BERICHTE
FREIBURGER FORSTLICHE FORSCHUNG

HEFT 106

Feray Steinhart, Tim Burzlaff

FraxForFuture—
Erhalt der Gemeinen Esche (*Fraxinus excelsior*) als Wirtschaftsbaumart

Tagungsband

im Rahmen der 63. Deutschen Pflanzenschutztagung
am 27.09.2023 in Göttingen

FORSTLICHE VERSUCHS- UND FORSCHUNGSANSTALT
BADEN-WÜRTTEMBERG

ABTEILUNG WALDSCHUTZ

2023

ISSN 1436-1566

Herausgeber
Fakultät für Umwelt und Natürliche Ressourcen der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg

Redaktion
Feray Steinhart, Tim Burzlaff

Umschlaggestaltung
Bernhard Kunkler Design, Freiburg

Druck
Habé Offset GmbH

Bestellung an
Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg
Wonnhaldestraße 4
79100 Freiburg
Telefon: 0761/4018-0, Fax: 0761/4018-333
E-Mail: fva-bw@forst.bwl.de
www.fva-bw.de

Alle Rechte, insbesondere das Recht zur Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung vorbehalten.

Das Demonstrationsprojekt FraxForFuture wird gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und das Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz.

Die Forschungsprojekte werden aus Fördermitteln des Waldklimafonds finanziert. Projektträger ist die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.

Die Förderkennzeichen der Projekte sind unter den Beiträgen entsprechend angegeben.

Inhaltsverzeichnis

Editorial: Weiterdenken für die Esche heißt weiter denken **1**
Jörg Grüner

Eine kleine Chronologie der Eschentriebsterbenforschung – was können wir lernen? **3**
Rasmus Enderle

Hat die Esche noch eine europäische Zukunft? Ja, wenn wir jetzt europäisch handeln! **11**
Jan-Peter George

Einfluss von Standortsfaktoren auf das Eschentriebsterben und die Ausprägung von Stammfußnekrosen **15**
Felix Grün, Sandra Peters, Sebastian Fuchs, Jan Evers, Uwe Paar, Gitta Langer

Untersuchungen zu Entstehung und Schadensverlauf von Stammfußnekrosen an *Fraxinus excelsior* im Zusammenhang mit dem Eschentriebsterben **19**
Luisa Knauf, Sabine Remmele, Jörg Grüner

Mikroskopische Untersuchungen zum Erreger des Eschentriebsterbens im Holzgewebe **22**
Marius Möhring, Kai Stehlgens, Silke Lautner

Das Mykobiom im Wurzelraum von Eschen **25**
Ludmila Lysenko, Ewald Langer

Biochemische Profile von Eschen vor dem Hintergrund des Eschentriebsterbens **28**
Henriette Häuser, Ralf Kätzel

Differenzielle Genexpression bei der Gemeinen Esche als Antwort auf das Eschentriebsterben und zur Entwicklung von Resistenzmarkern **31**
Renata Callegari Ferrari, Victor Chano, Karuna Shrestha, Tania Dominguez-Flores, Maia Ridley, Barbara Fussi, Hannes Seidel, Franziska Past, Ben Bubner, Wilfried Steiner, Oliver Gailing, Katharina B. Budde

Vollgeschwisteranalysen von Eschen Plusbäumen zur Aufklärung der genetischen Grundlagen von Unterschieden im Eschentriebsterben **35**
Melina Krautwurst, Franziska Past, Ben Bubner, Niels Müller

Virusvielfalt in Eschen **40**
Marius Rehanek, Rim Al Kubrusli, Hector Fernandez, Susanne von Bargen, Carmen Büttner

Infection experiments to determine virulence differrences in *Hymenoscyphus fraxineus*, the causative agent of ash dieback **43**
Maia Ridley, Rasmus Enderle

Optimierung des Mikrobioms der Esche zur Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *Hymenoscyphus fraxineus* **45**
Valentin Burghard, Andreas Ulrich

Bekämpfung des Eschentriebsterbens mit Hilfe hypovirulenter Viren **48**
Tobias Lutz, Birgit Hadeler, Cornelia Heinze

RNA Interferenz-vermittelte Bekämpfung von *Hymenoscyphus fraxineus* **52**
Linus Hohenwarter, Gabi Krczal

Plants, pathogens, pests and practice: bridging the gap between knowledge and practice **55**
Mariella Marzano

Analyse der monetären und nicht-monetären Folgen des Eschentriebsterbens und Entwicklung eines Entscheidungsunterstützungssystems für Forstbetriebe **58**
Aaron Westhauser

Praxisorientierte Handlungsempfehlung zum zukünftigen Umgang mit dem Eschentriebsterben **62**
Feray Steinhart, Aaron Westhauser, Johannes Osewold, Tim Burzlaff, Katharina Mausolf, Falk Schrewe, Holger Fischer, Ralf-Volker Nagel

Eschentriebsterben effizient überwachen – Konzept zur großräumigen Eschenzustandserhebung mit Stereo-Luftbildern **64**
Melanie Kirchhöfer, Valentina Gacitua, Facundo Ponce de Léon, Philip Beckschäfer, Kai Jütte, Petra Adler

Luftbildbasierte Erfassung der historischen und aktuellen Vitalitätsentwicklung von Eschen – Kronenzustandserfassung in Zeiten des Eschentriebsterbens **67**
Facundo Ponce de Léon, Melanie Kirchhöfer, Petra Adler, Kai Jütte, Philip Beckschäfer

Überwachung des Eschentriebsterbens in Deutschland mittels hyperspektraler Messtechnik und Ableitung relevanter Indizes **72**
Joshua Moritz, Denny Schmelz, Bonito Thielert, Patrick Menz, Uwe Knauer, Katharina Holstein, Ina Ehrhardt, Andreas Herzog

Biodiversität eschenreicher Wälder und Strategien zu ihrer Erhaltung **76**
Katharina Mausolf, Katharina S. Haupt, Jessica Richter, Joachim Schrautzer, Alexandra Erfmeier

Sicherung ausgewählter Eschengenotypen (*Fraxinus excelsior*) mittels in-vitro-Kultur **80**
Lena Safranek

Ausprägung des Eschentriebsterbens in der Naturverjüngung **83**
Johannes Osewold, Ralf-Volker Nagel

Bedeutung der Streu für den Infektionsdruck auf Jungeschen **88**
Falk Schrewe

Editorial

Weiterdenken für die Esche heißt weiter denken

Manfred Hinrich war sich sicher: „aus dem Baum der Erkenntnis guckt ein Wurm mit Doktorhut“. Nach nun fast 30 Jahren Infektionsgeschehen guckt aus überliegenden Blattspindeln der Gemeinen Esche jährlich aufs Neue das Falsche Weiße Eschenstängelbercherchen hervor, zwar ohne Doktorhut, mit fatalen Folgen für den gesicherten Fortbestand dieser Baumart aber allemal.

Noch bis 2009 galt die Gemeine Esche als Hoffungsträger unter den erwartbaren Klimawandelfolgen. Dies führte zu steigenden Anteilen dieses Edellaubgehölzes bis wenigstens 2012 in den Wäldern Südwestdeutschlands.

Das änderte sich abrupt, nachdem *Hymenoscyphus fraxineus* Einzug in eben diese Wälder und in eben diese Baumart hielt. Es gibt wenige Beispiele, bei denen Pilze als Pflanzenpathogene für eine Ausrottung einer Wirtspflanze verantwortlich zeichnen. Ich denke da beispielsweise an die Holländische Ulmenkrankheit oder den Kastanienrindenkrebs. Diese angeführten Beispiele reichen aus europäischer Sicht schon etwas länger zurück, mit Auswirkungen bis in die Gegenwart. Für die Esche meldet sich hierfür also *H. fraxineus* zu Wort. Überhaupt, „die Esche“ gibt es nicht, es sind so viele Individuen mit unterschiedlichen Eigenschaften und diverser genetischer Ausstattung. Jeder Verlust, sei es durch ein kontinuierliches Rücksterben der Krone oder fortschreitende Einbußen der Standsicherheit aufgrund von Wurzelfäule. Eschen sehen sich bei uns auf ihre bisher härteste Bewährungsprobe gestellt. Sie sind es wert, wissenschaftlich gefördert zu werden—nicht nur aus ökonomischer Sicht, auch vom ökologischen Standpunkt her.

Es gibt unterschiedliche Einschätzungen von Forschungsgruppen zur Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit der Gemeinen Esche. Nach fast drei Jahrzehnten der Exposition gegenüber dem Erreger könnte diese im Mittel bei 0.5 (je nach Region zwischen 0.2 und 0.8) liegen. Andere Prognosen sehen nach 11 Jahren Exposition gegenüber der Krankheit eine maximale Sterblichkeit von Eschen in Wäldern bei 0.6 erreicht, die sich danach stabilisieren sollte.

Auch hier gibt es dank intensiver Forschungsmühen vielversprechende Ansätze wieder in Wirtschaftlichkeit und ökologische Funktionalität zu finden.

„Innovationen geben der Zukunft eine Zukunft“, diese Ansicht von Hans-Jürgen Quadbeck-Seeger sehe ich als Leitmotiv und Triebfeder für alles, was im Rahmen des Demonstrationsprojekts FraxForFuture geleistet wurde und wird.

Es wäre ebenso fatal wie töricht verfrüht die Flinte ins Korn zu werfen, zumal auch die wissenschaftliche Methodik stetig, rasant und versierter voranschreitet. Die phytopathologische Historie hält dafür blendende Beispiele parat—Banane, Gummibaum, Kakao, Kaffee und so fort.

Nach vielen Jahren intensiver Forschung zur Esche und dem Eschentriebsterben präsentieren die in diesem Tagungsband versammelten wissenschaftlichen Beiträge auf anschauliche Weise, wie wichtig eine umfassende Vorgehensweise und Ineinandergreifen von Erkenntnissen sind, um verbesserte Handlungsempfehlungen für die Esche zu erlangen, damit die Zukunft der Esche die Esche ist.

Freiburg im Breisgau

Sommer 2023

Jörg Grüner

Keynote: Historie der Eschentriebsterbenforschung

Eine kleine Chronologie der Eschentriebsterben-forschung–was können wir lernen?

Rasmus Enderle*

Julius Kühn-Institut, Institut für Waldschutz, Braunschweig
*rasmus.enderle@julius-kuehn.de

Einleitung

Das Eschentriebsterben ist ein Beispiel für die vielen tiefgreifenden Schadereignisse im Wald, die aktuell mit dem globalen Wandel einhergehen. Ein 2020 in Deutschland initiiertes, interdisziplinäres Forschungsvorhaben zum Eschentriebsterben (Langer et al. 2022) wurde daher als Demonstrationsprojekt konzipiert, anhand dessen Forschungsstrategien und -strukturen analysiert und evaluiert werden können. In diesem Zusammenhang lohnt sich auch ein Blick zurück, weit über das Projekt hinaus bis hin zu den Anfängen der Eschentriebsterbenforschung. Ziel dieses Rückblicks ist es, entscheidende Momente für die Entwicklung der Forschung zu identifizieren. Einschränkend wird darauf hingewiesen, dass ein vollständiger Rückblick auf die mittlerweile sehr umfangreiche Eschentriebsterbenforschung die formellen Grenzen dieses Artikels übersteigen würde, weshalb nur ausgesuchte Aspekte der Forschung schlaglichtartig beleuchtet werden. Einen Überblick über die Chronologie mit Literaturquellen gibt Tabelle 1.

Chronologie der Eschentriebsterbenforschung

Im Winter 1991/1992 wurden im Nordosten Polens in größerem Ausmaß Symptome an Eschen festgestellt, die rückwirkend dem Eschentriebsterben zugeordnet werden können. Diese Beobachtung wurde 2002 veröffentlicht, und stellt damit den ersten Hinweis auf das Eschentriebsterben in Europa dar (Juodvalkis & Vasiliauskas 2002, Przybył 2002). Das Zusammenspiel von abiotischen Stressoren mit verschiedenen Schaderregern wurde damals als potentiell ursächlich in Betracht gezogen, und der Hallimasch (*Armillaria* spp.) als ein wesentlicher Akteur im Absterben der Eschenbestände identifiziert.

Der primäre Erreger des Eschentriebsterbens wurde erst 2006 identifiziert und in seiner Nebenfruchtform *Chalara fraxinea* erstmals beschrieben (Kowalski 2006). Zu dieser Zeit hatte sich die Symptomatik des Eschentriebsterbens bereits auf weite Teile Europas ausgebreitet (McKinney et al. 2014). *Chalara fraxinea* fand daher

zwar von 2007 bis 2014 in der EPPO Alert List Erwähnung, wurde jedoch als bereits etabliert betrachtet, weshalb kein Quarantänestatus verhängt wurde (EPPO 2014).

Tabelle 1: Subjektive und unvollständige Auswahl bemerkenswerter Ereignisse und Erkenntnisse aus der Forschung zum Eschentriebsterben.

Jahr	Ereignisse und Forschungserkenntnisse
1978	– Einem Herbarium wird eine Probe aus Estland zugefügt, die später als *Hymenoscyphus fraxineus* identifiziert wird. Ältester bekannter Nachweis des Pilzes (Agan et al. 2023)
1991	– Erste dokumentierte Beobachtungen von Eschentriebsterben-Symptomen in Europa (Juodvalkis & Vasiliauskas 2002)
1993	– Beschreibung von *Lambertella albida* in Japan (Hosoya et al. 1993)
2000	– Erste Symptome werden lokal in Deutschland beobachtet (Enderle et al. 2017)
2002	– Erste Untersuchungen zu möglichen Ursachen des Eschentriebsterbens werden publiziert (Juodvalkis & Vasiliauskas 2002, Przybył 2002)
2006	– Erstbeschreibung von *Chalara fraxinea* als primärer Verursacher des Eschentriebsterbens (Kowalski 2006)
2007	– *C. fraxinea* wird in die EPPO Alert List aufgenommen (EPPO 2014) – Erstnachweis von *C. fraxinea* in Deutschland (Schumacher et al. 2007)
2009	– *Hymenoscyphus albidus* ist vermeintliche Hauptfruchtform von *C. fraxinea* (Kowalski & Holdenrieder 2009)
2010	– Entwicklung artspeziefischer Primer zur Detektion / Identifikation von *C. fraxinea* (Johansson et al. 2010)
2011	– *Hymenoscyphus pseudoalbidus* ist die Hauptfruchtform von *C. fraxinea* (Queloz et al. 2011) – Es gibt genetisch bedingte Unterschiede in der Anfälligkeit verschiedener Eschennachkommen (Pliura et al. 2011)
2012	– Erster hypothetischer Lebenszyklus von *H. pseudoalbidus* wird veröffentlicht (Gross et al. 2012) – *H. pseudoalbidus* ist vermutlich primärer Verursacher von Stammfuß-nekrosen, Feuchtigkeit spielt eine Rolle (Husson et al. 2012) – COST-Action FP1103 FRAXBACK wird ins Leben gerufen
2013	– *H. pseudoalbidus* ist identisch mit *Lambertella albida* (Zhao et al. 2013) – Erste deutschlandweite Zusammenstellung von Handlungsempfehlungen für forstliche Praxis (Metzler et al. 2013)
2014	– Umbenennung von *H. pseudoalbidus* in *Hymenoscyphus fraxineus* (Baral et al. 2014) – Eschentriebsterbenerreger wird von der EPPO Alert List gestrichen (EPPO 2014)

