



# Endophyten in Kiefern zweigen – Diversität und forstliche Bedeutung

Das *Diplodia*-Triebsterben (*Sphaeropsis sapinea*) tritt seit einigen Jahren verstärkt in den Trägerländern der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt (NW-FVA), insbesondere in Hessen und Sachsen-Anhalt, auf. Im Rahmen eines deutschlandweiten Projektes (WAHYKLAS, Waldhygienische Klimaanpassungsstrategien) wurde an der NW-FVA das *Diplodia*-Triebsterben der Kiefer (*Pinus sylvestris*) untersucht und die Endophyten in Kiefern zweigen analysiert. Im Folgenden wird die große Vielfalt der endophytischen Pilze der Waldkiefer und deren Relevanz für den Waldschutz aufgezeigt.

TEXT: JOHANNA BUSSKAMP, GITTA J. LANGER

**E**ndophyten sind Organismen (meist Pilze oder Bakterien), die zumindest für einen Teil ihres Lebenszyklus symptomlos in Pflanzengewebe vorkommen [15]. Ihre ökologische Rolle ist bis heute wenig verstanden [4, 10, 16].

Viele Endophyten gelten als von ihrem Wirt tolerierte Parasiten oder als opportunistische bzw. latente Pathogene [16]. Vielfach sind Endophyten Primärbesiedler von absterbenden bzw. abgestorbenen Gewebebereichen ihrer Wirte. Sie liegen im Baum zunächst in

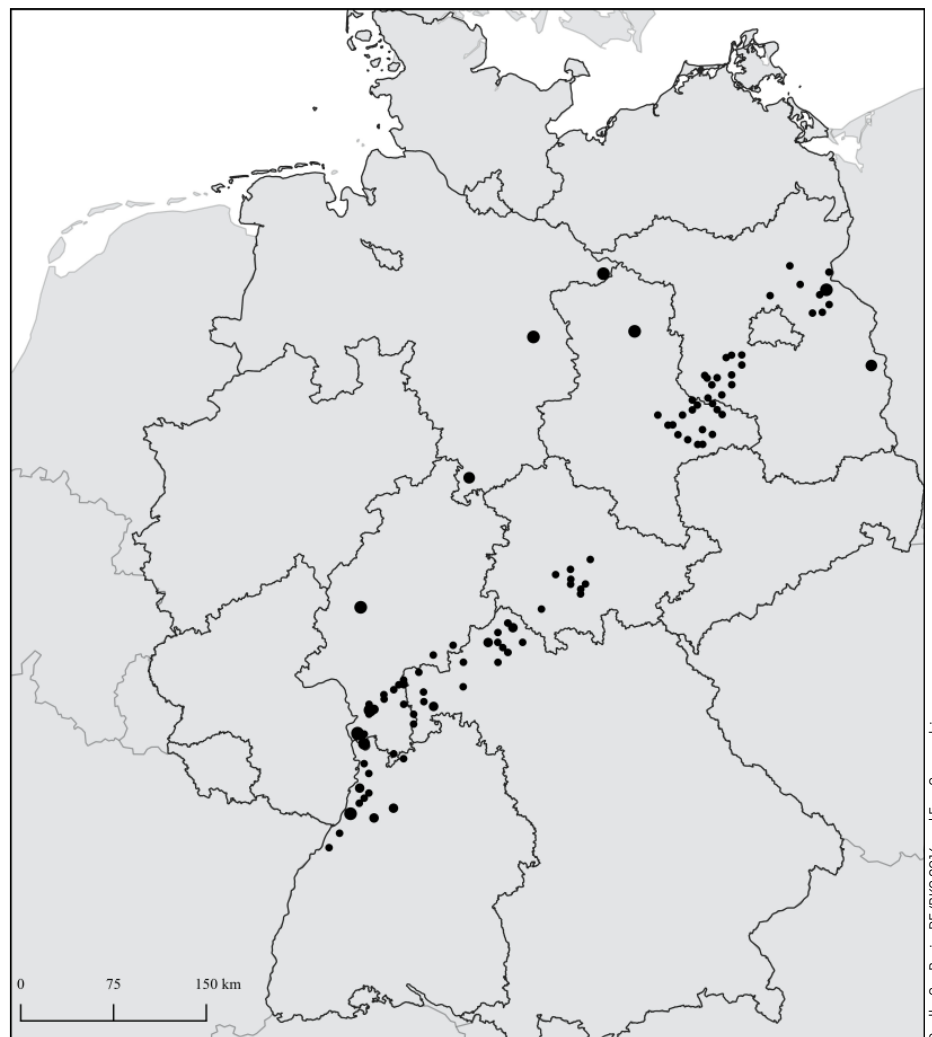
einer physiologischen Ruhephase vor. In der Seneszenz des Wirtes zersetzen sie das Holz und können Fruchtkörper bilden [3, 5, 8, 11, 12, 16].

