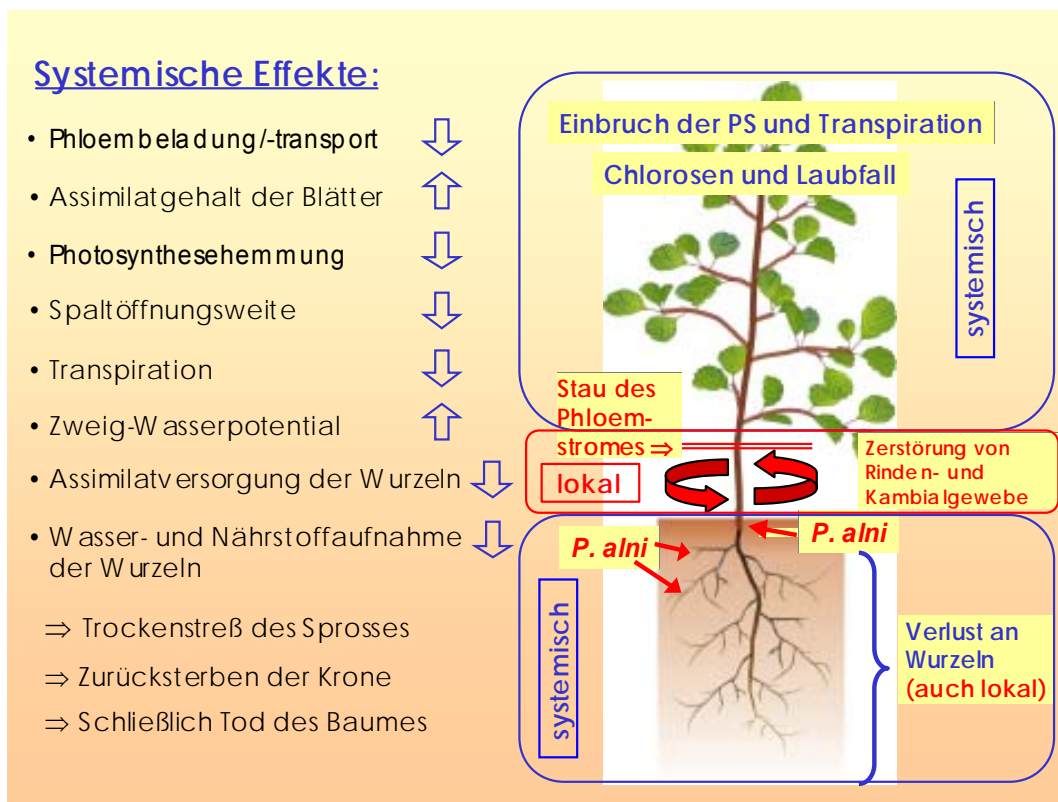


Abbildung 6-1: Erklärungsmodell der vielschichtigen Effekte einer *Phytophthora alni*-Infektion auf die Physiologie der Schwarzerle unter Berücksichtigung lokaler und systemischer Auswirkungen.

*Phytophthora alni* subsp. *alni* infiziert direkt am Wurzelhals über Lentizellen oder über oberflächennahe Adventivwurzeln, wächst anschließend stammaufwärts und zerstört dabei das Phloemgewebe. Dadurch kann es lokal zu einer Beeinträchtigung oder auch, je nach Ausmaß der Rindenläsion, zu einem vollständigen Stau des Phloemtransportes kommen. Dies wiederum zöge, über die Endprodukthemmung der Photosynthese, eine reduzierte Rubisco-Aktivität, das Verengen der Spaltöffnungen und dadurch bedingt den Anstieg des Zweigwasserpotentials in der Krone, nach sich. Bei hoher Strahlungsintensität hätte dies wiederum, über Photoinhibition und den Wärmestau im Blatt, Chlorosen und Nekrosen auf Blattebene zur Folge.

Die verminderte Versorgung der Wurzeln mit Assimilaten kann zudem zu einem geringeren Wurzelwachstum bis hin zum Verlust ganzer Wurzelpartien führen. Außerdem wären energieaufwändige Prozesse, wie z.B. die Schwefelaufnahme, eingeschränkt. Darüber hinaus dürfte die Unterversorgung der Wurzeln mit Assimilaten zum Absterben wichtiger Symbionten, den Actinomyceten (N-Fixierung) oder von Mykorrhiza-Pilzen (P-Aufnahme) führen, was die geringeren Stickstoff- und Phosphorgehalte der Blättern infizierter Erlen, im Vergleich zu Kontrollen, erklären würde. Darüber hinaus dürfte der infektionsbedingt verringerte Transpirationsstrom allgemein den Nährelementtransport von der Wurzel zu den Blättern reduzieren, sodass es im Spross auch zu einem Mangel an leicht verfügbaren Nährelementen, wie Calcium und Magnesium, kommt. Starke Wurzelschäden können im Extremfall zu einer verringerten Wasserversorgung des Sprosses führen, was Blattfall und eine Verringerung der Gesamtblattfläche nach sich zieht.