	– Populationsstudien deuten eindeutig auf asiatische Herkunft (Gross et al. 2014)
	– *H. albidus* und *H. fraxineus* haben keinen gemeinsamen Vorfahren aus jüngerer Zeit (Bengtsson et al. 2014)
2016	– Erste genetische Marker für geringe Anfälligkeit der Esche identifiziert (Harper et al. 2016)
2017	– Infektion der Triebe erfolgt nachweislich über Blattstiele (Haňáčková et al. 2017)
	– Europaweiter Überblick des Wissens zum Eschentriebsterben auf Basis von FRAXBACK wird publiziert (Enderle et al. 2017, Vasaitis & Enderle 2017)
	– Genom der Esche ist sequenziert (Sollars et al. 2017)
	– Europäisches Review zum waldbaulichen Umgang mit dem Eschentriebsterben (Skovsgaard et al. 2017)
	– Pazifikregion Russlands ist die Quelle der Europäischen Population (Sønstebø et al. 2017)
2018	– Gesamte europäische Population geht auf nur zwei haploide Individuen zurück (McMullan et al. 2018)
2019	– Start des Projekts FraDiv
2020	– Start des Demonstrationsvorhabens FraxForFuture
2022	– Kann die europäische Population wirklich auf nur zwei Individuen zurückgehen? Kam es vielleicht doch zu einer Hybridisierung? (Buschbom 2022)
2023	– Kreuzresistenz bei *H. fraxineus* und *Agrilus planipennis* (Gossner et al. 2023)

Die Klärung der Identität des Pilzes war damit aber noch lange nicht abgeschlossen. 2009 wurde eine Studie veröffentlicht, die *C. fraxinea* mit Fruchtkörpern in Verbindung brachte, welche auf Eschenblattstielen in der Bodenstreu wuchsen und ihrer Morphologie und ihrem Vorkommen nach als *Hymenoscyphus albidus* zu identifizieren waren. Demnach war also *H. albidus,* ein seit über hundert Jahren als Blattstreuzersetzer bekannter heimischer Schlauchpilz, die Hauptfruchtform von *C. fraxinea*. Viele Hypothesen wurden verfolgt, um dieses Ergebnis zu erklären. War *H. albidus* etwa mutiert, und trat deswegen jetzt als aggressives Pathogen auf? Oder war eine Hybridisierung mit einer anderen Pilzart ursächlich? Oder lag es doch gar nicht am Pilz selbst, sondern führten andere Umwelteinflüsse wie etwa Schadstoffe zu einem Ungleichgewicht in der Pilz-Wirt-Beziehung?

Zwei lange Jahre stellte dies ein großes Mysterium dar, bis 2011 festgestellt wurde, dass es auf Eschenblattstielen in der Bodenstreu zwei morphologisch identische, aber genetisch klar unterscheidbare Pilzarten gibt, die eine harmloser Blattzersetzer

(*H. albidus*), die andere ein aggressives Pathogen (zunächst *Hymenoscyphus pseudo-albidus*, später *H. fraxineus* genannt).

Mit dieser Erkenntnis, und mit der Entwicklung artspeziefischer Primer zur sicheren Detektion von *C. fraxinea*, nahm die Eschentriebsterbenforschung nun endgültig Fahrt auf. Die COST-Action FRAXBACK (FP1103) ermöglichte einen Austausch verschiedenster Disziplinen auf europäischer Ebene, was zu diesem Zeitpunkt einen immensen, verstärkenden Einfluss hatte. Innerhalb weniger Jahre wurden nun sehr viele grundlegende wissenschaftliche Erkenntnisse gewonnen, die bis heute Bestand haben. Es wurde entdeckt, dass es genetisch bedingte Unterschiede in der Anfälligkeit individueller Eschen gab, dass der Pilz auch Stammfußnekrosen verursacht, welchen Lebenszyklus der Pilz verfolgt und wo sein natürliches Verbreitungsgebiet ist. Auch die in dieser Zeit veröffentlichten Handlungsempfehlungen für die forstliche Praxis haben bis heute weitgehend Bestand.

Diese Entwicklung der raschen Fortschritte kulminierte etwa zur Zeit der Endpublikationen von FRAXBACK im Jahr 2017. Das mediale Interesse war mittlerweile weitgehend abgeklungen. Das Thema Eschentriebsterben wurde trotz entsprechender Anträge vom europäischen Austauschprogramm COST nicht mehr gefördert. Die Anzahl wissenschaftlicher Publikationen zum Eschentriebsterben stagnierte fortan (Abb. 1). Die „low hanging fruits“ beim Erkenntnisgewinn waren abgeerntet, sodass zusätzliche Erkenntnisse nur noch mit höherem Aufwand, zum Beispiel durch holistischere Ansätze, zu generieren waren. So zeigten 2018 veröffentlichte Genomanalysen an, dass die gesamte europäische Population von *H. fraxineus* auf nur zwei haploide Individuen zurückgeht. Ein solches Ergebnis erscheint unwahrscheinlich und ist, wie eine 2022 veröffentlichte Synthese anmerkt, ein sehr offensichtlicher Ansatzpunkt, weiter zu forschen, um das unwahrscheinliche Ergebnis entweder zu bestätigen oder alternative Erklärungen für die Daten zu finden, doch wurden hierzu keine weiteren Studien mehr veröffentlicht. In dieser Phase des stagnierenden Forschungsinteresses auf europäischer Ebene wurden dann die beiden großen Forschungsprojekte FraDiv (2019) und FraxForFuture (2020) in Deutschland initiiert. Es handelt sich hierbei um die ersten großen Verbundprojekte zum Eschentriebsterben in Deutschland überhaupt.

Was können wir lernen?

Eine erste Auffälligkeit bei der hier skizzierten Entwicklung ist die Tatsache, dass *H. fraxineus* mindestens 24 Jahre Zeit hatte, sich zu etablieren und auszubreiten, bevor die erste wissenschaftliche Veröffentlichung zum Eschentriebsterben erschien, und das, obwohl die Symptome bereits zehn Jahre lang beobachtet wurden und seit zumindest zwei Jahren (lokal) auch in Deutschland sichtbar waren. Die Gründe für diesen langen Anlauf der Wissenschaft sind sicherlich vielschichtig,

doch liegt die Vermutung nahe, dass es einerseits zu wenige Experten für Waldschäden gab und sich diese andererseits eher auf anderes (Hauptbaumarten?) konzentrierten bzw. konzentrieren mussten. Es schließt sich außerdem die Frage an, warum nicht bereits das Auftreten von Symptomen, sondern erst die Entdeckung der Ursache der Symptome (*C. fraxinea*), umfangreichere Forschung initiierte. Liegt es an der Aufteilung in Fachdisziplinen (Entomologie, Pathologie, Abiotik), dass sich niemand mit den vormals unspezifischen Schäden befasste, weil dies gegenüber Vorgesetzten und Geldgebern nicht zu rechtfertigen war?

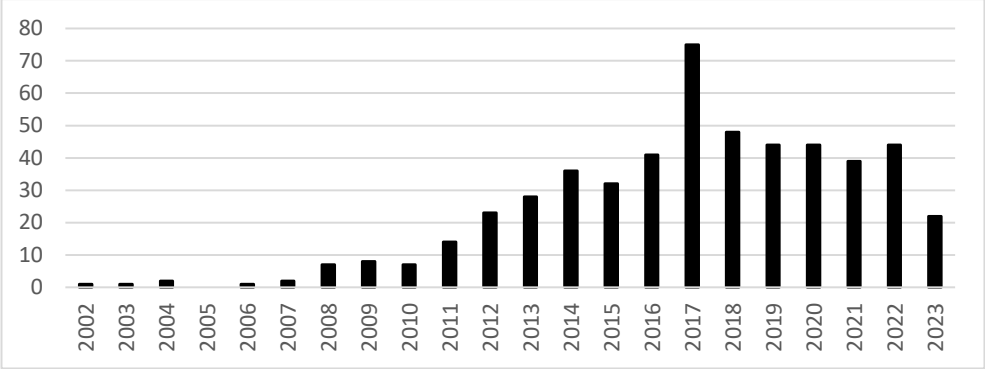

Abbildung 1: Anzahl der von Web of Science bei der Suche „ash dieback (All Fields)" ausgegebenen Publikationen pro Kalenderjahr für die Zeit vom 01.01.2002 bis 14.07.2023.

Die nächste Auffälligkeit ist, dass dann die eigentliche „Aufbruchstimmung" für die Forschung zum Eschentriebsterben erst 2011 aufkam, zeitgleich mit der Entdeckung von *H. pseudoalbidus*, einem neuen, vermutlich invasiven Pathogen. Dies brachte nicht nur ein enormes Interesse der Medien und breiten Öffentlichkeit, sondern erleichterte auch die Argumentation in Forschungsanträgen. Dabei wäre die Problematik im Wald und die Dringlichkeit ihrer Erforschung natürlich ebenso groß gewesen, wenn es diese Erkenntnis nicht gegeben hätte.

Der Aufschwung in der Forschung zum Eschentriebsterben erhielt zweifelsohne einen erheblichen Schub durch das sehr erfolgreiche Austauschprogramm FRAXBACK, durch das sich ein europaweites Netzwerk von Forschenden zum Eschentriebsterben bildete. Es überrascht daher nicht, dass der nächste große Wendepunkt, nämlich eine Stagnation der Eschentriebsterbenforschung, mit dem Zeitpunkt des Endes dieses Programms zusammenfällt. Dabei bestehen nach wie vor große Wissenslücken, zum Beispiel bezüglich der Ätiologie und genetischen Anfälligkeit gegenüber Stammfußnekrosen, bei Resistenzmechanismen, oder bezüglich der weiteren Entwicklung der europäischen *H. fraxineus*-Population in Bezug

auf lokale Anpassungen, Virulenz und Klimawandel. Nach wie vor gibt es keine zufriedenstellende Lösung der Eschenproblematik, denn es gibt noch keine probaten Mittel zur Bekämpfung, und es ist unklar, wie schnell sich Züchtungserfolge zeigen und wie umfassend sie ausfallen werden.

Für derartige Fragestellungen braucht es langfristige Forschung. Umso erfreulicher ist es, dass in Deutschland 2019 und 2020 große Forschungsprojekte initiiert wurden. Im Hinblick auf die internationale Dimension der Problematik wäre es wünschenswert gewesen, wenn diese Forschungsprojekte nicht auf Deutschland begrenzt wären, und sich direkt im Anschluss an FRAXBACK ergeben hätten, denn so wäre eine bessere Kontinuität gewährleistet gewesen (siehe auch Semizer-Cuming et al. 2019). Das FraxForFuture-Projekt endet Anfang 2024, das FraDiv-Projekt ein Jahr später. Es bleibt zu hoffen, dass ein weiterer Bruch in der Eschentriebsterbenforschung durch direkte Anschlussfinanzierung vermieden wird.

Literatur

Agan A, Tedersoo L, Hanso M, Drenkhan R (2023): Traces of *Hymenoscyphus fraxineus* in Northeastern Europe Extend Further Back in History than Expected. Plant Disease 107(2):344-349.

Bengtsson SBK, Vasaitis R, Kirisits T, Solheim H, Stenlid J (2012): Population structure of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* and its genetic relationship to *Hymenoscyphus albidus*. Fungal Ecology 5(2):147-153.

Buschbom J (2022): Genomic patterns and the evolutionary origin of an invasive fungal pathogen (*Hymenoscyphus fraxineus)* in Europe. Basic and Applied Ecology 59:4-16.

Enderle R, Fussi B, Lenz HD, Langer G, Nagel R, Metzler B (2017): Ash dieback in Germany: research on disease development, resistance and management options. In: Vasaitis R, Enderle R (Hrsg.) Dieback of European ash (*Fraxinus* spp.) – Consequences and Guidelines for Sustainable Management. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, pp 89-105.

Enderle R, Pliura A, Vasaitis R (Hrsg.) (2017): Advances in ash dieback research – and some other invasive diseases of trees. Baltic Forestry 23(1):1-333.

EPPO (European Plant Protection Organisation) (2014): Mini data sheet on *Chalara fraxinea*. https://gd.eppo.int/download/doc/991_minids_CHAAFR.pdf. Zugriff: 14. Juli 2023

Gossner MM, Perret-Gentil A, Britt E, Queloz V, Glauser G, Ladd T, Roe AD, Cleary M, Liziniewicz M, Nielsen LR, Ghosh SK, Bonello P, Eisenring M

(2023): A glimmer of hope–ash genotypes with increased resistance to ash dieback pathogen show cross-resistance to emerald ash borer. New Phytologist https://doi.org/10.1111/nph.19068.

Gross A, Zaffarano PL, Duo A, Grünig CR (2012): Reproductive mode and life cycle of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. Fungal Genetics and Biology 49(12):977-986.

Haňáčková Z, Koukol O, Čmoková A, Zahradník D, Havrdová L (2017): Direct evidence of *Hymenoscyphus fraxineus* infection pathway through the petiole-shoot junction. Forest Pathology 47(6):e12370.

Harper AL, McKinney LV, Nielsen LR, Havlickova L, Li Y, Trick M, Fraser F, Wang L, Fellgett A, Sollars ESA, Janacek SH, Downie JA, Buggs RJA, Kjær ED, Bancroft I (2016): Molecular markers for tolerance of European ash *(Fraxinus excelsior*) to dieback disease identified using Associative Transcriptomics. Scientific reports 6(1):19335.

Hosoya T, Otani Y, Furuya K (1993): Materials for the fungus flora of Japan. Trans. Mycol. Soc. Japan 34:429-432.

Husson C, Cael O, Grandjean JP, Nageleisen LM, Marçais B (2012): Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. Plant Pathology 61(5):889-895.

Johansson SBK, Vasaitis R, Ihrmark K, Barklund P, Stenlid J (2010): Detection of *Chalara fraxinea* from tissue of *Fraxinus excelsior* using species-specific ITS primers. Forest Pathology 40(2):111-115.

Juodvalkis A, Vasiliauskas A (2002): Drying extent of Lithuanian ash-tree woods and factors predetermining it. LZUU Mokslo Darbai, Biomedicinos Mokslai 56:17-22.

Kowalski T (2006): *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. Forest Pathology 36(4):264-270.

Kowalski T, Holdenrieder O (2009): The teleomorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash dieback. Forest Pathology 39(5):304-308.

McKinney LV, Nielsen LR, Collinge DB, Thomsen IM, Hansen JK, Kjær ED (2014): The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long-term solution. Plant Pathology 63(3):485-499.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z

McMullan M, Rafiqi M, Kaithakottil G, Clavijo BJ, Bilham L, Orton E, Percival-Alwyn L, Ward BJ, Edwards A, Saunders DGO, Garcia Accinelli G, Wright J,

Verweij W, Koutsovoulos G, Yoshida K, Hosoya T, Williamson L, Jennings P, Ioos R, Husson C, Hietala AM, Vivian-Smith A, Solheim H, MaClean D, Fosker C, Hall N, Brown JKM, Swarbreck D, Blaxter M, Downie JA, Clark MD (2018): The ash dieback invasion of Europe was founded by two genetically divergent individuals. Nature Ecology & Evolution 2(6):1000-1008.

Metzler B, Baumann M, Baier U, Heydeck P, Bressem U, Lenz H (2013): Bundesweite Zusammenstellung: Handlungsempfehlungen beim Eschentriebsterben. AFZ-Der Wald 68(5):17-20.

Pliura A, Lygis V, Suchockas V, Bartkevicius E (2011): Performance of twenty four European *Fraxinus excelsior* populations in three Lithuanian progeny trials with a special emphasis on resistance to *Chalara fraxinea*. Baltic Forestry 17(1):17-34.