## Methoden

Im Rahmen des WAHYKLAS-Projekts (Waldklimafonds, Förderkennzeichen

## Schneller ÜBERBLICK

- » **Im Rahmen des WAHYKLAS-Projekts** wurde das *Diplodia*-Triebsterben entlang eines Transekts von Nordost- nach Südwestdeutschland erforscht
- » **Der Erreger des *Diplodia*-Triebsterbens**, *Sphaeropsis sapinea*, kommt deutschlandweit entlang des Untersuchungs-Transekts endophytisch vor
- » ***S. sapinea* ist schon in den Trieben etabliert** und kann von der endophytischen in die parasitische Phase übergehen, sobald die Kiefern geschwächt werden
- » **Durch den Klimawandel** ist künftig wohl mit vermehrten Schadensfällen durch *S. sapinea* zu rechnen



**Abb. 1:** Lage der Untersuchungsflächen im Projekt WAHYKLAS entlang eines Transekts von Nordost- nach Südwestdeutschland sowie zusätzlich untersuchte Bestände

Quelle: GeoBasis-DE/BKG 2014 und EuroGeographics



## „Durch den Klimawandel ist zukünftig vermutlich mit vermehrten Schadensfällen durch *S. sapinea* zu rechnen.“

JOHANNA BUSSKAMP

28W-C-4-031) wurde das *Diplodia*-Triebsterben entlang eines Transekts von Nordost- nach Südwestdeutschland erforscht. Insgesamt wurden 190 Waldkiefern auf 105 Standorten untersucht (Abb. 1). Dazu wurden Probeäste mit Pfeil und Bogen oder von Baumkletterern geworben und zusätzlich einige Kiefern gefällt. Zur Isolation der pilzlichen Endophyten aus den Probezweigen wurden diese mit Natriumhypochlorit oberflächensterilisiert, in kleine Stücke (Kieferntriebsegmente à 0,5 cm) zerschnitten und auf ein Nährmedium aufgelegt (Abb. 2). Die vorkommenden Pilzarten wurden in Reinkultur gebracht, bestimmt und ökologisch sowie hinsichtlich ihrer forstlichen Relevanz bewertet. Zudem wurden potenzielle Antagonisten gegenüber *S. sapinea* in Laborversuchen identifiziert.

An den Untersuchungsflächen wurde zudem das Vorkommen der Mistel, des Wurzelschwamms und sonstiger Einflussfaktoren (z. B. Nadelfraß durch Insekten) erhoben. In einem weiteren Projekt zum Thema *Diplodia*-Triebsterben wurden auf drei Untersuchungsflächen in Sachsen-Anhalt in den Jahren 2017 bis 2018 der Schadensfortschritt und die Auswirkungen auf das Holz analysiert.