Die primär durch *Phytophthora alni* subsp. *alni* verursachten Rindenläsionen am Stammfuß können zudem den Eintritt von stambürtigen Wund- und Schwächepathogenen (z.B. *Innonotus radiatus* u.a.) begünstigen. Die weitere Zerstörung des Kambium- und Rindengewebes durch diese, sowie eine beginnende Holzfäule, wären die Folge. Dies wiederum kann zu Stabilitätseinbußen der Bäume und zu einer erhöhten Bruchgefahr bei Wind und Schnee führen.

Der weitaus bedeutendere Einfluss der Weißfäulepilze dürfte in der zusätzlichen Verringerung des wasserleitenden Querschnittes des Xylems und der damit weiter reduzierten Wasserversorgung der Krone bestehen. Darüber hinaus ist bei der Besiedelung des Stammes durch Weißfäuleerreger der Eintritt von Luft (Cavitation) in das noch verbleibende intakte Xylem nicht auszuschließen.

## 6.2 Synopsis

Die Zusammenschau der im Zuge dieser Arbeit gesammelten Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Beeinträchtigung der Vitalität und Physiologie *Phytophthora alni* infizierter Schwarzerlen vorrangig auf der vom Pathogen verursachten Phloemzerstörung am Stammfuß und der damit verbundenen Störung des Kohlenstoff-Haushaltes der Bäume beruht. Sowohl Kohlenstoffgewinn (Assimilation) auf Blattebene als auch die Kohlenstoffverlagerung innerhalb des Baumes (Allokation) wurden durch das Pathogen erheblich gestört und führten zu einer empfindlichen Schwächung der gesamten Wirtsphysiologie.

Aus den durchgeführten Freilanduntersuchungen und Infektionsversuchen ist zu schließen, dass junge Bäume mit geringen Stammantelflächen deutlich schneller durch das Pathogen zum Absterben gebracht werden als alte Bäume mit großen Stammumfängen, da den Ergebnissen der Infektionsversuche nach erst eine nahezu komplett den Stamm umfassende Phloemzerstörung durch *Phytophthora alni* den Wirt zum Absterben bringt. Anhand der Untersuchungen im Freiland lässt sich folgern, dass insbesondere adulte Erlen mit großen Stammumfängen, eine Primärinfektion durch *Phytophthora alni* mehrere Jahre zu überstehen vermögen. Bei adulten Erlen liegt durch zusätzlichen Befall von Wund- und Schwächeparasiten häufig eine komplexe Pathogenese vor.

Demzufolge wäre es im Zuge des „neuartigen Erlensterbens“ ratsam, bei erkrankten Altbäumen von einem Schädigungs-Komplex mit dem Primärpathogen *Phytophthora alni* zu sprechen, da, wie in dieser Arbeit angesprochen, häufig keine äußeren Anzeichen (Pilz-Fruchtkörper) eines Weißfäulebefalls bei erkrankten Erlen zu erkennen sind. Das Ausmaß der zusätzlichen physiologischen Beeinträchtigung durch die Reduktion des wasserleitenden Querschnitts infolge der Holzerstörung durch Weißfäulen kann, wie hier gezeigt, trotzdem erheblich sein. Demnach ist bei erkrankten Altbäumen häufig nicht eindeutig zu bestimmen ob nun der Befall durch das Primärpathogen *Phytophthora alni* oder das Hinzutreten von Folgepathogenen (Weißfäuleerreger) für das Absterben ursächlich ist. Vermutlich ist häufig ein Zusammenspiel beider Schädigungskomplexe der Fall.

Darüber hinaus zeigten stamminkultierte Erlentopfpflanzen (keine Klone) eine individuell unterschiedliche Anfälligkeit gegenüber der aggressiven Unterart *Phytophthora alni subsp. alni*. Zwei von zwölf Pflanzen entwickelten nur sehr

kleinräumige Rindenläsionen nach Stamminokultion mit dem Pathogen. Dies stützt die Vermutung, dass einzelne Individuen der Schwarzerlen eine gewisse natürliche Resistenz bzw. Toleranz gegenüber der Erlen-*Phytophthora* aufweisen und lässt für die Zukunft hoffen, dass im Freiland (Mitteleuropa) trotz *Phytophthora alni* zumindest ein Teil des natürlichen Schwarzerlenbestandes erhalten bleibt.