Przybył K (2002): Fungi associated with necrotic apical parts of *Fraxinus excelsior* shoots. Forest Pathology 32(6):387-394.

Queloz V, Grünig CR, Berndt R, Kowalski T, Sieber TN, Holdenrieder O (2011): Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. Forest Pathology 41(2):133-142.

Schumacher J, Wulf A, Leonhard S (2007): Erster Nachweis von *Chalara fraxinea* T. KOWALSKI sp. nov. in Deutschland–ein Verursacher neuartiger Schäden an Eschen. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 59(6):121.

Semizer-Cuming D, Krutovsky KV, Baranchikov YN, Kjær ED, Williams CG (2019): Saving the world's ash forests calls for international cooperation now. Nature Ecology & Evolution 3(2):141-144.

Skovsgaard JP, Wilhelm GJ, Thomsen IM, Metzler B, Kirisits T, Havrdová L, Enderle R, Dobrowolska D, Cleary M, Clark J (2017): Silvicultural strategies for *Fraxinus excelsior* in response to dieback caused by *Hymenoscyphus fraxineus*. Forestry: An International Journal of Forest Research 90(4):455-472.

Sollars ES, Harper AL, Kelly LJ, Sambles CM, Ramirez-Gonzalez RH, Swarbreck D, ... & Buggs RJ (2017): Genome sequence and genetic diversity of European ash trees. Nature 541(7636):212-216.

Sønstebø JH, Vivian-Smith A, Adamson K, Drenkhan R, Solheim H, Hietala AM (2017): Genome-wide population diversity in *Hymenoscyphus fraxineus* points to an eastern Russian origin of European Ash dieback. BioRxiv:154492.

Vasaitis R, Enderle R (Hrsg.) (2017): Dieback of European ash (*Fraxinus* spp.) – Consequences and Guidelines for Sustainable Management. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala

Zhao YJ, Hosoya T, Baral HO, Hosaka K, Kakishima M (2013): *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albida* reported from Japan. Mycotaxon 122(1):25-41.

Keynote: Eschentriebsterben in Europa

Hat die Esche noch eine europäische Zukunft? Ja, wenn wir jetzt europäisch handeln!

Jan-Peter George*

Natural Resources Institute Finland (LUKE), Production Systems, 00720 Helsinki, Finland

*jan-peter.george@luke.fi

Die Europäische Esche (*Fraxinus excelsior*) und die Schmalblättrige Esche (*Fraxinus angustifolia*) sind Schlüssel-Forstbaumarten mit herausragender Bedeutung für die Forstwirtschaft, den Naturschutz und das Landschaftsbild in Europa. In Großbritannien und Irland besitzt beispielsweise die Europäische Esche darüber hinaus einen enormen kulturellen Stellenwert, welcher ganze Wirtschaftszweige geprägt hat und nach wie vor prägt (Hall et al. 2021). Beide Baumarten sind seit Beginn der 1990er Jahren lokal und regional in ihrem Bestand durch das aus Asien stammende Eschentriebsterben stark gefährdet und könnten in naher Zukunft durch den Eschenprachtkäfter (*Agrilus plannipennis*) an den Rand ihrer populationsgenetischen und populationsökologischen Existenzgrenze gelangen. Dies hat verheerende Folgen für den europäischen Forstsektor und darüber hinaus weitreichendere Folgen für ganze Ökosysteme, da beide Eschenarten mit einer großen Anzahl von Kommensalarten assoziiert sind, welche ebenso in ihrem Bestand gefährdet wären bzw. bereits gefährdet sind (Mitchell et al. 2014). Internationaler Wissensaustausch zum Eschentriebsterben existiert seit ca. 2012 in Europa (z.B. in Form der COST Action Fraxback) und hat wesentlich zum Verständnis der Krankheit sowie zur Dokumentation von regionalen Unterschieden in der Gefährdung von Eschen beigetragen (Enderle, Stenlid & Vasaitis 2019). Im Rahmen dieses Impulsvortrages soll diskutiert werden, ob die derzeitigen Anstrengungen zum Erhalt der Eschen-Arten ausreichen werden, um detrimentale Effekte in zukünftigen Eschenpopulationen und Ökosystemen vermeiden bzw. verlangsamen zu können. Detrimentale Effekte mit Langzeitfolgen können beispielsweise entstehen durch den überproportionalen Verlust an genetischer Diversität, Verringerung von Genfluss zwischen Populationen, und Funktionsstörungen in Ökosystemen durch den Verlust von weiteren assoziierten Schlüsselarten. Detrimentale Effekte sind in der Regel schwer zu quantifizieren, da sie erst einige Generationen später einsetzen, dann jedoch nur schwer umkehrbar sind. Dieses Phänomen wird in der Evolutionsökologie als *extinction debt* bezeichnet und beschreibt im Wesentlichen das

Missverständnis zwischen dem, was man aktuell beobachtet und dem, was man zukünftig beobachten wird (siehe z.B. Vranckx et al. 2011). Dieses Missverständnis könnte dazu führen, dass der europäische Genpool der Esche als auch Ökosysteme, welche von Eschen geprägt sind, trotz massiver Erhaltungsanstrengungen in eine evolutionäre Sackgasse gelangen. Um dieses Szenario zu verhindern ist es essenziell auf europäischer Ebene Wissen nicht nur auszutauschen, sondern auch gemeinsame Ziele, Zeithorizonte, Indikatoren und Ressourcen zu schaffen: Baumpopulationen und Ökosysteme existieren nicht innerhalb nationaler Grenzen, sondern darüber hinaus als größere Einheiten, welche im stetigen Austausch miteinander stehen. Die bereits bestehende Heterogenität in Europa bezüglich verschiedener Erhaltungsansätze, genetischer Ressourcen und zeitlichem Fortschritt ist in diesem Zusammenhang ein enormer Vorteil, welchen es effektiv und effizient zu nutzen gilt.

Abb. 1 gibt einen Überblick über den derzeitigen europäischen Stand der Eschenerhaltung sowie über bereits erreichte Meilensteine: der zeitliche Fortschritt folgt generell nicht der Infektionsgeschichte, da beispielsweise Polen erst relativ spät ein

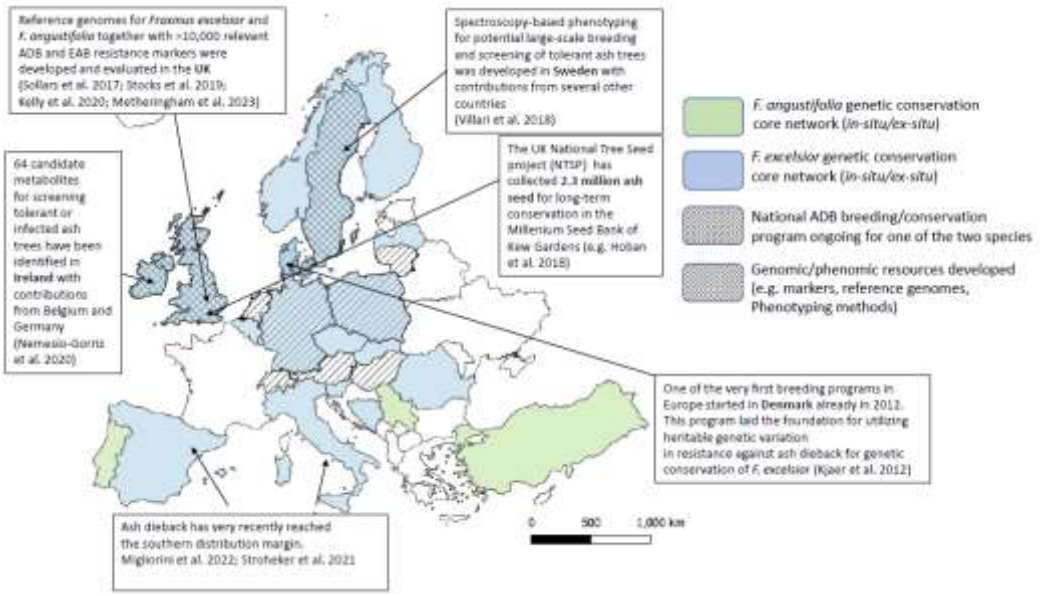

Abbildung 1: Überblick über die nationalen Erhaltungsinitiativen zu *Fraxinus excelsior* und *Fraxinus angustifolia* in Europa. *Core networks* bezieht sich auf in-situ und ex-situ Generhaltungseinheiten unter Euforgen (www.euforgen.com). Textfelder zeigen erreichte Meilensteine in Bezug auf genomische Ressourcen, Phänotypisierung, etc.

nationales Erhaltungsprogramm initiiert hat, das Eschentriebsterben aber bereits seit 1992 in Polen gegenwärtig ist. In den marginalen Teilen der Eschenpopulation im Süden Europas (Spanien, Italien) ist das Eschentriebsterben erst kürzlich beobachtet worden. Diese Länder könnten daher von bereits erzielten Fortschritten profitieren. Bereits harmonisierte Daten auf europäischer Ebene machen es generell möglich einige, jedoch nicht alle, der Voraussetzungen für eine europäische Erhaltungsstrategie zu unterstützen. Der ICP Forest level I Datensatz zum Kronenzustandsmonitoring in europäischen Wäldern bietet eine gute Möglichkeit den historischen, aktuellen, und zukünftigen Status der Esche in Europa besser einzuschätzen und erste Schlussfolgerungen abzuleiten (Abb. 2). Generell lässt sich ableiten, dass die Kronenverlichtung in Eschen in Nord-, Ost-, und Zentraleuropa seit dem Jahr 2000 deutlich zugenommen hat (George et al. 2022). Auch Mortalitätsraten haben deutlich zugenommen mit distinkten Hotspots in Nordeuropa. Mortalität wird zusätzlich deutlich begünstigt durch feuchte Lagen und feuchtes Wetter in der Vegetationsperiode. Derartige Analysen, basierend auf harmonisierten Daten, können beispielsweise genutzt werden, um bereits Priorisierungen vorzunehmen für Populationen welche auf europäischer Ebene als besonders gefährdet gelten.

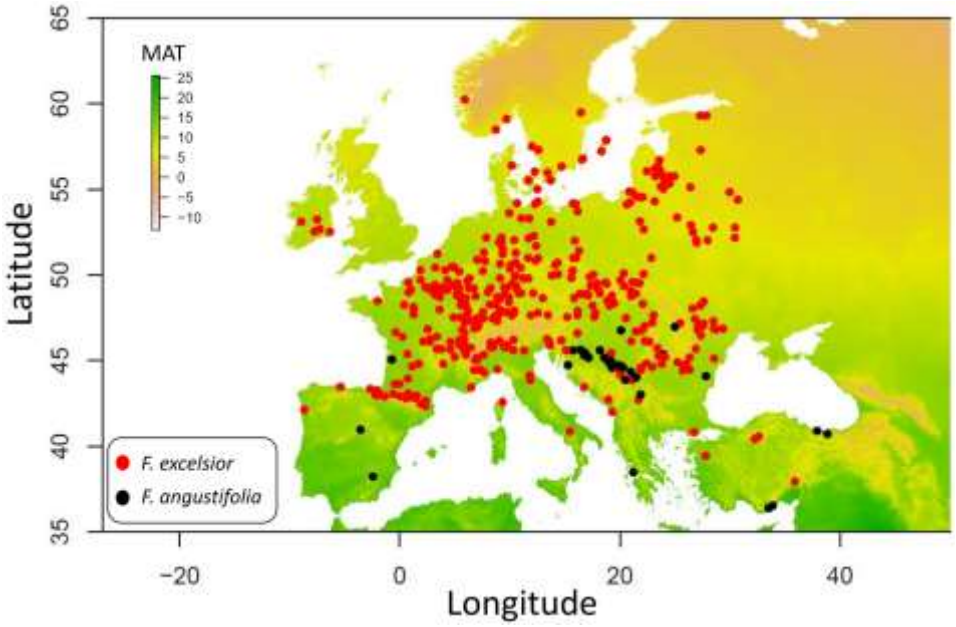

Abbildung 2: Harmonisierte Datensätze auf europäischer Ebene wie der ICP level I Datensatz zum Kronenzustand in europäischen Wäldern können wichtigen Aufschluss über den aktuellen Zustand und zukünftige Erhaltungsstrategien geben. (Abbildung entnommen aus George et al. 2022). Punkte zeigen ICP Monitoring plots über Europa in verschiedenen klimatischen Zonen (MAT: mean annual temperature).

Zusammenfassend lassen sich drei Kernpunkte ableiten: i) Europa ist an einem Punkt angekommen, an dem wissenschaftlicher Konsens aus den vielen nationalen Bemühungen gemacht werden sollte, welche bereits existieren. Dies würde zeitliche und finanzielle Ressourcen sparen und den weiteren Verlust von Diversität bremsen. ii) Es sollten wesentliche Fehler aus früheren Pandemien wie beispielsweise dem Ulmensterben vermieden werden. Ein entscheidender Fehler war, dass Erhaltungsinitiativen zu Ulmen Ziele entweder nicht oder nur unzureichend auf europäischer Ebene definiert haben (Beispiel: Was müssen wir wo konservieren? Wie viel und bis wann? Wie können wir unseren Konservierungserfolg/-defizit mithilfe von Indikatoren besser quantifizieren?). iii) Eine zukünftige europäische Strategie muss multipolar ausgerichtet sein: das Eschentriebsterben wird in wenigen Jahren bzw. Jahrzehnten durch die Ankunft des Eschenprachtkäfers in Europa sowie den Klimawandel zwei weitere Akteure berücksichtigen müssen, welche die europäische Eschenpopulation bedrohen. Züchtung allein wird daher keine Option sein, sondern durch statische Konservierung genetischer Ressourcen komplementiert werden müssen.

Literatur

Enderle R, Stenlid J, & Vasaitis R (2019): An overview of ash (*Fraxinus* spp.) and the ash dieback disease in Europe. CABI Reviews, (2019), 1-12.

George J-P, Sanders TG, Timmermann V, Potočić N, Lang M (2022): European-wide forest monitoring substantiate the neccessity for a joint conservation strategy to rescue European ash species (*Fraxinus* spp.). Scientific Reports, 12(1):4764. https://doi.org/10.1038/s41598-022-08825-6.

Hall C, Robinson J, Marzano M, Dyke A (2021): Values, management, and pest and disease threats associated with Ash: A review. Forest Research, UK. https://cdn.forestresearch.gov.uk/2021/08/values_management_and_pest_and_disease_threats_associated_with_ash.pdf. Zugriff 07. Juli 2023.

Mitchell RJ, Beaton JK, Bellamy PE, Broome A, Chetcuti J, Eaton S, ... Woodward S (2014): Ash dieback in the UK: a review of the ecological and conservation implications and potential management options. Biological Conservation, 175:95-109. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.04.019.

Vranckx GUY, Jacquemyn H, Muys B, Honnay O (2012): Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology*, 26(2):228-237.