### Ergebnisse

Aus den Zweigen von *Pinus sylvestris* wurden 103 verschiedene Pilzarten isoliert, morphologisch charakterisiert, zunächst sogenannten Operational taxonomic units (OTU) zugeordnet und DNS-gestützt bestimmt [1, 2]. Davon gehören 101 zu den Ascomyceten (Schlauchpilze), nur zwei Arten waren Basidiomyceten (Ständerpilze). In der

Regel wurden pro Baum zwischen 5 und 22 endophytische Pilzarten isoliert. Nur vier Endophytenarten kamen mit einer relativen Häufigkeit (RH) von über 10 % (bezogen auf alle ausgewachsenen Pilze;  $n \approx 26.000$ ) vor: *Microsphaeropsis olivacea* (23 % RH an 97 % der Bestände), *Sydowia polyspora* (22 % RH an 99 % der Bestände), *S. sapinea* (12 % RH an 88 % der Bestände), *Trun-*

*catella conorum-piceae* (10 % AH an 98 % der Standorte). Es wurden 26 Endophyten identifiziert, die erstmals aus Zweigen von *P. sylvestris* isoliert wurden [1]. Bei einem Probebaum, der monatlich auf seine Endophyten hin untersucht wurde, konnten innerhalb eines Jahres 84 verschiedene endophytische Pilzarten nachgewiesen werden. Die häufigen Pilzarten *Sydowia poly-*

### Endophyten aus Kieferntrieben

**Tab. 1:** Isolierte Endophyten aus Kieferntrieben von 105 untersuchten Beständen mit einem Anteil (in %, gerundet) von über 0,8 % und ihre ökologische/forstliche Bedeutung. Rot: potenzielles Pathogen (an holzigen Gewächsen); Blau: typischer Endophyt in Kiefern; Dunkelgrün: Saprophyt; Hellgrün: typischer Laubholzbesiedler; Lila: Generalist

Wissenschaftlicher Name	Häufigkeit in %	Anzahl der Bestände mit einem Nachweis in %	Potenzielles Pathogen	Typischer Endophyt	Saprophyt	Typischer Laubholzbesiedler	Generalist
<i>Microsphaeropsis olivacea</i>	23	97		Blau			Lila
<i>Sydowia polyspora</i>	22	99	Rot	Blau	Dunkelgrün		
<i>Sphaeropsis sapinea</i>	12	88	Rot	Blau	Dunkelgrün		
<i>Truncatella conorum-piceae</i>	10	98	Rot		Dunkelgrün		
<i>Sordaria fimicola</i>	5	23		Blau			Lila
<i>Diaporthe sp. 2</i>	3	60					
<i>Desmazierella acicola</i>	2	44		Blau	Dunkelgrün		
<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	1,8	49	Rot			Hellgrün	
<i>Nemania serpens</i>	1,5	51		Blau		Hellgrün	
<i>Alternaria alternata</i>	1,5	60	Rot	Blau			Lila
<i>Pezicula sp. 1</i>	1,4	<1					
<i>Nigrospora oryzae</i>	1,3	15			Dunkelgrün		Lila
<i>Epicoccum nigrum</i>	1,3	48		Blau			Lila
<i>Rosellinia sp. 2</i>	1,1	38					
<i>Hypoxyton fragiforme</i>	1	29		Blau	Dunkelgrün	Hellgrün	
<i>Pezicula eucrita</i>	0,9	27	Rot	Blau	Dunkelgrün		
<i>Xylaria longipes</i>	0,8	43			Dunkelgrün	Hellgrün	



**Abb. 2:** Kiefertriebsegmente auf einem Nährmedium (l.) und eine Woche später mit auswachsenden Pilzkulturen

*spora* und *Microsphaeropsis olivacea* zeigten klare jahreszeitliche Unterschiede in der Häufigkeit ihres Auftretens (Abb. 3a und 3d).

Unter den Endophyten fanden sich viele saprophytisch lebende Arten wie z. B. *Peniophora pini* (Kiefern-Zystidenrindenpilz) und *Desmazierella acicola* (Kiefernadel-Haarbecherchen) sowie typische Laubholzbesiedler der Gattungen *Hypoxyton* (Kohlenbeeren), *Daldinia* (Kugelpilze) und *Biscogniauxia* (Rindenkugelpilze) (s. Tab. 1, hellgrün). Insgesamt spielen Arten aus der Familie der Xylariaceae, zu denen die drei vorgenannten Gattungen gehören, eine große Rolle bei den Endophyten der Kiefer [14]. Potenzielle Pathogene für holzige Pflanzen wurden ebenfalls isoliert, so z. B. *S. sapinea*, *S. polyspora*, *T. conorum-piceae* (Tab. 1, rot). In den untersuchten Trieben wurden keine Quarantäneschadernerreger nachgewiesen.