## 7 Literaturverzeichnis

- Agrios G (2005): Plant Pathology. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam
- Alsheimer M (1997): Charakterisierung räumlicher und zeitlicher Heterogenität der Transpiration unterschiedlicher montaner Fichtenbestände (*Picea abies* [L.] Karst.) durch Xylemflussmessungen. Dissertation aus dem Lehrstuhl für Pflanzenökologie II. Hrg. Bayreuther Instituts für Terrestrische Ökosystemforschung (BITÖK), Universität Bayreuth
- Araya T, Noguchi Ko, Terashima I, (2006): Effects of carbohydrate accumulation on photosynthesis differ between sink and source leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell Physiology* **47 (5)**, 644-52
- Bakonyi J, Nagy ZA, Ersek T (2006): PCR-based DNA Markers for Identifying Hybrids within *Phytophthora alni*. *J. Phytopathology* **154**, 168-177
- Bakonyi J, Nagy ZA, Ersek T, (2006): PCR-based DNA markers for identifying hybrids within *Phytophthora alni*. *Journal of Phytopathology* **154 (3)**, 168-77
- Balci Y, Halmschlager E (2003): *Phytophthora* species in oak ecosystems in Turkey and their association with declining oak trees. *Plant Pathology* **52**, 694-702
- Bangsow R, Huch R, Male D, Müller S, (2002): Polymerase Kettenreaktion (PCR). In: Schimpf G (Hrsg.). Gentechnische Methoden: Eine Sammlung von Arbeitsanleitungen für das gentechnische Labor. Spektrum, Akad. Verlag Heidelberg; Berlin
- Barett TM, Demetrios G, Jeremy SF, Waddell KL (2006): Sudden Oak Death in California: What Is The Problem? *Journal of Forestry*, March 2006, 61-64
- Blumenröther MC, Löw M, Matyssek R, Oßwald W (2007): Flux-based response of sucrose and starch in leaves of adult beech trees (*Fagus sylvatica* L.) under chronic ozon free-air fumigation. *Plant Biology* (im Druck)
- Bonant P, Hagenaar-de Weerd M, van Gent-Pelzer M, Lcourt I, Cooke D, Duncan J, (1997): Detection and identification of *Phytophthora fragariae* Hickman by the polymerase chain reaction. *European Journal of Plant Pathology* **103**, 345-355
- Brasier CM (1992): Oak tree mortality in Iberia. *Nature* **360**, 359

- Brasier CM (1996): *Phytophthora cinnamomi* and oak-decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Ann Sci For* **53**, 347-358
- Brasier CM, Beales PA, Kirk SA, Denman S, Rose J (2005): *Phytophthora kernoviae* sp. nov., an invasive pathogen causing bleeding stem lesions on forest trees and foliar necrosis of ornamentals in UK. *Mycological Research* **109**, 853-59
- Brasier CM, Cooke DEL, Duncan JM, (1999): Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **96**, 5878-83.
- Brasier CM, Denman S, Brown A, Webber JF (2004b): Sudden oak death (*Phytophthora ramorum*) discovered on trees in Europe. *Mycological Research* **108**, 1107-1110
- Brasier CM, Denman S, Rose J, Kirk SA, Hughes KJD, Griffin RL, Lane CR, Inman AJ, Webber JF (2004c): First report of ramorum bleeding canker on *Quercus falcata*, caused by *Phytophthora ramorum*. *Plant Pathology* **53**, 804
- Brasier CM, Jung T (2003). Progress in understanding *Phytophthora* disease of trees in Europe. In: McComb JA, Hardy GE St J, Tommerup I, eds. *Phytophthora in Forests and Natural Ecosystems. Proceedings of the Second International Meeting of IUFRO Working Party 07.02.09, Albany, Western Australia, 2001. Perth, Australia: Murdoch University* pp 4-10
- Brasier CM, Kirk SA (2001): Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder phytophthoras, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. *Plant Pathology* **50**, 218-229
- Brasier CM, Kirk SA, Delcan J, Cooke DEL, Jung T, Man In't Veld A, (2004a). *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research* **108**, 1172-84
- Brasier CM, Rose J, Gibbs JN, (1995): An unusual *Phytophthora* associated with widespread alder mortality in Britain. *Plant Pathology* **44**, 999-1007
- Brasier CM, Strouts RG (1976): New records of *Phytophthora* on trees in Britain. I. *Phytophthora* root rot and bleeding canker of Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *Europ. J. For. Path.* **6**, 129-136