Schwerpunkt Ökologie

Einfluss von Standortsfaktoren auf das Eschentriebsterben und die Ausprägung von Stammfußnekrosen

Felix Grün[1*], Sandra Peters [2], Sebastian Fuchs[1], Jan Evers[1], Uwe Paar[1], Gitta Langer[2]

[1]Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Umweltkontrolle, Göttingen

[2]Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldschutz, Göttingen

[*]felix.gruen@nw-fva.de

Hintergrund und Methodik

Im Schadverlauf des Eschentriebsterbens (ETS) können unterschiedliche Schädigungsgrade an befallenen Eschen beobachtet werden. Als mögliche Ursachen werden genetisch bedingte Unterschiede in der Virulenz des Erregers, Unterschiede in der Anfälligkeit der Eschen gegenüber *Hymenoscyphus fraxineus*, die Dauer des Befalls durch *H. fraxineus*, Bestandesparameter (z.B. Eschenanteil) und auch Standortsfaktoren diskutiert (Grosdidier et al. 2020). In vorangegangenen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen klimatischen und bodenbedingten Parametern und dem Schadfortschritt des ETS nachgewiesen werden (Klesse et al. 2021, Marcais et al. 2022). Auf dem bundesweiten Raster der Waldzustandserhebung (WZE) wurde der Zusammenhang von Standortsfaktoren und dem Vitalitätszustand von Eschen erforscht. Dabei wurden sowohl vorhandene Zeitreihen des Kronenzustandes von Eschen miteinbezogen als auch Zustandserhebungen an insgesamt 2.180 Eschen auf WZE-Punkten durchgeführt. Dazu wurde an allen WZE-Punkten mit ausreichend Eschen im Bestand (109 Aufnahmeflächen) die Schädigung nach dem Boniturschlüssel von Peters et al. (2021) an den 20 nächstgelegenen Eschen um den WZE-Zentrumspunkt aufgenommen, um eine Klassifizierung der Kronenschadstufen (ETS-Schadstufen) und der Ausprägung von Stammfußnekrosen (SFN-Stufen) vorzunehmen. Verschiedene Prädiktoren, die teilweise aus den Daten der Bodenzustandserhebung (BZE) abgeleitet wurden, um Standortsparameter wie Wasserhaushaltsklassen und Trophiestufen zu aggregieren, wurden auf ihren Einfluss getestet. Die statistische Auswertung erfolgte für die numerische abhängige Variable „Kronenverlichtung“ mit einem generalisierten additiven gemischten Modell. Für die ordinal skalierten Zielvariablen (ETS-Stufen, SFN-Stufen) wurde ein logistisches kumulatives Regressionsmodell (Fahrmeir et al. 2007) verwendet,

das mittels Bayes-Inferenz (Fahrmeir et al. 2007,) mit der Funktion „brm“ aus dem R-Paket „brms“ geschätzt wurde. Die Aufnahmefläche wurde jeweils als zufälliger Effekt im Modell spezifiziert.

Ergebnisse und Diskussion

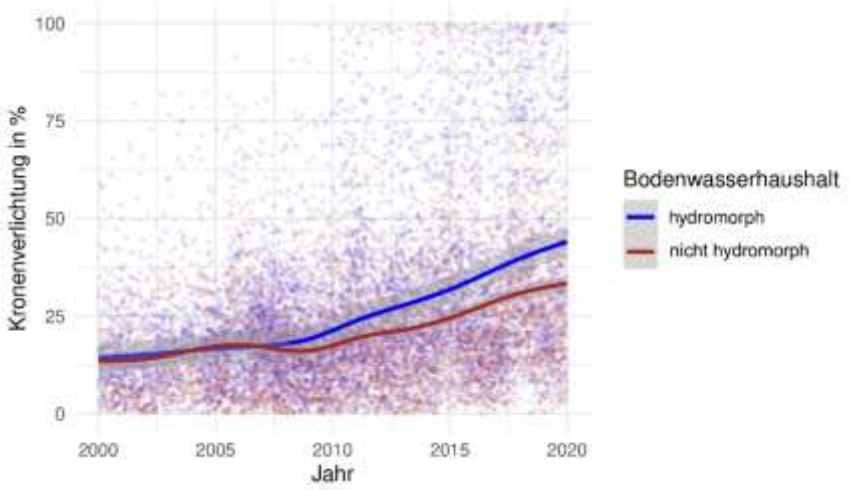

Abbildung 1: Darstellung des prozentualen Blattverlustes der Esche aus den Daten der bundesweiten Waldzustandserhebung und der Vergleich von Eschen auf hydromorphen (grund- oder stauwasserbeeinflussten) und nicht hydromorphen Standorten, geschätzt mit einem generalisierten additiven gemischten Modell (GAMM) für den Zeitraum von 2000 bis 2020 (R4.3.0, RStudio2023.03.01).

Die Einbeziehung der Daten aus der Bodenzustandserhebung und die Unterscheidung zwischen hydromorphen (grund- oder stauwasserbeeinflusst) und nicht hydromorphen Standorten zeigt deutlich, dass der Bodenwasserhaushalt Auswirkung auf den Vitalitätszustand (Blattverlust) der Eschen hat (Abb. 1). Vor Beginn des ETS hatte der Bodenwasserhaushalt keinen sichtbaren Einfluss auf die Kronenverlichtung von Eschen. Seit der Ausbreitung des ETS nahm die Kronenverlichtung auf hydromorphen Standorten früher und schneller zu. Auch die Auswertung der eigens durchgeführten Zustandserhebung zeigt, dass auf zunehmend feuchteren Standorten die Wahrscheinlichkeit von schweren ETS-Symptomen zunimmt. Abb. 2 zeigt exemplarisch den Vergleich der statistischen Auswertung für die ETS-Schadstufen 2 (leicht geschädigt) und 4 (absterbend). Die mittleren Wahrscheinlichkeiten (Median, gestrichelte Linie in Abb. 2 und 3), dass die Eschen in die schlechtere Schadstufe 4 eingestuft werden, sind auf hydromorphen Standorten („nass“-„feucht“) deutlich höher, während die Wahrscheinlichkeiten, dass Eschen in die bessere Schadstufe 2 eingestuft werden, auf Standorten ohne Stau- bzw. Grundwassereinfluss („sehr frisch“-„mäßig trocken“) höher sind.

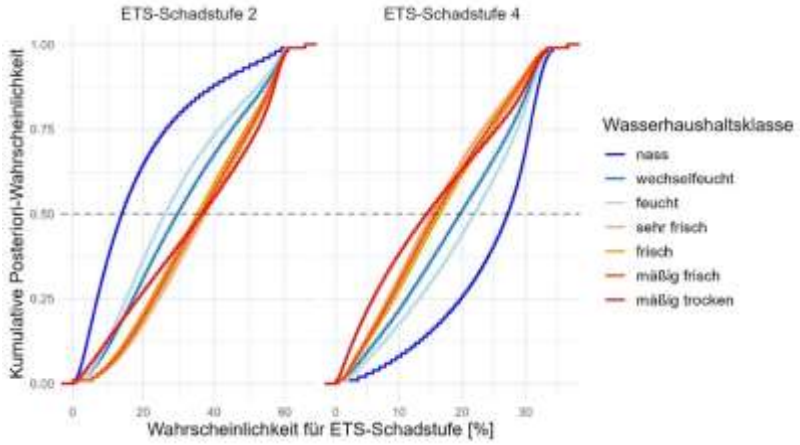

Abbildung 2: Vergleich der sieben Wasserhaushaltsklassen und deren Wahrscheinlichkeitsverteilungen aus dem logistisch sequentiellen Modell (Fahrmeir et al. 2007) geschätzt mittels Bayes-Inferenz (Fahrmeir et al. 2007), zur Schätzung der Wahrscheinlichkeiten der Kronenschadstufen 2 und 4 (Peters et al. 2021) (Median, gestrichelte Linie) (R4.3.0, RStudio2023.03.01).

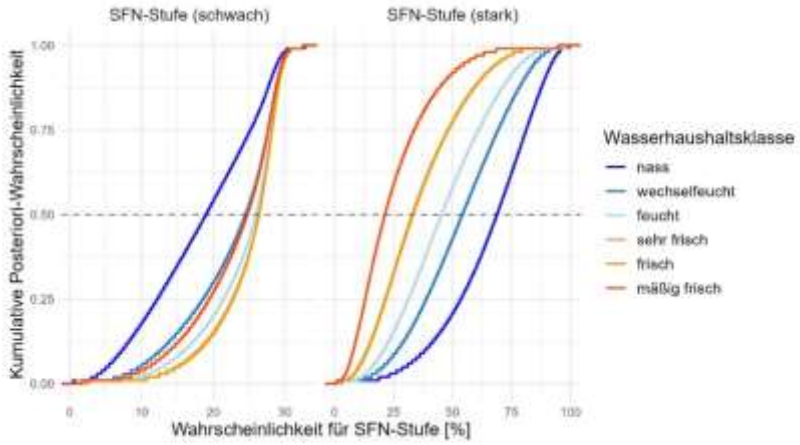

Abbildung 3: Vergleich der sieben Wasserhaushaltsklassen und deren Wahrscheinlichkeitsverteilungen aus dem logistisch sequentiellen Modell (Fahrmeir et al. 2007) geschätzt mittels Bayes-Inferenz (Fahrmeir et al. 2007), zur Schätzung der Wahrscheinlichkeiten für die Stammfußnekrosen-Stufen „keine“ und „stark“ (Peters et al. 2021) (Median, gestrichelte Linie) (R4.3.0, RStudio2023.03.01).

Die Analyse der Stammfußnekrosen zeigt, dass auf nassen und wechselfeuchten Standorten am ehesten stark ausgeprägte Stammfußnekrosen auftreten, während auf

frischen und mäßig frischen Standorten am häufigsten Stammfüße ohne Nekrosen beobachtet werden können (Abb. 3).

Die Nährstoffversorgung des Standorts zeigt sowohl auf den Kronenzustand als auch auf die Ausprägung der Stammfußnekrosen nur einen geringen Effekt. Lediglich Eschen auf Standorten der höchsten Trophie-Stufe („karbonat-eutroph“) scheinen eine höhere Wahrscheinlichkeit für weniger ETS-Symptome in der Krone zu haben. Dies liegt aber mutmaßlich nicht am Karbonat, sondern in erster Linie an der generell höheren Vitalität von Eschen auf sehr gut nährstoffversorgten Standorten, da das Vorhandensein von freiem Kalk im Oberboden (80 cm) gegenüber nicht-karbonatischen Standorten keine Abweichungen zeigte.

Die bisherigen Untersuchungen bestätigen bundesweit den Zusammenhang zwischen bodenbedingten Standortsfaktoren und dem Schadfortschritt des ETS inklusive der Ausprägung von Stammfußnekrosen. Die Mortalität der Eschen dürfte daher in Deutschland vor allem auf hydromorphen Standorten hoch bleiben. Weitere Untersuchungen sollen klären, ob klimatische Faktoren wie die klimatische Wasserbilanz einen Einfluss auf die Schadentwicklung auf verschiedenen Standorten haben. Dies könnte Aufschluss darüber geben, ob sich klimatische Veränderungen hin zu größerer Sommertrockenheit auf die Epidemiologie des ETS auswirken.

Literatur

Fahrmeir L, Kneib T, Lang S (Hrsg.) (2007): Regressionsmodelle. In: Regression: Modelle, Methoden und Anwendungen. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 19-58. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33933-5_2.

Grosdidier M, Scordia T, Ioos R, Marçais B (2020): Landscape epidemiology of ash dieback. Journal of Ecology, 108(5):1789-1799. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13383.

Klesse S, Abegg M, Hopf SE, Gossner MM, Rigling A, Queloz V (2021): Spread and Severity of ash dieback in Switzerland – Tree Characteristics and Landscape Features Explain Varying Mortality Probability. Frontiers in Forests and Global Change: 4. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/ffgc.2021.645920.

Marçais B, Giraudel A, Husson C (2022): Ability of the ash dieback pathogen to reproduce and to induce damage on its host are controlled by different environmental parameters. bioRxiv 2022.05.03.490390 https://doi.org/10.1101/2022.05.03.490390.

Peters S, Langer G, Kätzel R (2021): Bonitur geschädigter Eschen im Kontext des Eschentriebsterbens. AFZ-Der Wald 12:28-31.

Förderkennzeichen: 2219WK22A4

Schwerpunkt Ökologie

Untersuchungen zu Entstehung und Schadensverlauf von Stammfußnekrosen an *Fraxinus excelsior* im Zusammenhang mit dem Eschentriebsterben

Luisa Knauf*, Sabine Remmele, Jörg Grüner

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Waldschutz, Freiburg

*Luisa.Knauf@forst.bwl.de

Das zunehmende Auftreten von Stammfußnekrosen an *Fraxinus excelsior* führt seit vielen Jahren zu einem steigenden Risiko für Arbeits- und Verkehrssicherheit und beschleunigt das Absterben betroffener Bäume. Die Schäden am Stammfuß und im Wurzelbereich von Eschen werden mit *Hymenoscyphus fraxineus*, dem Erreger des Eschentriebsterbens in Zusammenhang gebracht. Bisher ist jedoch nicht abschließend geklärt unter welchen Bedingungen Stammfußnekrosen entstehen und wann eine Erholung des Baums in Form von Überwallungen möglich ist. Mit dendrochronologischen Methoden wurden im Rahmen des Demonstrationsprojekts FraxForFuture (Langer et al. 2022) Stammscheiben mit Nekrosen aus dem bodennahen Bereich, von mehreren Versuchsflächen in ganz Deutschland, untersucht. Es wurden, neben dem Baumalter, die Entstehungsjahre der Schäden datiert, wobei nebeneinanderliegende Schadstellen, die in aufeinanderfolgenden Jahren entstanden sind, zu einem Schadcluster zusammengefasst wurden (Abb. 1). Zusätzlich wurden die Jahre in denen Überwallungsleistungen erbracht wurden und der Zeitpunkt der letalen Schädigung des Kambiums erfasst. Vorläufige Auswertungen zeigen ein vermehrtes Auftreten von Stammfußnekrosen ab 2010 mit einem verstärkten jährlichen Anstieg ab 2016. Viele Schäden dehnten sich von Jahr zu Jahr weiter aus, wobei das Kambium an den Schadstellen überwiegend während der Vegetationsruhe letal geschädigt wurde. Überwallungen oder Überwallungsversuche und damit eine Erholungsleistung des Baums konnte bei etwa der Hälfte der Schadcluster beobachtet werden.

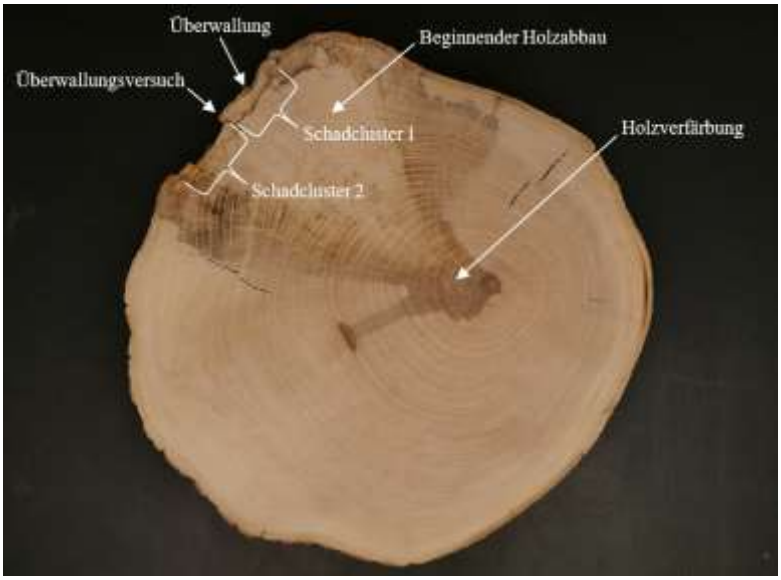

Abbildung 1: Eschenstammscheibe mit nekrotischen Schadclustern, Überwallungen und Überwallungsversuchen, Holzverfärbungen und -abbau zur dendrochronologischen Analyse.