Es wurde festgestellt, dass die geografische Lage einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Endophytengemeinschaft der Waldkiefer haben kann. Ein Beispiel hierfür ist der Pilz *Biscogniauxia mediterranea* (Südliche Kohlenbeere, Südlicher Rindenkugelpilz). Besonders in Südhessen und Baden-Württemberg kam dieser Pilz verstärkt vor, wohingegen er im nördlicheren Transektgebiet seltener auftrat. Ebenso zeigte *D. acicola* Unterschiede im Vorkommen entlang des Transekts. Der Pilz trat besonders häufig in Beständen im Nordosten des Untersuchungsgebiets auf.

Bei sechs der getesteten Endophyten zeigte sich in Laborversuchen antagonistisches Potenzial gegenüber *S. sapinea* (*Chaetomium* sp. 2, *Alternaria* sp. und vier *Pezicula*-Arten [Abb. 3c]). Ob und wie dieses Ergebnis in die Praxis umgesetzt werden kann, muss noch erforscht werden. So könnte zum Beispiel

in Gewächshausversuchen untersucht werden, ob sich das antagonistische Verhalten gegenüber *S. sapinea* nicht nur in der Petrischale, sondern auch in der Kiefernpflanze zeigt.

Als devitalisierend und die Erkrankung der Kiefer mit dem *Diplodia*-Triebsterben begünstigend erwiesen sich trockene, schlecht wasserversorgte Standorte sowie der Befall der Kiefern mit Mistel und Wurzelfäulepilzen. Auslösende Faktoren waren zumeist Trockenheit, Hitzeperioden oder Hagelschlag mit Rindenverletzungen (siehe dazu auch Praxis-Info Nr. 4/2017 der NW-FVA; <https://www.nw-fva.de/index.php?id=575>).

Die Untersuchungen im Rahmen des Projekts WAHYKLAS auf Flächen mit Fraß des Kiefernspinners, der Nadelscheidengallmücke oder der Kiefernbuschhornblattwespe zeigten, dass *S. sapinea* keine maßgebliche Rolle am Absterbeprozess der befallenen Bestände spielte.

Bei einem zusätzlichen Versuch zur Lokalisierung der Endophyten im Kiefernast konnten zwar auch im Kammbereich und im Holz Endophyten

nachgewiesen werden, aber die weitaus meisten Pilzarten ließen sich aus der Rinde der Kiefernäste isolieren.

Im Rahmen einer Untersuchung zur Holzentwertung nach Befall mit *S. sapinea* in Sachsen-Anhalt wurde Bläue in der Stammscheibe von 90 untersuchten Kiefern über alle Schadstufen hinweg festgestellt, jedoch in der Schadstufe 0 (gesund) und 1 (leicht geschädigt) nur sehr selten (je 1 Fall).