- Brown AV, Brasier CM (2007): Colonization of tree xylem by *Phytophthora ramorum*, *P. kernoviae* and other *Phytophthora* species. *Plant Pathology* (im Druck)
- Brummer M (2002): Untersuchungen zu physiologischen, morphologischen und biochemischen Veränderungen an mit *Phytophthora quercina* infizierten Eichen. Dissertation, Technische Universität München, Fakultät für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
- Brummer M, Arend J, Fromm J, Schlenzig A, Oßwald WF, (2002): Ultrastructural changes and immunocytochemical localization of the elicitor quercinin in *Quercus robur* L. roots infected with *Phytophthora quercina*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **61**, 109-20
- Butin H, (1989): Krankheiten der Wald- und Parkbäume: Diagnose, Biologie, Bekämpfung. Thieme Verlag, Stuttgart; New York
- Cahill DM, McComb JA (1992): A comparison of changes in phenylalanine ammonia lyase activity, lignin and phenolic synthesis in roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **40**, 315-32
- Cahill DM, Weste GM, Grant BR (1986): Changes in cytokinin concentrations in xylem extrudate following infection of *Eucalyptus marginata* Donn ex Sm with *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Plant Physiology* **81**, 1103-9
- Campbell NA (1997): Biologie. Spektrum Verlag, Heidelberg-Berlin-Oxford
- Cavalier-Smith T (1989): The kingdom *Chromista*. In: Green JC, Leadbeater BSC, Diver WL (Hrsg.). The chromophyte algae: Problems and perspectives. *Syst Assoc Spec* **38**, 381-407
- Cech TL (1997): *Phytophthora* – Krankheit der Erle in Österreich. *Forstschutz Aktuell* **19/20**, 14-6.
- Cooke DEL, Drenth A, Duncan JM, Wagels G, Brasier CM (2000): A Molecular Phylogeny of *Phytophthora* and Related Oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* **30**, 17-32
- Crombie S, Tippet JT, (1990): A comparison of water relations, visual symptoms and changes in stem girth for evaluating impact of *Phytophthora cinnamomi* dieback on *Eucalyptus marginata*. *Can. J. For. Res.* **20**, 233-240

- Dawson P, Weste G, (1984): Impact of root infection by *Phytophthora cinnamomi* on the water relations of two *Eucalyptus* species that differ in susceptibility. *Phytopathology* **74** (4), 486-9
- Day WR (1932): The ink disease in England. *Forestry* **6**, 182
- Day WR (1938): Root-rot of sweet chestnut and beech caused by species of *Phytophthora*. I. Cause and symptoms of disease: Its relation to soil conditions. *Forestry* **12**, 101-116
- De Merlier D, Chandelier A, Debruxelles N, Noldus M, Laurent F, Dufays E, Claessens H, Cavelier M, 2005. Characterization of Alder *Phytophthora* Isolates from Wallonia and Development of SCAR Primers for their Specific Detection. *Phytopathology* **153**, 99-107.
- Delcan J, Brasier CM (2001): Oospore viability and variation in zoospore and hyphal Tapp derivatives of the hybrid alder *Phytophthora*. *Forest Pathology* **31**: 65-83
- Erwin DC, Ribeiro OK (1996): *Phytophthora Diseases Worldwide*. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA
- Fisher und Jates (1963): Statistical Tables of Biological, Agricultural and Medical Research, Oliver and Boyd, Edinburgh
- Fleischmann F, Koehl J, Portz R, Beltrame AB, Oßwald W (2005): Physiological changes of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola* and the contribution of its elicitor "citricolin" to pathogenesis. *Plant Biology* **7**, 650-8
- Fleischmann F, Schneider D, Matyssek R, Oßwald W (2002): Investigations on net CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration and root growth of *Fagus sylvatica* infested with four different *Phytophthora* species. *Plant Biology* **4**, 144 -52
- Fromm J, Sauter I, Matthies D, Kremer J, Schumacher, Ganter C (2001): Xylem water content and wood density in spruce and oak trees detected by high resolution computer tomography. *Plant Physiology* **127**, 416-425
- Gibbs JN (1995): *Phytophthora* root disease of alder in Britain. *EPPO Bulletin* **25**, 661-4
- Gibbs JN, Van Dyck C & Webber JF (2003): *Phytophthora* disease of alder. *Forestry Commission Bulletin (UK)* **126**, 1-82

- Granier A (1985): Une nouvelle methode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Ann. Sci. For.* **42**, 81-88
- Granier A (1987a): Mesure du flux de sève brute dans le tronc du Douglas par une nouvelle méthode thermique. *Ann. Sci. For.* **44**, 1-14
- Granier A (1987b). Evaluation of transpiration in a Douglas fir stand by means of sap flow measurements. *Tree Physiol.* **3**, 309-320
- Hansen EM, Goheen DJ, Jules ES, Ullian B (2000): Managing Port-Orford-Cedar and the introduced pathogen *Phytophthora lateralis*. *Plant Disease* **84**, 4-10
- Hartig R (1880): Der Buchenkeimlingspilz (*Peronospora fagi* M.), *Unters. Forstbot. Inst. München* **1**, 53-57
- Hartmann G (1995): Wurzelfäule der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*) – eine bisher unbekannte Pilzkrankheit durch *Phytophthora cambivora*. *Forst und Holz* **50**, 555-7.
- Hartmann G, Blank R (1998). Buchensterben auf zeitweise nassen Standorten unter Beteiligung von *Phytophthora*-Wurzelfäule. *Forst und Holz* **53**, 187-193
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN (1995): *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*, 8. Aufl. CAB International, Wallingford
- Hecker U (1985): Wildwachsende Bäume, Sträucher u. Zwerggehölze. BLV Verlagsgesellschaft, München-Wien-Zürich
- Heiser I, Oßwald WF, Elstner EF (1998): (Review) The formation of reactive oxygen species by fungal and bacterial phytotoxins. *Plant Physiology and Biochemistry* **36**, 703-13
- Ioos R, Andrieux A, Marcais B, Frey P. (2006): Genetic characterization of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analysis. *Fungal Genetics and Biology* **43 (7)**, 511-29
- Ioos R, Husson C, Andrieux A, Frey P (2005): SCAR-based PCR primers to detect the hybrid pathogen *Phytophthora alni* and its subspecies causing alder disease in Europe. *European Journal of Plant Pathology* **112**, 323-335.
- Jahn H (1966/67): Die resupinaten *Phellinus*-Arten Mitteleuropas mit Hinweis auf die resupinaten *Innonotus*-Arten und *Poria expansa* (Desm.) (*Polyporus megaloporus* Pers.). In: *Westfälische Pilzbriefe*, Hrg. Pilzkundliche Arbeitsgemeinschaft in Westfalen, Detmold. VI. Band, **Heft 3-6**, 37-108