Um ein besseres Verständnis dafür zu erlangen, welche Rolle *H. fraxineus* bei der Entstehung von Stammfußnekrosen spielt, wurden Infektionsversuche und anschließend histologische Untersuchungen durchgeführt. Zunächst wurden Eschen-Mikrobohrkerne *in vitro* mit *H. fraxineus* beimpft. Mikroskopisch zeigte sich hier eine erfolgreiche Besiedelung der Eschenrinde nach 21 Tagen. Zusätzlich sollte die Interaktion von *H. fraxineus* mit *Armillaria gallica* bei der Besiedelung des wurzelnahen Bereichs von Eschen untersucht werden. Hierzu wurden *in vivo*-Inokulationsversuche an Eschensämlingen durchgeführt. An Versuchspflanzen, die zuerst mit *H. fraxineus* und drei Wochen später zusätzlich mit *A. gallica* infiziert wurden, konnte makroskopisch die tendenziell schnellste und stärkste Nekrosenentwicklung beobachtet werden, wobei die Nekrosen auch hier nur schwach ausgeprägt und wenige Millimeter groß waren. Nach Versuchsabschluss wurden histologische Präparate aus dem Infektionsbereich angefertigt und mikroskopisch analysiert (Abb. 2), um Einblicke in die Infektionsmechanismen von *H. fraxineus* zu gewinnen. Bisher konnten in den analysierten Proben jedoch keine Hyphen gefunden werden. Zudem wurde weder *H. fraxineus* noch *A. gallica* aus den Versuchspflanzen reisoliert.

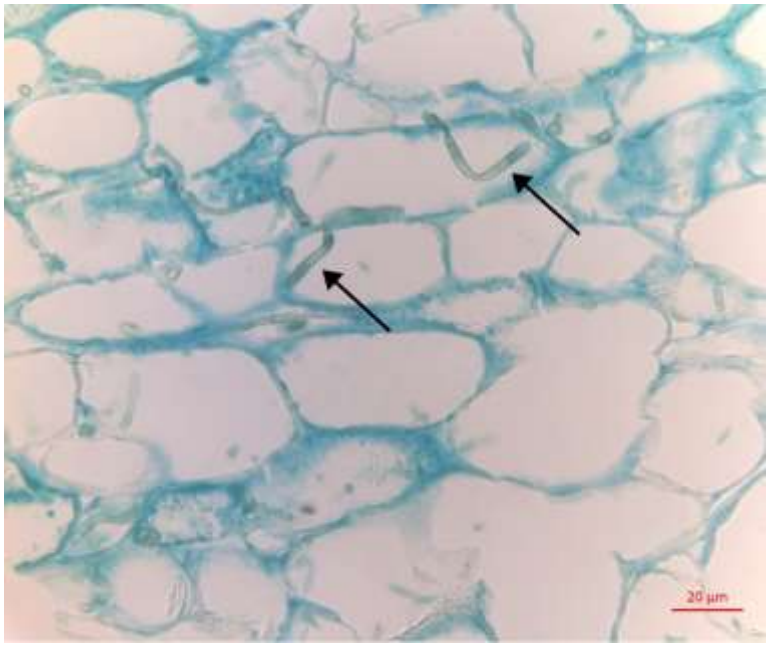

Abbildung 2: Mikroskopische Aufnahme eines Gewebeschnitts mit Hyphen von *Hymenoscyphus fraxineus* (siehe Pfeile) in Eschenrinde, 21 Tage nach der Inokulation.

Literatur

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Förderkennzeichen: 2219WK22C4

Schwerpunkt Ökologie

Mikroskopische Untersuchungen zum Erreger des Eschentriebsterbens im Holzgewebe

Marius Möhring*, Kai Stehlgens*, Silke Lautner

Hochschule für nachhaltige Entwicklung Eberswalde, Alfred Möller Str. 1, 16225 Eberswalde

*marius.moehring@hnee.de, kai.stehlgens@hnee.de

Hintergrund und Methodik

Die Gemeine Esche (*Fraxinus excelsior*) wird in Europa durch eine hochinfektiöse Pilzerkrankung in ihrer Existenz gefährdet. Als Hauptauslöser für das sog. Eschentriebsterben wird *Hymenoscyphus fraxineus* angesehen (Baral et al. 2014). Die typische Symptomatik des Eschentriebsterbens ist zwar hinlänglich bekannt, über die Ausbreitung des Pilzes im Holzgewebe wurde bisher wenig publiziert (Schumacher et al. 2010). In der vorliegenden Studie wurde die Ausbreitung von *H. fraxineus* im Holzgewebe mittels mikroskopischer Methoden untersucht. Für die Untersuchungen wurden auf im Rahmen des FraxForFuture-Projektes bundesweit eingerichteten Versuchsflächen (Langer et al. 2022) Triebe aus den Baumkronen adulter Eschen beprobt, deren Bonitur eine schlechte Vitalität ergeben hat. Das Probenmaterial wurde hauptsächlich aus Terminal- und Vorjahrestrieben entnommen. Zusätzlich wurden Sprossachsen von Jungpflanzen mit Symptomen aus natürlicher Infektion und Sprossachsen aus Inokulationsversuchen mit *H. fraxineus* in Reinkultur untersucht. Mit einem Rotationsmikrotom wurden aus den Proben Quer- und Radialschnitte angefertigt. Zur Betonung der Symptome wurde die FCA-Färbung nach Etzold (Etzold 2002) verwendet. Die Auswertung der Proben erfolgte licht- und rasterelektronenmikroskopisch.

Ergebnisse

Die Untersuchungen von Trieben adulter Eschen zeigten nur vereinzelt Symptome des Eschentriebsterbens. Größtenteils waren die Triebe trotz schlechter Vitalitäts-bewertung symptomfrei. Bei den Jungpflanzen hingegen waren deutliche Symptome zu beobachten. Die äußerlich sichtbaren Nekrosen, sog. hypersensitive Reaktionen, erstreckten sich lokal radial über den gesamten Bast einschließlich des Cambiums. Eine Nekrotisierung des angrenzenden Xylems wurde nicht festgestellt, jedoch ließen sich makroskopisch sichtbare Verfärbungen im Xylem beobachten, die in ihrer axialen Ausdehnung die nekrotisierten Bereiche des Bastes übertrafen. Die

histologische Betrachtung dieser Bereiche zeigte auffallende Anfärbungen von Parenchymzellen. Das nekrotisierte Gewebe innerhalb des Bastes wurde durch ein neu gebildetes Wundperiderm begrenzt. Dieses Abschottungsgewebe bestand aus mehreren Reihen Phellemzellen (Abb. 1A Pfeil). Eine Abschottung der nekrotisierten Bereiche zum Xylem hin erfolgte nicht. In Längsrichtung betrachtet war häufig unter- und oberhalb der äußerlich sichtbaren Rindenläsionen nekrotisiertes Phloem- und Cambiumgewebe zu beobachten, ohne dabei das Rindenperiderm zu penetrieren. Auch diese Bereiche wurden innerhalb des Bastes durch Wundperiderm abgeschottet. Die axiale Ausdehnung der Verfärbung im Xylem war ebenfalls deutlich größer als die äußerlich sichtbaren Rindennekrosen. Hyphenstrukturen konnten überwiegend im verholzten Gewebe parallel zu den nekrotischen Läsionen des Rindenperiderms im Xylem detektiert werden. Die Hyphen erschlossen das Xylemgewebe sowohl axial über die Lumina von Gefäßen, Fasern, Axial- und Markparenchym als auch radial über das Strahlenparenchym. Dabei nutzen sie vorwiegend die vorhandenen Wegbarkeiten via Tüpfel und Gefäßdurchbrechungen. Degradationserscheinungen von Zellwänden wurden nicht sichtbar. Das Hyphenvorkommen war spärlich, wobei die größte Hyphendichte in den Gefäßen zu beobachten war (Abb. 1B). Die Hyphendurchmesser variierten stark und lagen im Xylem zwischen 0,7 und 4,5 µm. Außerhalb des Wirtes, im Inokulat, wurden durchschnittliche Hyphendurchmesser von 5,7 µm gemessen. Die Dimensionen der Hyphen und ihre Verbreitung war nahezu analog zwischen natürlich infizierten und inokulierten Jungpflanzen, wobei die Hyphendichte bei Letzteren höher war.

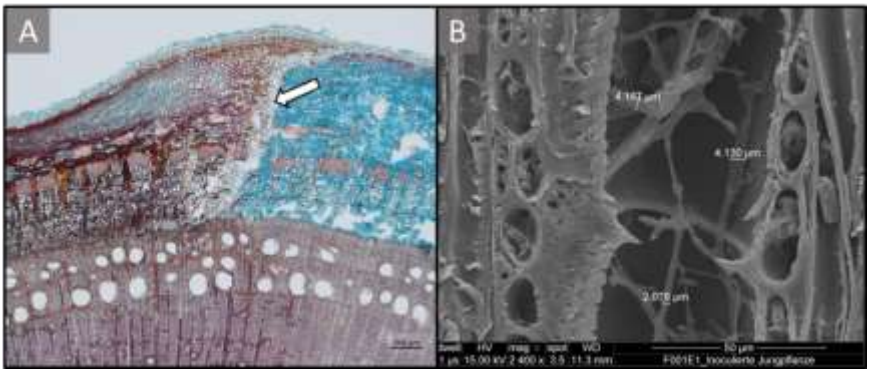

Abbildung 1: A) natürlich infizierte Jungpflanze: Nekrotisierter Bast durch Wundperiderm (Pfeil) abgeschottet. B) Hyphen im Gefäßlumen einer inokulierten Jungpflanze

Diskussion

Die Ausbreitung der Hyphen erfolgt systemisch, d.h. sie erschließen das Xylemgewebe mehr oder weniger unspezifisch. Die Erschließung der parenchymatischen Zellen könnte mit den dort gespeicherten Nährstoffen zusammenhängen, die dem Pilz als Nahrungsgrundlage dienen. Die auffälligen Verfärbungen dieser Zellen könnten einerseits die Besiedlungswege des Pilzes anzeigen und andererseits auf physiologische Abwehrreaktionen des Wirtes, wie die Einlagerung phenolischer Substanzen, hindeuten. Im verholzten Spross zeigen sich nur geringe Anzeichen induzierter Abwehrmechanismen. Auch konstitutive Abwehrmechanismen wie Jahrringgrenzen und Holzstrahlen scheinen die Ausbreitung des Pilzes nur bedingt aufhalten zu können. Die geringen Abwehrreaktionen im Xylem erklären, warum sich der Pilz bevorzugt in diesem ausbreitet, denn im Bast bieten die hypersensitiven Reaktionen weniger vorteilhafte Bedingungen für das Pilzwachstum. Die infolge des Pilzbefalls expandierende Nekrotisierung des Cambiums und die Einschränkung des axialen Wasserleitsystems durch Hyphen in den Gefäßlumina könnten einen Erklärungsansatz für den letalen Verlauf der Krankheit bei Jungpflanzen liefern. Die Inokulationsversuche bestätigen die Annahme früherer Studien, dass die Rindennekrosen eine Folge vorangegangener Schädigungen sind (vgl. Schumacher 2010). Dafür sprechen zum einen die Verfärbungen im verholzten Bereich, die sich in ihrer axialen Ausdehnung über äußerlich sichtbare Nekrosen hinaus erstrecken und zum anderen die ausbleibende Abschottung des nekrotisierten Gewebes zum Xylem hin. Es scheint also, dass der Pilz, der durch die Inokulation der äußeren Rinde eingeführt wurde, zügig das Xylem und das Mark über die Baststrahlen erschließt, um von dort aus axial über das Leitungsgewebe zu expandieren.

Literatur

Baral H-O, Queloz V, Hosoya T (2014): *Hymenoscyphus fraxineus*, the correct scientific name for the fungus causing ash dieback in Europe. IMA fungus 5, 79–80, https://doi.org/10.5598/imafungus.2014.05.01.09.

Etzold H (2002): Simultanfärbung von Pflanzenschnittten mit Fuchsin, Chysoidin und Astrablau. Mikrokosmus 91. Jahrgang Heft 5: 316-318.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner G (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129: 1285-1295.

Schumacher J, Kehr R, Leonhard S, Wulf A (2010): Neue Erkenntnisse zur Pathogenese des Triebsterbens an Esche (*Fraxinus excelsior*). In: Journal für Kulturpflanzen 62, S. 1-8., https://doi.org/10.5073/JfK.2010.01.01

Förderkennzeichen: 2219WK20G4

Schwerpunkt Ökologie

Das Mykobiom im Wurzelraum von Eschen

Ludmila Lysenko*, Ewald Langer

Universität Kassel, Institut für Biologie, Fachgebiet Ökologie, Kassel
*ludmila.lysenko@uni-kassel.de

Insgesamt wurden 21 Proben mittels dem MinION-Sequenzierer (Oxford Nanopore Technologies) unter Verwendung der Primer ITS1F (Gardes & Bruns 1993) und ITS4 (White et al. 1990) ausgewertet. Hierbei erfolgte eine Untersuchung von Bodenproben sowie nicht-oberflächensterilisierten und oberflächensterilisierten Feinwurzeln. Am Ende der bioinformatischen Auswertung enthielt der Datensatz 2.227.788 Sequenzen, die sich auf insgesamt 1.124 OTUs (operational taxonomic unit) verteilten. Nur 20 OTUs hatten eine Häufigkeit von mindestens 1 % und machten zusammen etwa 43 % der gesamten Sequenzen aus. Insgesamt konnten 16 Phyla, 46 Klassen, 93 Ordnungen, 185 Familien und 333 Gattungen zugeordnet werden. Dabei wurden etwa 87 % der Sequenzen den Basidiomycota (~48 %) und Ascomycota (~39 %) zugeordnet, jeweils 3,7 % den Rozellomycota und Mortierellomycota, 2,7 % den Glomeromycota und 0,8 % den Chytridiomycota. Für die Basidiomycota ergab sich die höchste Sequenzanzahl für die sterilisierten und für die Ascomycota für die unsterilisierten Wurzeln. Die Chytridiomycota, Rozellomycota und Mortierellomycota waren vor allem in den Bodenproben vertreten, während die Glomeromycota vermehrt in den Wurzelproben detektiert wurden.

Bei den Bodenproben waren durchschnittlich die Gattungen *Saitozyma*, *Solicoccozyma*, *Mortierella*, *Apiotrichum*, *Penicillium*, *Podila*, *Sebacina*, *Trichoderma* und *Melanogaster* häufig vertreten. Sowohl in den unsterilen als auch sterilen Wurzelproben wiesen *Mycena* und *Mycenella* durchschnittlich die höchste relative Abundanz auf, wobei es hier zum Teil deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Flächen gab. In den unsterilisierten Wurzeln waren *Ilyonectria* und *Trechispora*, in den sterilisierten Wurzelproben *Glomus*, *Pezicula*, *Teratoshaeria* und *Delicatula* durchschnittlich häufiger.

Auf der Grundlage der Alpha-Diversitätsanalyse zeigte die Anzahl der OTUs einen signifikanten Unterschied bei den sterilisierten Wurzelproben, der Shannon-Index zeigte einen signifikanten Unterschied der Bodenproben, während sich beim Simpson-Index die Bodenproben und die sterilisierten Wurzelproben signifikant unterschieden. Die Unterschiede in der Beta-Diversität wurden mittels NMDS-

Analyse basierend auf Bray-Curtis-Distanzen bewertet. Hier zeigte sich eine deutliche Trennung zwischen den Bodenproben und den Wurzelproben, während die beiden Wurzelprobentypen zum Teil überlappten. Die Bodenproben zeigten eine geringere Streuung als die Wurzelproben auf, wobei diese für die sterilisierten am höchsten war. Es ließ sich zudem beobachten, dass sich Proben von bestimmten Regionen über alle Probentypen im NMDS-Plot in unmittelbarer Nähe befanden (Abb. 1).