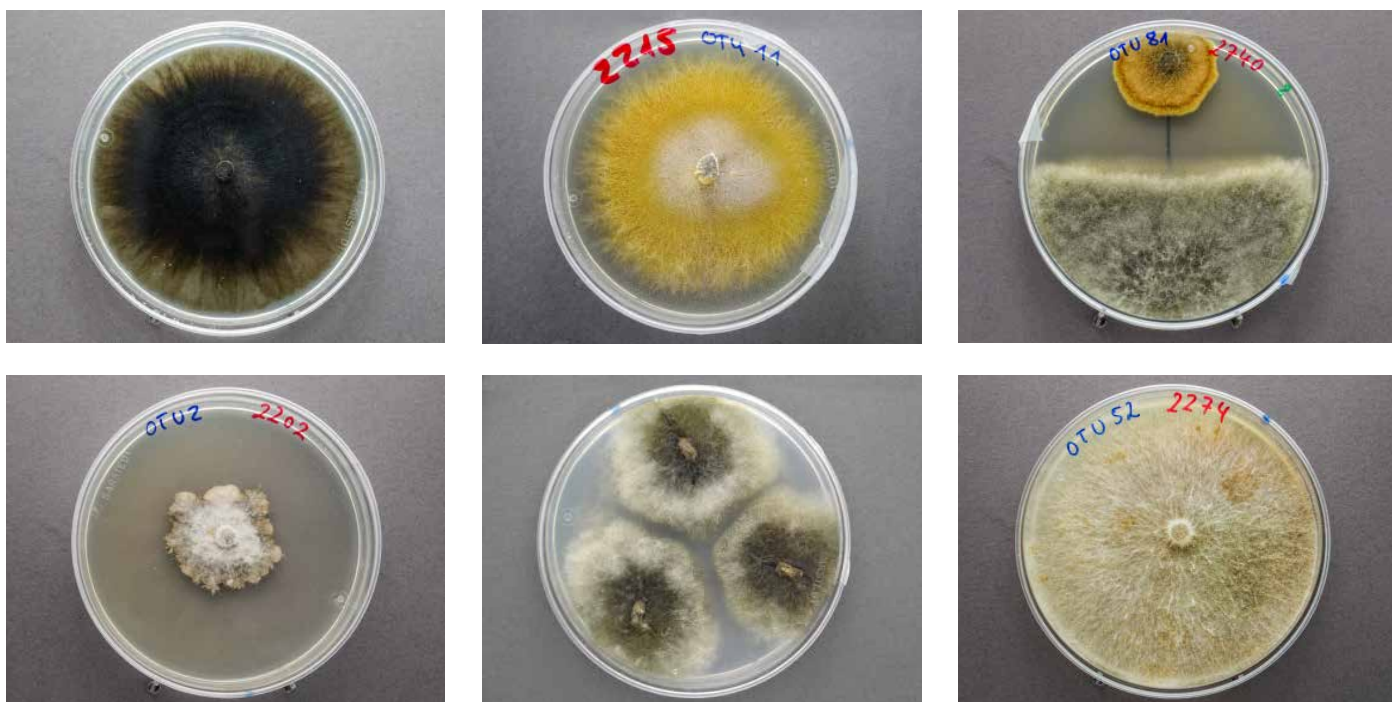
Auch in der Krone der Kiefern wurde Bläue auf allen drei Untersuchungsflächen in allen Schadstufen gefunden, gehäuft aber ebenfalls in den stärker geschädigten Kiefern. Überraschend war, dass eine Stammholzentwertung durch Pilze nur bei vier der 90 untersuchten Kiefern festgestellt wurde. Dabei ist jedoch nicht klar, seit wann die Kiefern erkrankt waren. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Ergebnissen einer Umfrage im Waldschutzmeldeportal (<https://www.nw-fva.de/WaldschutzMeldewesen/>) zum *Diplodia*-Triebsterben in den Trägerländern der NW-FVA im Jahr 2017. Dort wurde in ca. 50 % der Meldungen (n = 213) eine Stammholzentwertung durch Bläue angegeben. Zu dem Themenkomplex „Bläue-Stammentwertung-*Diplodia*“ sollten weitere, tiefer gehende Untersuchungen durchgeführt werden.