- Jung T (2004): Phytophthora schädigt Buchenbestände in ganz Bayern. *LWF-aktuell* **43**, 36-37
- Jung T, Blaschke H (1996): *Phytophthora* root-rot in declining forest trees. *Phyton (Austria)* **36**, 95-102
- Jung T, Blaschke H, Oßwald W (2000a): Involvement of *Phytophthora* species in central European oak decline and the effect of site factors on the disease, *Plant Pathology* **49**, 706-18
- Jung T, Blaschke M (2001): *Phytophthora*-Wurzelhalsfäule der Erlen. *LWF Merkblatt* **6**
- Jung T, Blaschke M (2003): Ausmaß und Verbreitung der *Phytophthora*-Erkrankung der Erlen in Bayern, Ausbreitungswege und mögliche Gegenmaßnahmen. *Forst und Holz* **58**, 246-251
- Jung T, Blaschke M (2004): *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathology* **53**, 197-208
- Jung T, Cooke D, Blaschke H, Duncan J, Oßwald WF (1999): *Phytophthora quercina* sp. nov, a new species causing root rot on European oak species. *Mycological Research* **103**, 785-798
- Jung T, Nechwatal J, Cooke DEL, Hartmann G, Blaschke M, Oßwald WF, Duncan JM und Delatour C (2003): *Phytophthora pseudosyringae* sp. nov., a new species causing root and collar rot of deciduous tree species in Europe. *Mycological Research* **107**, 772-789
- Jung T, Schlenzig A, Blaschke M, Adolf B, Oßwald WF (2000b): Erlensterben durch *Phytophthora* – Droht Bayerns Erlen eine Epidemie? *LWFaktuell* **24**, 22-5
- Jüptner M (2006): Ausbreitung und Wirkung von *Phytophthora alni* in Erlen – Ökophysiologische und anatomische Untersuchungen an Schwarzerlen (*Alnus glutinosa*). Diplomarbeit. Erstellt am Institut für Angewandte Botanik, Universität Duisburg-Essen, 87 Seiten
- Koziolek C, Grams TEE, Schreiber U, Matyssek R, Fromm J (2004): Transient knockout of photosynthesis mediated by electrical signals. *New Phytologist* **161**, 715-22

- Krapp A, Quick WP, Stitt M (1991): Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase, other calvin-cycle enzymes and chlorophyll decrease when glucose is supplied to mature spinach leaves via the transpiration stream. *Planta* **186**, 58-69
- Krapp A, Stitt M (1995): An evaluation of direct and indirect mechanisms for the "sink-regulation" of photosynthesis in spinach: Changes in gas exchange, carbohydrates, metabolites, enzyme activities and steady-state transcript levels after cold-girdling source leaves. *Planta* **195**, 313-23
- Larcher (2001): Ökophysiologie der Pflanzen - Leben, Leistung und Streßbewältigung der Pflanzen in ihrer Umwelt; 77 Tabellen, 6. Neubearb. Aufl. Verlag Ulmer, Stuttgart
- Lautner S, Grams TEE, Matyssek R, Fromm J (2005): Photosynthetic response to heat-induced electrical signalling in poplar. *Plant Physiology* **138**, 2200-9
- Lorenz R (1996): Grundbegriffe der Biometrie. 4. durchges. Aufl., Fischer Verlag Stuttgart
- Lottspeich F, Zorbas H (Hrsg.) (1998): *Bioanalytik*. Spektrum, Akadem. Verlag Heidelberg; Berlin
- Lütz C, Anegg A, Gerant D, Alaoui-Sosse B, Gerard J, Dizengremel P (2000): Beech trees exposed to high CO<sub>2</sub> and to simulated summer ozone levels: Effects on photosynthesis, chloroplast components and leaf enzyme activity. *Physiol. Plant.* 109
- Marcais B, Dupuis F, Deprez-Lousteau ML (1993): Influence of water stress on susceptibility of red oak (*Quercus rubra*) to *Phytophthora cinnamomi*. *European Journal of Forest Pathology* **23**, 295-305
- Marschner H (1995): Mineral Nutrition of Higher Plants. 2. Aufl. Academic Press, London
- Mathieu D (1996): Resultats de l'enquete „deperissement de l'aune“ de l'automne (1996): *La Sante des Forets*, Bilan de 1996
- Maurel M, Robin C, Capdevielle X, Lousteau D, Deprez-Lousteau ML (2001b): Effects of variable root damage caused by *Phytophthora cinnamomi* on water relations of chestnut saplings. *Ann. For. Sci.* **58**, 639-651