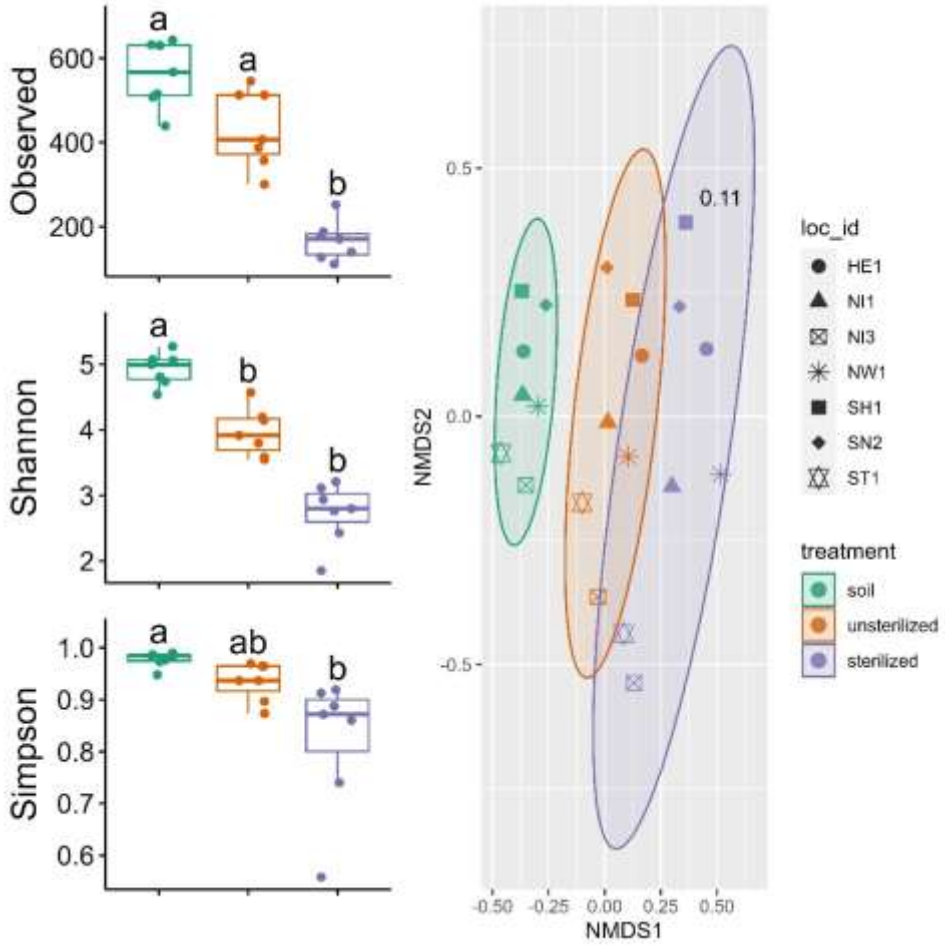

Abbildung 1: Übersicht der Alpha-Diversität mit dem Dunns Kruskal-Wallis Mehrfachvergleich und der Beta-Diversität durch NMDS und der Berechnung der Distanzen nach Bray-Curtis nach den Probentypen Boden, unsterilisierte und sterilisierte Wurzeln.

Literatur

Gardes M, Bruns TD (1993): ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. Mol Ecol. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.

White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Hrsg.) PCR Protocols – a Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, pp 315-322.

Förderkennzeichen: 2219WK22D4

Schwerpunkt Ökologie

Biochemische Profile von Eschen vor dem Hintergrund des Eschentriebsterbens

Henriette Häuser*, Ralf Kätzel

Landesbetrieb Forst Brandenburg, Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde, Waldökologie und Monitoring, Eberswalde
*Henriette.Haeuser@LFB.Brandenburg.de

Umfangreiche quantitative Analysen biochemischer Inhaltsstoffe wurden an Blättern, Trieben und dem äußeren Stammholz von Eschen durchgeführt. Diese Inhaltsstoffe (Biomarker des Energie-, Primär- und Sekundärstoffwechsels) sollten als potenzielle Frühindikatoren für den Infektions- und Vitalitätszustand der Bäume getestet werden. Das Untersuchungsprogramm ging der These nach, ob sich der durch den Erreger des Eschentriebsterbens (*Hymenoscyphus fraxineus*) verursachte Vitalitätsverlust bzw. die entsprechenden Abwehrreaktionen auch in den biochemischen Profilen der Inhaltsstoffe widerspiegeln. Die Untersuchungen boten gleichzeitig die Möglichkeit, die biochemische/phänotypische Plastizität innerhalb und zwischen den Populationen in Deutschland sowie in der zeitlichen Dynamik zu bewerten. Es wurde auch nach kausalen Zusammenhängen zu anderen Monitoringparametern gesucht, darunter terrestrischer und fernerkundlicher Kronenzustand, Stammfußnekrosen sowie genetischen und histologischen Strukturen der Bäume.

Die Untersuchungen wurden auf 14 Intensivbeobachtungsflächen (Langer et al. 2022), welche zu Projektbeginn ausgewählt und eingerichtet wurden, in ganz Deutschland in drei Vegetationsperioden durchgeführt. Auf jeder Fläche wurden einmal jährlich im Juli/August von 30 Eschen unterschiedlicher Vitalität Proben von Blättern und Trieben aus der Lichtkrone sowie vom äußeren Holzkörper im Bereich des Stammfußes gewonnen.

Die biochemischen Analysen zeigten, dass insbesondere lokale Standorteinflüsse und meteorologische Faktoren den Zusammenhang zwischen den Bonitur-parametern (beispielsweise Kronenzustand im Sommer und Winter oder Stamm-fußnekrosen) und den Inhaltsstoffen in Blättern und Holz überlagern (Abb. 1). Es wurde festgestellt, dass die biochemischen Profile darüber hinaus vom Genotyp beeinflusst werden, was die Identifizierung flächenübergreifender Leitindikatoren erschwert. Einzelne Blattinhaltsstoffe stehen jedoch in einer engeren Beziehung zum Vitalitätszustand, insbesondere Gamma-Aminobuttersäure (GABA) und die

Gesamtphenolischen Verbindungen. Die Komplexität der Zusammenhänge wurde besonders bei den Phenolen deutlich, wo sowohl tendenzielle Zusammenhänge zu den Boniturstufen als auch zu genetischen Merkmalen erkennbar waren. Zur Absicherung dieser Zusammenhänge wären jedoch vertiefende Untersuchungen erforderlich.

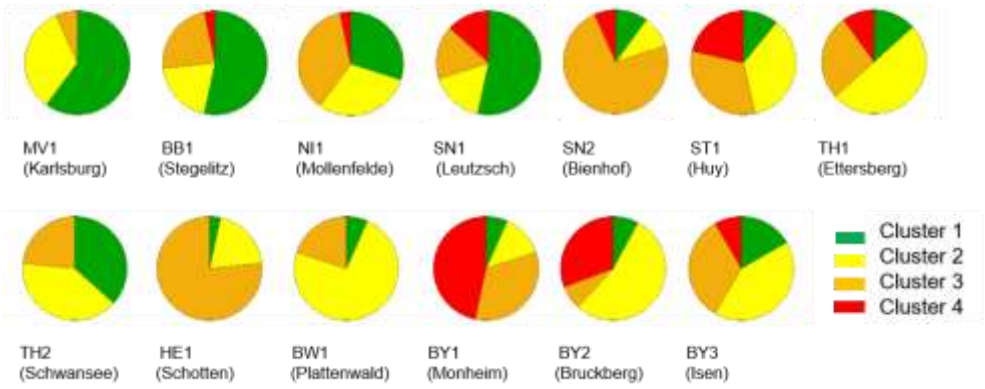

Abbildung 1: Mit ausgewählten biochemischen Inhaltsstoffen wurde eine Faktoranalyse durchgeführt. Bei den Blattinhaltsstoffen konnten hier fünf Faktoren extrahiert werden: Phenol-Faktor, Wasser-Faktor, Alanin-Faktor, Arginin-Faktor und Gamma-Aminobuttersäure-Faktor. Die verschiedenen Faktoren weisen auf unterschiedliche physiologische Zustände hin. Anschließend wurde mit diesen Faktoren eine Clusteranalyse durchgeführt. Hier zeichneten sich vier Cluster ab, in welche die Eschen gruppiert werden können. Insbesondere der Phenol-Faktor zeigte signifikante Unterschiede zwischen allen Clustern. Alle beprobten Eschen wurden den Clustern zugeordnet, sodass ein Flächenvergleich nach Clusterzugehörigkeit durchgeführt werden konnte. Die Abbildung zeigt die Zuordnung der Einzelbäume je Fläche zu den vier Clustern. Auf vielen Flächen dominiert eines der Cluster. Die Verteilung zeigt jedoch auch die Diversität und Komplexität der Biochemie der Esche.

Die untersuchten biochemischen Inhaltsstoffe in den Trieben zeigten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge mit dem Eschentriebsterben (ETS). Dieser Befund wurde auch durch histologische Untersuchungen bestätigt, bei denen an den Beprobungsstellen kaum Abwehrreaktionen festgestellt wurden. Allerdings deuteten Infektionsversuche auf phenolische Einlagerungen hin.

Hinsichtlich der untersuchten Stammfußnekrosen im Holz wurden Zusammenhänge mit Gehalten an löslichen Kohlenhydraten, o-Dihydroxyphenolen, GABA, Cystein und Stickstoff festgestellt. Die Untersuchung der Aminosäurespektren von Eschenholz und dem ETS-Erreger zeigte jedoch nur geringfügige Unterschiede zwischen den Pilzhyphen und dem infizierten Holz im Vergleich zum Holz eines unbelasteten Baumes ohne Nekrose.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse, dass es schwierig ist, mithilfe des verwendeten Biomarkerspektrums eindeutige Frühindikatoren für den Gesundheitszustand der Alteschen zu identifizieren. Hinsichtlich des Nachweises von Stammfußnekrosen zeigten sich jedoch vielversprechende Veränderungen des biochemischen Holzzustandes. Parallel wurden die Stammuntersuchungen durch Resistograf-Messungen begleitet, um weitere Informationen zu erhalten. Diese Erkenntnisse könnten insbesondere für die Beurteilung der Standsicherheit der Bäume von größerer praktischer Bedeutung sein.

Um die Zusammenhänge zwischen den biochemischen Inhaltsstoffen, den Boniturparametern und anderen Monitoringparametern zu bestätigen und ein umfassenderes Verständnis für den Infektions- und Vitalitätszustand der Eschen zu gewinnen, sind weitere Forschungen und vertiefende Untersuchungen erforderlich. Durch die Kombination verschiedener Beobachtungsebenen und Analysemethoden kann ein ganzheitlicheres Bild entstehen, das die Komplexität dieses ökologischen Systems besser abbildet.

Die durchgeführten Untersuchungen liefern insgesamt wertvolle Einblicke in die biochemischen Prozesse und Wechselwirkungen bei Eschen und dem Eschentriebsterben. Sie tragen dazu bei, das Verständnis für die Krankheitsentwicklung und die möglichen Ansätze zur Prävention und Behandlung zu erweitern.

Literatur

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner G (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129: 1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Förderkennzeichen: 2219WK20A4

Schwerpunkt Ökologie

Differenzielle Genexpression bei der Gemeinen Esche als Antwort auf das Eschentriebsterben und zur Entwicklung von Resistenzmarkern

Renata Callegari Ferrari[1], Victor Chano[1], Karuna Shrestha[1], Tania Dominguez-Flores[1], Maia Ridley[2], Barbara Fussi[3], Hannes Seidel[3], Franziska Past[4], Ben Bubner[4], Wilfried Steiner[5], Oliver Gailing[1*], Katharina B. Budde[1]

[1]Georg-August-Universität Göttingen, Büsgen-Institut, Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Göttingen

[2]Julius Kühn-Institut, Institut für Waldschutz, Braunschweig

[3]Bayrisches Amt für Waldgenetik, Angewandte Forstgenetische Forschung, Teisendorf

[4]Thünen-Institut für Forstgenetik, Waldsieversdorf

[5]Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Waldgenressourcen, Hann.-Münden

[*]ogailin@gwdg.de

Das Eschentriebsterben, hervorgerufen durch den pathogenen Pilz, Falsches Weißes Stängelbecherchen (*Hymenoscyphus fraxineus*), führt zu einem starken Rückgang der Gemeinen Esche (*Fraxinus excelsior*) in europäischen Wäldern (Pautasso et al. 2013). Der Pilz stammt ursprünglich aus Asien und ist seit den 1990er Jahren in Europa, wo er sich ausgehend von Polen inzwischen weit verbreitet hat. Es wird geschätzt, dass nur etwa 5-8 % der Gemeinen Eschen weniger anfällig gegenüber dem Pathogen sind (Husson et al. 2012; McKinney et al. 2014), dementsprechend hoch ist die Mortalität. Zahlreiche Studien haben die genetische Variation der Schadresistenz der Eschen untersucht und tatsächlich eine genetische Komponente, d.h. eine moderate Erblichkeit, der Anfälligkeit für das Eschentriebsterben gefunden (McKinney et al. 2012; Lobo et al. 2014; Munõz et al. 2016). Die Erblichkeit ist eine wichtige Voraussetzung für eine mögliche Evolution zu weniger Anfälligkeit der Gemeinen Esche gegenüber dem Pathogen.

Aufgrund der hohen wirtschaftlichen und kulturellen Bedeutung der Gemeinen Esche, werden in der Initiative „FraxForFuture“ verstärkte Anstrengungen zur Erforschung der Krankheit unternommen, mit dem Ziel diese einzudämmen (Langer et al. 2022). Im Rahmen dieses Projekts untersuchen wir die differenzielle Genexpression als Reaktion auf das Eschentriebsterben bei unterschiedlich anfälligen Eschengenotypen unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer.

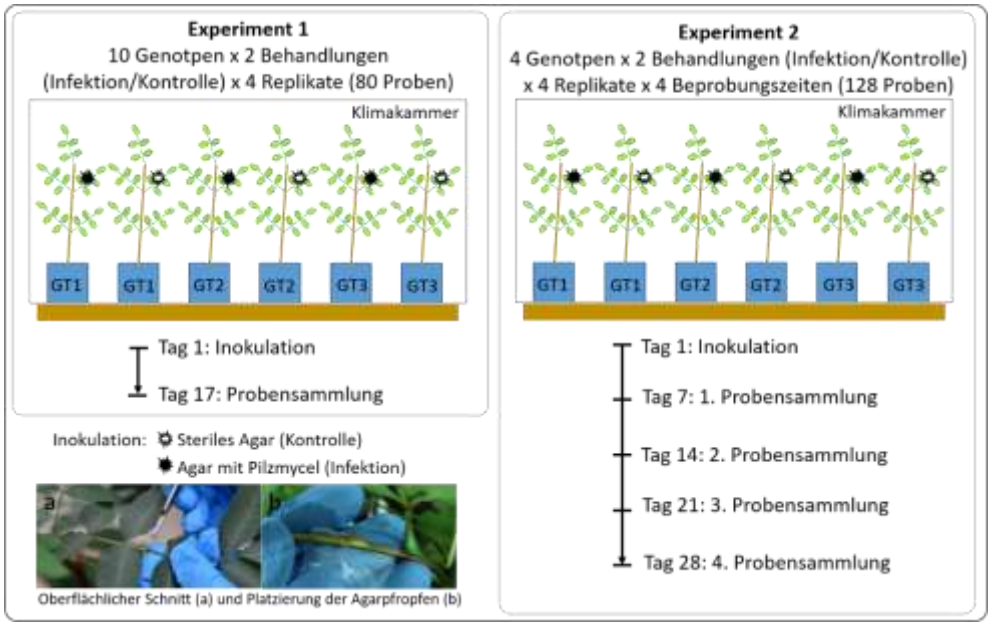

Abbildung 1: Schematische Übersicht der zwei Experimente zur Genexpression bei verschiedenen Eschengenotypen(GT) nach Inokulation mit *Hymenoscyphus fraxineus*, die in Klimakammern durchgeführt wurden. Experiment 1 (links): Vergleich der Genexpression bei 10 Eschengenotypen (5 stark anfällige und 5 wenig anfällige) 17 Tage nach Inokulation. Experiment 2 (rechts): Zeitlicher Verlauf der Genexpression 7, 14, 21 und 28 Tage nach der Inokulation.