## Schlussfolgerungen

Eines der wichtigsten Ergebnisse der Untersuchungen war, dass *Sphaeropsis sapinea* deutschlandweit entlang des Untersuchungs-Transekts endophytisch vorkommt. Das bedeutet zwar zunächst keine unmittelbare Gefahr für die Kie-

Fotos: NW-FVA





Fotos: NW-FVA

**Abb. 3:** *Sydwia polyspora* (a), *Truncatella conorum-piceae* (b), Dualkultur *S. sapinea* und *Alternaria* sp. (c), *Microsphaeropsis olivacea* (d), Auswuchs von *S. sapinea* aus drei Holzstücken (e), *Biscogniauxia mediterranea* (f); Inkubation auf MYP-Medium bei Raumtemperatur

fern, zeigt aber, dass ein grundsätzliches pathogenes Potenzial durch diese Art vorhanden ist. *S. sapinea* ist bereits in den Trieben etabliert und kann von seiner endophytischen in die parasitische (pathogene) Phase übergehen, sobald die Kiefern devitalisiert werden. Die Ursachen für diesen Übergang sind sehr komplex. So zeigten Untersuchungen der NW-FVA zum Beispiel, dass auch ein starker Hagelschaden nicht automatisch zu einer Erkrankung mit dem *Diplodia*-Triebsterben führen muss.

Durch den Klimawandel ist zukünftig vermutlich mit vermehrten Schadensfällen durch *S. sapinea* zu rechnen, da *S. sapinea* ein wärmeliebender Pilz ist [7, 13, 17]. Darüber hinaus könnte die Vitalität der Kiefer durch die prognostizierten trockeneren Sommer und milden Winter herabgesetzt werden und sie so anfälliger für einen Befall mit *S. sapinea* machen. Dies hat sich auch gravierend in den extrem trockenen und zu warmen Jahren 2018 und 2019 gezeigt, in denen flächige Absterbeerscheinungen in Kiefernbeständen beobachtet wurden [9].

Die Untersuchungen zeigen, dass zahlreiche Faktoren an einer *Diplodia*-Triebsterben-Erkrankung beteiligt sein können:

#### Literaturhinweise:

Download des Literaturverzeichnisses unter: [www.forstpraxis.de/downloads](http://www.forstpraxis.de/downloads)

1. prädisponierende Faktoren wie Kuppen oder Hanglagen,
2. devitalisierende Faktoren wie ein Befall mit Mistel oder Wurzelfäulepilzen oder milde Winter mit Hochwarmphasen und
3. schadensauslösende Faktoren wie starke Besonnung und Hitzeperioden, Hagelschlag oder lang anhaltende Trockenheit.

Die geografische Variation der relativen Häufigkeit von *Biscogniauxia mediterranea* kann durch klimatische Faktoren bedingt sein (*B. mediterranea* kommt eher in wärmeren Regionen vor) oder auch mit der Baumartenzusammensetzung der untersuchten Bestände zusammenhängen. *B. mediterranea* fruktifiziert typischerweise an Eiche und nicht an Kiefer. Dieser Pilz wurde häufiger in Beständen festgestellt, die im Süden des Untersuchungsgebiets lagen und mit mehr Laubbäumen bzw. Eichen bestockt waren. *Biscogniauxia mediterranea* wurde als potenzielles Pathogen eingestuft, da der Pilz Schäden an Eiche in mediterranen Gebieten hervorruft [6]. Die nah verwandte, an Rotbuchen fruchtende Art *Biscogniauxia nummularia* (Münzenförmiger Rindenkugelpilz) wurde in 39 % aller untersuchten Kiefernbestände nachgewiesen. Sie ist ein wärmeliebender

Endophyt und typischer Schwächeparasit der Rotbuche. Hinsichtlich der Verkehrssicherung und Arbeitssicherheit kann *B. nummularia* zu ernsthaften Problemen bei Rotbuche führen, falls der Pilz in seine parasitische Phase übergeht und Holzfäule und Streifenkrebs verursacht.

Die systematische Erhebung und umfangreiche Bestimmung der pilzlichen Endophyten von Waldkiefer stellt zukünftig bei der Analyse von Schadensfällen an der NW-FVA ein wichtiges Identifikationswerkzeug dar.



#### Dr. Johanna Bußkamp

**Johanna.Busskamp@NW-FVA.de**  
ist wissenschaftliche Mitarbeiterin im Sachgebiet Mykologie und Komplexerkrankungen der Abteilung Waldschutz an der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt.  
**Dr. Gitta J. Langer** leitet das Sachgebiet.