- Maurel M, Robin C, Capron G, Deprez-Lousteau ML (2001a): Effects of root damage associated with *Phytophthora cinnamomi* on water relations, biomass, mineral nutrition and vulnerability to water deficit of five oak and chestnut species. *For. Path.* **31**, 353-369
- Maurel M, Robin C, Simonneau T, Loustau D, Dreyer E, Desprez-Loustau ML, (2004): Stomatal conductance and root-to-shoot signalling in chestnut saplings exposed to *Phytophthora cinnamomi* or partial soil drying. *Functional Plant Biology* **31 (1)**, 41-51
- Millburn M, Gravatt GF (1932). Preliminary note on a *Phytophthora* root disease of chestnut. *Phytopathology* **22**, 977-978
- Mimura T (1999): Regulation of phosphate transport and homeostasis in plant cells. *Int. Rev. Cytol.* **191**, 149-200
- Nagy ZA, Bakonyi J, Ersek T (2003): Standard and Swedish variant types of the hybrid alder *Phytophthora* attacking alder in Hungary. *Pest Management Science* **59**, 484-92
- Old KM (ed) (1979): *Phytophthora* and forest management in Australia. CASIRO, Melbourne, Australia
- Olsson C (1999): Diagnosis of Root-Infecting *Phytophthora* ssp. PhD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. *ACTA Universitatis Agriculturae Sueciae, Agraria*
- Oßwald W, Brummer M, Schlenzig A, Koehl J, Jung T, Heiser I, Matyssek R, (2000): Investigations on photosynthesis of oak seedlings infected with *Phytophthora quercina* and characterisation of the *P. quercina* toxin quercinin. In "Proceedings 1<sup>st</sup> international meeting on *Phytophthoras* in forests and wildland ecosystems". Grants Pass, Oregon, USA. (Eds. EM Hanson and W. Sutton) pp. 66-70. (Oregon State University: Corvallis, OR)
- Oßwald W, Koehl J, Heiser I, Nechwatal J, Fleischmann F (2004): New insights in the genus *Phytophthora* and current diseases these pathogens cause in their ecosystem (Review). *Progress in Botany*, Springer Verlag, **65**, 436-66.
- Oßwald WF, Jung T, Nechwatal T, Schlenzig A, Fleischmann F (2001): Significance of *Phytophthoras* and *Pythium* for oak, alder and spruce decline. *Journal of Forest Science* **47**, 96-103



- Peace TR (1962): Pathology of trees and shrubs. Oxford University Press, Oxford
- Ploetz RC, Schaffer B, (1989): Effects of flooding and *Phytophthora* root rot on net gas exchange and growth of avocado. *Phytopathology* **79**, 204-8.
- Rizzo DM, Garbelotto M, Davidson JM, Slaughter GM, Koike ST (2002): *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. *Lithocarpus densiflorus* in California. *Plant Disease* **86**, 205-14
- Robin C, Capron G, Desprez-Loustau L (2002): Root infection by *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of three oak species. *Plant Pathology* **50 (6)**, 708–16.
- Sachs L (1995): Angewandte Statistik – Anwendung statistischer Methoden. Springer Verlag, Berlin
- Santini A, Barzanti GP, Capretti P (2001): A new *Phytophthora* root disease of alder in Italy. *Plant Disease* **85**, 560
- Santini A, Biancalani F, Barzanti GP, Capretti P (2006): Pathogenicity of four *Phytophthora* species on wild cherry and Italian alder seedlings. *Journal of Phytopathology* **154 (3)**, 163-7
- Schlösser E (1997): Allgemeine Phytopathologie, 2. überarbeitete Aufl. Thieme Verlag, Stuttgart; New York
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet DE, Hemmingsen EA (1965): Sap pressure in vascular plants. *Science* **148**, 339-346
- Schulze ED, Hall AE (1982): Stomatal responses, water loss and CO<sub>2</sub> assimilation rates of plants in contrasting environments. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H (Hrsg.) *Encyclopedia of plant physiology*, new series, vol 12B, Physiological plant ecology II. Springer, Berlin; Heidelberg; New York, pp. 182-230.
- Schumacher J (2002): Untersuchungen über den Gesundheitszustand der Schwarz-Erle (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) im Nationalpark Vorpommersche Boddenlandschaft – Erhebungen und Ursachenanalyse biotischer Schadfaktoren. Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Schumacher J (2003): Gegenwärtige Verbreitung, Ausbreitungs- und Begrenzungsfaktoren der *Phytophthora*-Erkrankung an Erle im Spreewald. *Forst und Holz* **9**, 251-255