Zunächst wurden besonders stark und schwach anfällige Genotypen der Gemeinen Esche aus klonalen Anpflanzungen in Bayern ausgewählt, basierend auf der Skala der Kronenschäden nach McKinney et al. (2011). Zusätzlich wurden weitere Eschen in natürlichen Populationen aus Mecklenburg-Vorpommern nach einer im Verbundprojekt entwickelten standardisierten Methode identifiziert (Peters et al. 2021). Insgesamt zehn Genotypen (fünf stark anfällige und fünf wenig anfällige) wurden durch Pfropfung vegetativ vermehrt, zwei Jahre lang unter Gewächshausbedingungen kultiviert und dann einen Monat lang in Klimakammern akklimatisiert, bevor kontrollierte Inokulationsversuche durchgeführt wurden. Kulturen des Referenzstammes von *H. fraxineus* mit hoher Pathogenität, der im Rahmen der FraxForFuture-Zusammenarbeit ausgewählt wurde, wurden auf Agarplatten vermehrt und für die Inokulation verwendet. In die Blattstiele wurde oberflächlich eine Wunde von ca. 1 cm Länge geschnitten und Agarpfropfen aufgelegt, die entweder Agar mit dem Erreger oder sterilen Agar enthielten, und mit Parafilm umwickelt, um die Stelle vor Austrocknung zu schützen (Abb. 1a und b). Für die weiteren Analysen wurden einige Tage nach der Inokulation die Blattstiele

beprobt, sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -60 °C aufbewahrt. Der Erfolg der Infektionen wurde durch Transkriptquantifizierung (RT-qPCR) des pilzlichen Haushaltsgens Ubiquition-conjugation enzyme (Stenlid et al. 2017) unter Verwendung eines Schwellenwerts von CT < 30 bewertet. Die Infektion wurde bei allen infizierten Genotypen bestätigt, und wie erwartet nicht bei den Kontrollproben.

Insgesamt wurden zwei Experimente durchgeführt. Bei dem ersten Experiment wurden 17 Tage nach der Inokulation Blattstiele gesammelt, um die Genexpression als Reaktion auf den Pathogen aller 10 Eschengenotypen zu vergleichen. Bei einem zweiten Experiment wurden nur vier ausgewählte Genotypen (2 stark und 2 schwach anfällige) verwendet, um die Genexpression im zeitlichen Verlauf nach 7, 14, 21 und 28 Tagen nach der Inokulation zu untersuchen (Abb. 1).

Anschließend wurde RNS (Ribonukleinsäure) mit dem E.Z.N.A. Plant RNA Kit (omega Bio-Tek) aus allen Blattstielproben extrahiert und die Qualität wurde mit dem Fragment Analyzer (Agilent) überprüft. Anschließend wurden cDNA Libraries mit dem Stranded mRNA Prep Kit (Illumina) erstellt und alle Proben wurden auf einem Novaseq6000 (Illumina) sequenziert (150 bp paired-end Sequenzierung).

Im Juni 2023 haben wir die Sequenzierdaten aller 208 Proben erhalten und führen zurzeit die Datenanalyse durch. Das Ziel dieser Studie ist es, differenziell exprimierte Gene zu identifizieren, die als Antwort auf die Inokulation mit *H. fraxineus* hoch- bzw. herunterreguliert werden. Die auf diese Weise identifizierten Kandidatengene und nahegelegene Regionen (z.B. Promoterregionen) werden dann für die Entwicklung von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) verwendet. Diese SNP-Marker werden mit Hilfe des MassArray Systems (Agena Bioscience) in Proben aus Eschenbeständen aus ganz Deutschland analysiert, um den Informationsgehalt dieser Marker in Bezug auf die Anfälligkeit für das Eschentriebsterben zu validieren.

Literatur

Husson C, Caël O, Grandjean JP, Nageleisen LM, Marçais B (2012): Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. Plant Pathol 61:889-895. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02578.x.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Lobo A, McKinney LV, Hansen JK, Kjaer ED, Nielsen LR (2014): Genetic variation in dieback resistance in *Fraxinus excelsior* confirmed by progeny inoculation assay. For Pathol 29:519-526. https://doi.org/10.1111/efp.12179.

McKinney LV, Nielsen LR, Collinge DB, Thomsen IM, Hansen JK, Kjaer ED (2014): The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long-term solution. Plant Pathol 63:485-499. https://doi.org/10.1111/ppa.12196.

McKinney LV, Thomsen IM, Kjær ED, Nielsen LR (2012): Genetic resistance to *Hymenoscyphus pseudoalbidus* limits fungal growth and symptom occurrence in *Fraxinus excelsior*. For Pathol 42:69-74. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2011.00725.x.

McKinney LV, Nielsen LR, Hansen JK, Kjær ED (2011): Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (Oleraceae) to *Chalara fraxinea* (Ascomycota): an emerging infectious disease. Heredity (Edinb) 106:788–797. https://doi.org/10.1038/hdy.2010.119.

Munõz F, Marçais B, Dufour J, Dowkiw A (2016): Rising out of the Ashes: Additive genetic variation for crown and collar resistance to *Hymenoscyphus fraxineus* in *Fraxinus excelsior*. Phytopathology 106:1535-1543. https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-15-0284-R.

Pautasso M, Aas G, Queloz V, Holdenrieder O (2013): European ash (*Fraxinus excelsior*) dieback – A conservation biology challenge. Biol Conserv 158:37-49. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.08.026.

Peters S, Langer G, Kätzel R (2021): Bonitur geschädigter Eschen im Kontext des Eschentriebsterbens. AFZ-DerWald 12:28-31.

Stenlid J, Elfstrand M, Cleary M, Ihrmark K, Karlsson M, Davydenko K, Brandström Durling M (2017): Genomes of *Hymenoscyphus fraxineus* and *Hymenoscyphus albidus* encode surprisingly large cell wall degrading potential, balancing saprotrophic and necrotrophic signatures. Balt For 23:41-51.

Förderkennzeichen: 2219WK21F4

Schwerpunkt Ökologie

Vollgeschwisteranalysen von Eschen Plusbäumen zur Aufklärung der genetischen Grundlagen von Unterschieden im Eschentriebsterben

Melina Krautwurst [1*], Franziska Past [2], Ben Bubner [2], Niels Müller [1*]

[1]Thünen-Institut für Forstgenetik, Genomforschung, Großhansdorf,
[2]Thünen-Institut für Forstgenetik, Resistenzforschung, Waldsieversdorf
[*]melina.krautwurst@thuenen.de, niels.mueller@thuenen.de

Bestände der Gemeinen Esche (*Fraxinus excelsior*) werden in ganz Europa massiv durch das Eschentriebsterben (ETS) geschädigt. Dieses wird durch den eingeschleppten Pilz *Hymenoscyphus fraxineus* verursacht und führt zum Absterben von mehr als 90 % aller Bäume. Allerdings konnten verschiedene Studien zeigen, dass ein bedeutender Teil der Variation in der Anfälligkeit bzw. Toleranz gegenüber der Krankheit genetisch bedingt ist (Plumb et al. 2020; Harper et al. 2016; Enderle et al. 2015; Lobo et al. 2015; McKinney et al. 2014). Diese natürliche genetische Variation könnte durch natürliche Auslese, aber auch durch gezielte künstliche Selektion im Rahmen von Züchtungsprogrammen, zum Erhalt der Esche als Wirtschaftsbaumart beitragen.

Wir untersuchen deswegen die genetischen Grundlagen der natürlichen Variation in der Anfälligkeit der Esche gegenüber dem Eschentriebsterben. Eine solche Untersuchung kann durch eine Kreuzung von zwei Bäumen und einer Analyse der daraus resultierenden Nachkommen erfolgen. In einer so genannten Quantitative Trait Locus oder kurz QTL-Analyse werden die Phänotypen der Nachkommen (Anfälligkeit gegenüber ETS) mit deren Genotypen (über das Genom verteilte natürliche Sequenzvarianten) assoziiert. Damit werden genomische Bereiche identifiziert, die für Unterschiede im Phänotyp verantwortlich sind (Laoué et al. 2022; Torello Marinoni et al. 2018; Müller et al. 2023). Diese Bereiche können anschließend genauer charakterisiert werden, um mögliche beteiligte Gene und biologische Prozesse aufzudecken und damit zu einem besseren Verständnis der phänotypischen Unterschiede beizutragen.

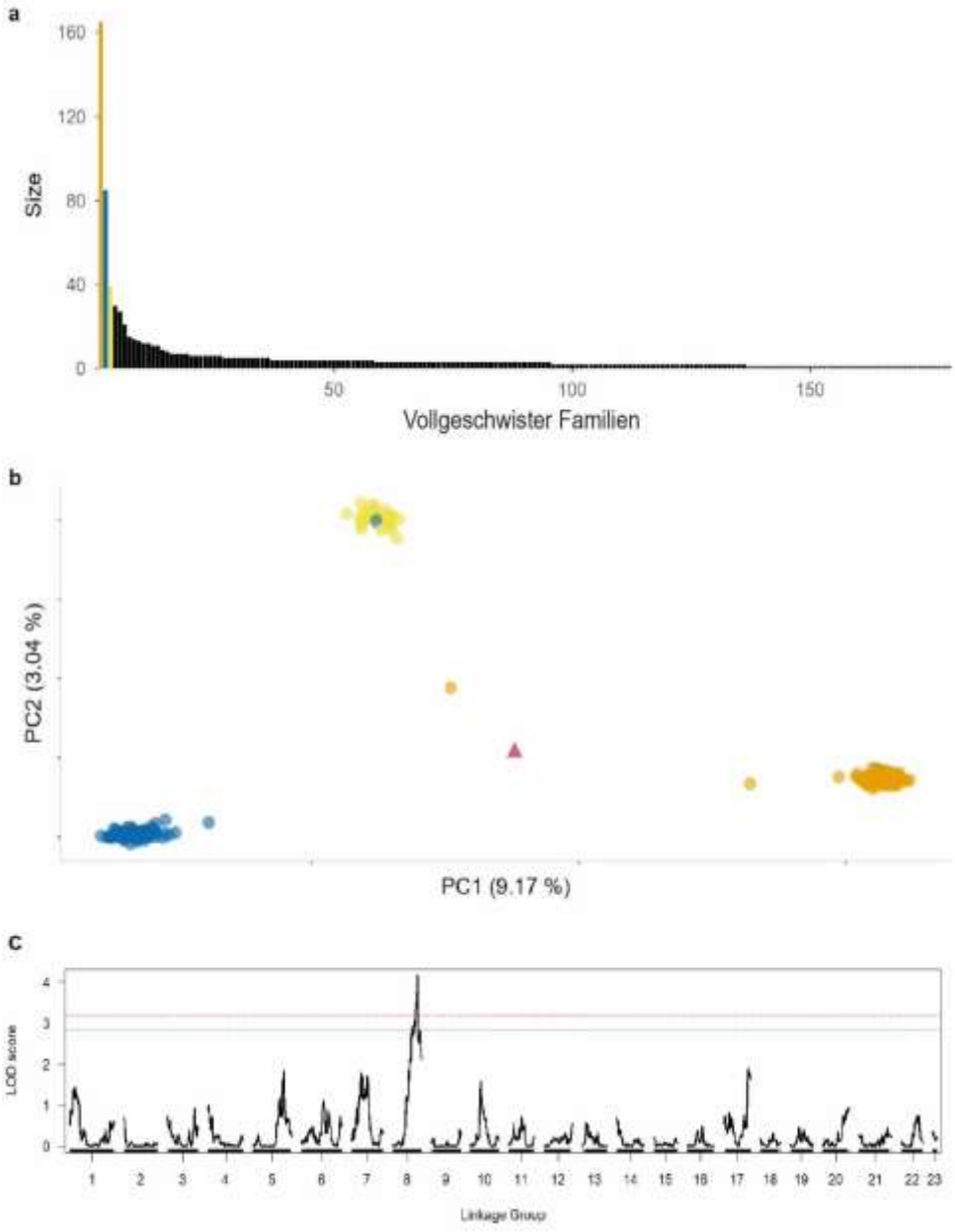

Abbildung 1: Vollgeschwister Identifikation mit SSR- und SNP Markern und QTL-Analyse für Unterschiede im Eschentriebsterben. (**a**) Das Balkendiagramm zeigt die mit SSR Markern bestimmten Familien und die jeweilige Größe dieser Familien. Die drei ausgewählten Familien mit einer Größe von über 30 Individuen wurden farbig markiert. (**b**) Die Principal Component-Analyse (PCA) zeigt die Ergebnisse der SNP Marker (5,87 Millionen SNPs), die Färbung der Kreise spiegelt die Ergbnisse der SSR Marker wider. Das rote Dreieck repräsentiert den Mutterbaum. (**c**) QTL-Analyse für Eschentriebsterben zeigt eine signifikante Genotyp-Phänotyp Assoziation auf der Kopplungsgruppe (Linkage Group) 8 basierend auf 2599 SNP Markern. Dieser Bereich scheint für die Unterschiede in der Bildung von Nekrosen von Bedeutung zu sein.

Bei Bäumen stellen kontrollierte Kreuzungen eine besondere Herausforderung dar, weil Waldbaumarten oft mehrere Jahrzehnte bis zur ersten Blüte benötigen und die Blüten sich in großer Höhe befinden. Eine elegante Lösung dieses Problems bietet die als „Breeding-without-breeding“ bekannte Methode (El-Kassaby et al. 2011; Lstibůrek et al. 2015). Hierbei erfolgt die Bestäubung der weiblichen Blüten offen im natürlichen Bestand. Durch eine Beerntung von Einzelbäumen erhält man Halbgeschwisterfamilien mit bekannter Mutter aber unbekannten Vätern. Durch Genotypisierung dieser Familien mit genetischen Markern können die Nachkommen den verschiedenen unbekannten Vätern zugeordnet werden.