- Schumacher J (2004): Zur Verwendung des Begriffes „Fäule bei Schwarzerle - Analyse wichtiger Termini und Grenzen der okularen Fäulediagnose. *Allgemeine Forstzeitschrift/Der Wald* **2**, 66-68
- Schumacher J, Heydecker, Roloff A (2001): Lignicole Pilze an Schwarz-Erle (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) – welche Arten sind bedeutsame Fäuleerreger? *Forstw. Cbl.* **120**, 8-17
- Schumacher J, Leonard S, Rust S (2005): Phytophthora- und Pythium-Isolate im Pathogenitätstest mit dreijährigen Erlenpflanzen (*Alnus glutinosa*) – Erregervirulenz und Wirtreaktion. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **57** (10), 193-199
- Schumacher, J, Leonard S, Grundmann BM, Roloff A (2006): New alder disease in Spreewald biosphere reserve- causes an incidental factors of an epedemic. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **58** (6), 141-147
- Schütt P, Schuck J, Stimm B [Hrsg.] (1992): Lexikon der Forstbotanik: Baum- und Straucharten, Waldpflanzen, Mikroorganismen, Ökosysteme. 1. Auflage – ecomed Verlag, Landsberg/Lech
- Shearer BL, Tippett JT (1989): Jarrah Dieback: The dynamics and management of *Phytophthora cinnamomi* in the jarrah (*Eucalyptus marginata*) forest of South-Western Australia. Department of Conversation and Land Management. Res. Bull. **33**, 1-76
- Shigo AL (1990): Die Neue Baumbiologie: Fakten, Fotos und Betrachtungen über Bäume, ihre Probleme und ihre richtige Pflege. Verlag Thalacker, Braunschweig
- Sterne RE, Kaufmann MR, Zentmyer GA (1978): Effect of *Phytophthora* root rot on water relations of avocado: Interpretation with a water transport model. *Phytopathology* **68**, 595-602
- Stitt M, Schulze ED (1994): Plant growth, storage, and resource allocation: from flux control in a metabolic chain to the whole-plant level. In: *Flux control in biological systems* (Schulze, ED. Hrsg.). Academic Press, San Diego, pp. 57-118
- Streito JC, Gibbs JN (2000): "Alder Phytophthora" in France and the United Kingdom: symptoms, isolation methods, distribution and damage. In: Hansen EM, Sutton W, eds. *Phytophthora disease of Forest Trees. Proceedings of the First International Meeting of IUFRO Working Party 07.02.09, Grants Pass, Oregon, 1999*. Oregon USA: Forest Research Laboratory, Oregon State University Press, pp 37-39

- Streito JC, Jarnouen de Villartay G, Tabary F (2002b): Methods for isolating the alder *Phytophthora*. *Eur. J. For. Path.* **32 (3)**, 193-196
- Streito JC, Legrand PH, Tabary F, Jarnouen de Villartay G (2002a): *Phytophthora* disease of alder (*Alnus glutinosa*) in France: investigations between 1995 and 1999. *Forest Pathology* **32 (3)**, 179-85
- Szabo I, Nagy Z, Bakonyi J, Ersek T (2000): First report of *Phytophthora* root and collar rot on alder in Hungary. *Plant Disease* **84**, 1251
- Tippett JT, Crombie DS, Hill TC (1987): Effect of phloem water relation on the growth of *Phytophthora cinnamomi* in *Eucalyptus marginata*. *Phytopathology* **97**, 246-50
- Tsao PH, Guy SO (1977): Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora*-isolation medium containing hymexazol. *Phytopathology* **67**, 796-801
- Vettraino AM, Natili G, Anselmi N, Vannini A (2001): Recovery and pathogenicity of *Phytophthora* species associated with a resurgence of ink disease in *Castanea sativa* in Italy. *Plant Pathology* **50**, 90-96
- Werres S (1998): Erlensterben. *Allgemeine Forstzeitschrift/Der Wald* **10**, 548-9
- Werres S, Marwitz R (1997): Unbekannte *Phytophthora*. *Deutscher Gartenbau* **21**, 1166-1168
- Werres S, Marwitz R, Man In't Veld WA, De Cock WAM, Bonants PJM, De Weerd M, Themann K, Ilieva E, Baayen RP (2001): *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. *Mycological Research* **105 (10)**, 1155-65
- Weste G, Marks GC (1987): The biology of *Phytophthora cinnamomi* in Australian forests. *Annu. Rev. Phytopathology* **25**, 207-229



# Lebenslauf

---

Name: Christian Clemenz  
Adresse: Adlerstrasse 4  
85354 Freising / OT Sünzhausen  
Geburtsdatum: 29.01.1973  
Geburtsort: Frankfurt am Main  
E-Mail: cclemenz@gmx.de



## **Werdegang**

---

- 04/2003 bis 02/2007 Doktorarbeit am Fachgebiet Pathologie der Waldbäume an der Technischen Universität München, im Rahmen eines DFG geförderten Forschungsprojektes zum Thema: „Freiland- und Laboruntersuchungen zu den phytopathologischen und ökophysiologischen Mechanismen des Erlensterbens (*Alnus glutinosa*) ausgelöst durch die „Erlenphytophthora“
- 07/2000 bis 06/2002 Ausbildung für den höheren Forstdienst (Forstliches Referendariat) im Land Rheinland-Pfalz,  
Abschluss: Assessor des Forstdienstes
- 1993-1999 Studium der Forstwissenschaften an der forstlichen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen
- 9/92 bis 10/93 Zivildienst im Bereich der individuellen Schwerbehindertenbetreuung bei einem gemeinnützigen Träger in Mainz, anschließend in den Horst-Schmidt-Kliniken in Wiesbaden im Bereich der Krankenhausverwaltung

## **Schulbildung**

---

- 1989-92 Gustav-Heinemann-Schule (Gymnasiale Oberstufe) in Rüsselsheim - Abitur (Leistungsfächer: Biologie und Englisch)
- 1983-89 Integrierte Gesamtschule Main Spitze in Ginsheim-Gustavsburg/Kreis Groß-Gerau - Mittlere Reife
- 1979-83 Besuch der Grundschule in Hohenroda-Ransbach (Kreis Hersfeld-Rotenburg/Mittelhessen)
- 

Freising, im Februar 2007

## Danksagung

Bei Prof. Dr. Wolfgang Oßwald und Prof. Dr. Rainer Matyssek möchte ich mich für die interessante Themenstellung und die Betreuung der Arbeit bedanken. Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Wolfgang Oßwald für sein großes Engagement während der Zusammenschrift der Arbeit in Form vieler Anregungen, Hilfestellungen und Korrekturen der Texte.

Weiterhin danke ich....

Dr. Frank Fleischmann für Anleitung und Durchführung unzähliger Arbeiten im Labor. Dr. Julia Köhl für die aufmerksame Durchsicht großer Teile der Arbeit. PD Dr. Thorsten Grams für die Korrektur der englischen Zusammenfassung und ermunternde Worte.

Dr. Klaus Lang für fruchtbare Diskussionen und hilfreiche Hinweise bei der Planung der Infektionsversuche. Dr. Thomas Jung für die Einführung in grundlegende Techniken der Isolierung, Kultivierung und Charakterisierung von *Phytophthora*-Pathogenen sowie die Bereitstellung eines Referenz-Isolates von *Phytophthora alni* subsp. *alni*.

Dr. Thomas Seifert und dem Lehrstuhl für Waldwachstumskunde (Prof. Dr. H. Pretzsch) für die Durchführung von CT-Aufnahmen und Hilfestellung und Anregung im Zuge der Baumernte. Prof. Dr. Hans Schnyder und Mitarbeitern für die Möglichkeit die Vegetationshalle des Lehrstuhls für Grünlandlehre nutzen zu können sowie für freundliche Aufnahme.

Thomas Feuerbach und Hans Lohner für die Planung, Zusammenstellung, Installation und Wartung der Xylemflussanlage im Freiland und technischen Beistand in jeder Lebenslage.

Ilse Süß für die Anfertigung unzähliger Xylemflusssensoren in Eigenbau und Mithilfe bei der Installation dieser.

Peter Kuba für Gerüstbauten und Tatkraft bei der Baumernte im Freiland sowie für sein handwerkliches Geschick in unzähligen Situationen und nicht zuletzt für seine ansteckend frohe Natur.

Tina Schmidt und Johanna Lebherz für die unersetzliche Unterstützung im Labor.

Allen Kollegen am Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen und im Fachgebiet Krankheiten der Waldbäume insbesondere den Sekretärinnen Frau Helga Brunner und Frau Karin Beerbaum für das angenehme Arbeitsklima. Ganz besonders danke ich für moralischen Zuspruch Markus Löw, Roberto Portz, Manuela Blumenröther und Christian Heerdt.

Meiner Familie danke ich für die geduldige und liebevolle Unterstützung während der gesamten Arbeit. Diese Arbeit ist meiner Nichte Lola gewidmet.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des DFG-Forschungsprojektes „ Freiland- und Laboruntersuchungen zu den phytopathologischen und ökophysiologischen Mechanismen des Erlensterbens (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) ausgelöst durch die „Erlenphytophthora“ angefertigt.