Wir haben diese Methode in vier Einzelbaumnachkommenschaften von potenziell toleranten Eschenmutterbäumen aus Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt. Von jeder Nachkommenschaft wurden 1.000 Keimlinge mit acht Mikrosatelliten (SSR)-Markern genotypisiert und jeweils mehr als 100 mögliche Väter identifiziert (Abb. 1a). Allerdings zeigen alle vier Nachkommenschaften einige wenige dominante Väter, die einen Großteil der Nachkommen erzeugt haben. So konnten insgesamt fünf Vollgeschwisterfamilien (vergleichbar mit Nachkommen aus kontrollierten Kreuzungen) mit mehr als 910 Individuen extrahiert werden. Diese setzen sich aus 80 - 212 Individuen zusammen. Alle Vollgeschwisterfamilien wurden mithilfe von Illumina-Sequenzierung genomweit charakterisiert und auf einer Versuchsfläche in Brandenburg ausgepflanzt. Dort werden die Pflanzen auf ETS-Symptome sowie weitere Merkmale untersucht.

Mithilfe der genomweiten Charakterisierung der Familien konnten wir eine Analyse von allgemeinen genetischen Strukturen durchführen. Während die Zuordnung durch die SSR-Marker bei zwei Nachkommenschaften exakt mit den genomweiten Mustern übereinstimmte (Abb. 1b), gab es bei den anderen zwei Nachkommenschaften Abweichungen. Dies verdeutlicht die Wichtigkeit der Validierung von Ergebnissen, die nur auf einer kleinen Anzahl von genetischen Markern basieren. Gleichzeitig zeigt unsere Analyse das grundsätzliche Potential von Breeding-without-breeding bei der Esche. Zusätzlich zu den allgemeinen genetischen Strukturen wurde mithilfe der genomweiten Daten eine genetische Karte erstellt. Hierbei werden die genetischen Marker entsprechend ihrer Kopplung den 23 Chromosomen der Esche zugeordnet. Eine QTL-Analyse mit dieser genetischen Karte und dem Merkmal ETS Nekrosen zeigte bereits jetzt im frühen Stadium der Erkrankung einen signifikanten Locus auf Kopplungsgruppe 8 (Abb. 1c). Im weiteren Krankheitsverlauf werden zusätzliche genomische Regionen mit einem Einfluss auf die Anfälligkeit gegenüber dem Eschentriebsterben identifiziert werden.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse das Potential von Breeding-without-breeding in auskreuzenden Waldbaumarten. Mithilfe der Genotypsieriung von

Einzelbaumnachkommenschaften können Vollgeschwisterfamilien für genetische Analysen wie das QTL-Mapping extrahiert werden. Hochauflösende genetische Charakterisierungen über Methoden der Komplettgenomsequenzierung erlauben zusätzlich detaillierte Untersuchungen zur genetischen Struktur und zur Anordnung der Marker auf den Chromosomen. Damit können genomische Bereiche identifiziert werden, die eine Rolle für relevante Merkmale wie Anfälligkeitsunterschiede gegenüber Krankheiten spielen. Diese Informationen können dazu genutzt werden, Prozesse der natürlichen Selektion und Anpassung von Waldökosystemen besser zu verstehen, aber auch um Züchtungsprogramme effizienter zu gestalten. Schlussendlich sollen unsere Ergebnisse einen Beitrag leisten, die Esche als Wirtschaftsbaumart zu erhalten.

Literatur

El-Kassaby, Yousry A.; Cappa, Eduardo P.; Liewlaksaneeyanawin, Cherdsak; Klápště, Jaroslav; Lstibůrek, Milan (2011): Breeding without breeding: is a complete pedigree necessary for efficient breeding? In: PLOS ONE 6 (10), e25737. DOI: 10.1371/journal.pone.0025737.

Enderle R, Nakou A, Thomas K, Metzler B (2015): Susceptibility of autochthonous German *Fraxinus excelsior* clones to *Hymenoscyphus pseudoalbidus* is genetically determined. In: Annals of Forest Science 72 (2):183-193. DOI: 10.1007/s13595-014-0413-1.

Harper AL, McKinney LV, Nielsen LR, Havlickova L, Li Y, Trick M et al. (2016): Molecular markers for tolerance of European ash (*Fraxinus excelsior*) to dieback disease identified using Associative Transcriptomics. Sci Rep 6 (1):19335. DOI: 10.1038/srep19335.

Laoué J, Depardieu C, Gérardi S, Lamothe M, Bomal C, Azaiez A et al. (2022): Combining QTL mapping and transcriptomics to decipher the genetic architecture of phenolic compounds metabolism in a conifer. DOI: 10.22541/au.164864991.13986386/v1.

Lobo A, McKinney LV, Hansen JK, Kjaer ED, Nielsen LR (2015): Genetic variation in dieback resistance in *Fraxinus excelsior* confirmed by progeny inoculation assay. In: For. Path. 45 (5):379-387. DOI: 10.1111/efp.12179.

Lstibůrek M, Hodge GR, Lachout P (2015): Uncovering genetic information from commercial forest plantations—making up for lost time using “Breeding without Breeding”. Tree Genetics & Genomes 11 (3):1-12. DOI: 10.1007/s11295-015-0881-y.

McKinney LV, Nielsen LR, Collinge DB, Thomsen IM, Hansen JK, Kjaer ED (2014): The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long-term solution. Plant Pathol 63 (3):485-499. DOI: 10.1111/ppa.12196.

Müller M, Kües U, Budde KB, Gailing O (2023): Applying molecular and genetic methods to trees and their fungal communities. Appl Microbiol Biotechnol 107 (9):2783-2830. DOI: 10.1007/s00253-023-12480-w.

Plumb WJ, Coker TLR, Stocks JJ, Woodcock P, Quine CP, Nemesio-Gorriz M et al. (2020): The viability of a breeding programme for ash in the British Isles in the face of ash dieback. Plants, People, Planet 2 (1):29-40. DOI: 10.1002/ppp3.10060.

Torello Marinoni D, Valentini N, Portis E, Acquadro A, Beltramo C, Mehlenbacher SA et al. (2018): High density SNP mapping and QTL analysis for time of leaf budburst in *Corylus avellana* L. PLOS ONE 13 (4), e0195408. DOI: 10.1371/journal.pone.0195408.

Förderkennzeichen: 2219WK21A4

Schwerpunkt Ökologie

Virusvielfalt in Eschen

Marius Rehanek*, Rim Al Kubrusli, Hector Fernandez, Susanne von Bargen, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Thaer-Institut, Berlin
*rehanekm@hu-berlin.de

Im Rahmen des großen Forschungsprogramms zum Eschentriebsterben, das sich in Europa in den letzten Jahren zu einer ernsten Bedrohung für Bestände der Gemeinen Esche (*Fraxinus excelsior*) entwickelt hat, wird der Pilz *Hymenoscyphus fraxineus*, unter anderem im Demonstrationsprojekt FraxForFuture, intensiv erforscht (Langer et al. 2022). Wechselwirkungen mit anderen biotischen und abiotischen Schadfaktoren an der Esche sind wenig untersucht. Pflanzenviren nehmen hierbei als prädisponierender und begleitender Faktor eine besondere Rolle ein. Aus bisherigen Befunden nehmen wir an, dass die Viren in den Eschen weiter verbreitet sind als früher vermutet. Sie können den Gesundheitszustand der Eschen maßgeblich mit beeinflussen, eine kurative Bekämpfung ist jedoch nicht möglich. So können Viren auch im Forst sowohl wirtschaftliche als auch ökologische Verluste verursachen (Büttner et al. 2023). Moderne diagnostische Verfahren belegen die Diversität und weite Verbreitung von Viren und liefern Grundlagen für die Studien zur Bedeutung und den potenziellen Möglichkeiten der Kontrolle. Um eine Bestandsaufnahme der Virusvielfalt und Untersuchungen zu deren Bedeutung und Übertragung vorzunehmen, wurde der Projektverbund FraxVir gestartet.

An fünf Eschenstandorten in verschiedenen Regionen Deutschlands, darunter zwei Intensivbeobachtungsflächen (IBF) aus FraxForFuture (BB 1–Stegelitz/Melzower Forst und BY 1–Monheim/Kaisheim), zwei Samenplantagen (Emmendingen und Schorndorf) und einem Klonarchiv (Grabenstätt) erfolgten visuelle Bonituren und Probenahmen. Blattmaterial mit Symptomen, die wir als charakteristisch für Viren einstufen und solche, die verdächtig aussahen, wurde gesammelt. Mittels molekularer Methoden wie der Hochdurchsatzsequenzierung (HTS) und der RT-PCR wurden die Proben auf fünf unterschiedliche Viren untersucht. Dazu zählen altbekannte Viren wie die Nepoviren cherry leaf roll virus (CLRV) und arabis mosaic virus (ArMV), sowie in der Esche erst kürzlich identifizierte Viren wie das Ideovirus privet leaf blotch-associated virus (PrLBaV), das Emaravirus ash shoestring-associated virus (ASaV) (Gaskin et al. 2021) und Viren aus der Gruppe der Cytorhabdoviren. Zur Untersuchung der Virusweitergabe wurden Mutterbaum- und

Naturverjüngungsbestände einbezogen und Eschensamen sowie Sämlinge auf die Viren getestet.

An den bonitierten Eschen wurden virusverdächtige Symptome wie Deformationen in Verbindung mit chlorotischen Ringflecken, Scheckungen, Adernvergilbungen und Fadenblättrigkeit beobachtet (Abb. 1a und 1b). Außerdem wurde Blattmaterial von Eschen mit unspezifischen Symptomen (Abb. 1c) und Blattmaterial ohne Symptome untersucht.

Abbildung 1: Beobachtete Blattsymptome an Eschen der Untersuchungsstandorte. (a) ASaV-typische chlorotische Ringflecken und Deformationen an einem Sämling des Melzower Forsts, (b) virusverdächtige chlorotische Linienmuster an einer Jungesche am Standort Kaisheim, (c) unspezifische chlorotische Läsionen an einer Esche in der Samenplantage Emmendingen.

An allen Standorten konnten Viren mit Hilfe RT-PCR basierter Nachweismethoden detektiert werden. Die detektierten Viren gehören zu unterschiedlichen Familien. Am Standort Melzower Forst konnte eine weite Verbreitung des neuartigen Emaravirus ASaV detektiert werden. ASaV ist mit spezifischen Blattsymptomen assoziiert und lässt sich somit von anderen Krankheitserregern abgrenzen. ASaV konnte auch in Jungeschen am Mutterbaumbestand Kaisheim in Sämlingen und Jungeschen mit typischen Symptomen detektiert werden. Für einige Jungeschen konnten Doppelinfektionen aus PrLBaV und einem neuen Cytorhabdovirus (n=2) sowie PrLBaV und ASaV (n=1) nachgewiesen werden. Für einen weiteren Baum konnte eine Dreifachinfektion aus PrLBaV, ASaV und einem Cytorhabdovirus detektiert werden. Cytorhabdoviren konnten an allen untersuchten Standorten detektiert werden, wobei der Virusnachweis bisher nicht mit makroskopisch sichtbaren typischen Symptomen in Verbindung gebracht werden kann. Cytorhabdoviren konnten sowohl in Blatt- und Blütenproben als auch in Früchten nachgewiesen werden. In Früchten konnte neben den Cytorhabdoviren auch das PrLBaV detektiert werden. Für die HTS wurden Probenpools für die verschiedenen Standorte gebildet und entsprechendes Blattmaterial aufgearbeitet. Die Analysen zum Vorkommen der bereits bekannten fünf Viren ergaben, dass im Probenpool aus

Emmendingen die cytorhabdoviralen Sequenzsignaturen bestätigt werden konnten. Die festgestellte Sequenzvariabilität der Cytorhabdoviren erfordert weitere Analysen, ob es sich um Virusvarianten oder mehrere verwandte Cytorhabdoviren in den Eschenbeständen handelt. Weitere Screening Ergebnisse aus den ersten beiden Versuchsjahren werden vorgestellt und diskutiert.

Literatur

Büttner C, Landgraf M, Fernandez H, von Bargen S, Bandte M (2022): Virus Diseases of Forest and Urban Trees. In: Asiegbu FO, Kovalchuk A Forest Microbiology - Tree Diseases and Pests, Vol. 3, Elsevier, Amsterdam, ISBN 9780443186943. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18694-3.00011-0.

Gaskin TR, Tischendorf M, Günther I, Rehanek M, Büttner C, von Bargen S (2021): Characterization of a novel Emaravirus affecting ash species (*Fraxinus* spp.) in Europe. Forests 12:1-21, doi:10.3390/f12111574.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner G (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Förderkennzeichen: 2220WK40B4

Schwerpunkt Ökologie

Infection experiments to determine virulence differences in *Hymenoscyphus fraxineus*, the causative agent of ash dieback

Maia Ridley*, Rasmus Enderle

Julius Kühn-Institut, Institut für Waldschutz, Braunschweig
*maia.ridley@julius-kuehn.de

The causal agent of ash dieback, *Hymenoscyphus fraxineus* [synonym: *H. pseudoalbidus*], is responsible for significant damages on European ash (*Fraxinus excelsior*). This fungal species is native to East Asia, but it was accidentally introduced into Europe and first detected in Germany in 2007. In previous infection trials large differences in the virulence between isolates have been observed, despite the genetic bottleneck associated with its introduction into Europe. Understanding the cause of these differences, where this host-pathogen interaction has no shared evolutionary history, may be important for developing long-term strategies for the conservation of ash populations in Europe.

In response to the disease, within the FraxPath sub-network, we are investigating pathogen virulence using a combination of infection trials and microsatellite analysis. Initially, we assessed the impact of amended culture media and host reintroductions on *H. fraxineus* virulence. We hypothesised *in-vitro* methods could be optimised for maintaining and rejuvenating strains collections, as well as establishing reference strains to be used between experiments and in long-term studies of the pathogen. We also tested the impact of stem vs petiole inoculation protocols on the variation in disease development *in-planta*. We hypothesised that the use of different inoculation protocols could influence observed symptom development *in-planta* and the subsequent determination of strain virulence, as well as the accurate assessment of host tree resistance to the ash dieback pathogen.

In collaboration with our FraxForFuture project partners, we have also isolated over 150 strains of *H. fraxineus* from across Germany since 2020. We established a large infection trial to assess the variation in virulence for a large selection of these *H. fraxineus* strains following petiole inoculations. We are also evaluating genetic population structure with over 200 isolated strains, using 24 primer pairs for microsatellite analysis. We will assess the observed variation with regards to *in-planta* symptom development, geographical origin and starting substrate (leaves, shoots, stem base) of the strains.

Finally, we are evaluating the impact of the fungal endophytes on the disease development in saplings infected with *H. fraxineus* strains. We are also assessing the efficacy of priming saplings with a *H. fraxineus* strain known to cause no or only mild symptoms in *F. excelsior* saplings. We hypothesise that interactions with an antagonising endophyte or a less virulent *H. fraxineus* strain could reduce severe symptoms in saplings typically associated with an infection in saplings by virulent *H. fraxineus* strains.

Overall, these experiments will provide important insights into the pathogen's evolution and disease development *in-planta*, which will inform future *in-vitro* infection studies. We expect these results will, in turn, facilitate the development of improved strategies for forest health and disease management.

Förderkennzeichen: 2219WK22B4

Schwerpunkt Ökologie

Optimierung des Mikrobioms der Esche zur Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegenüber *Hymenoscyphus fraxineus*

Valentin Burghard[1, 2], Andreas Ulrich[1*]

[1]Leibniz Zentrum für Agrarlandschaftsforschung (ZALF), Mikrobielle Biogeochemie, Müncheberg, Germany

[2]Humboldt Universität zu Berlin, Thaer-Institut, Berlin, Deutschland

[*]Andreas.Ulrich@zalf.de

Durch Mikroorganismen verursachte Pflanzenkrankheiten stellen eine große Bedrohung für die land- und forstwirtschaftlichen Ökosysteme und die Pflanzenproduktion dar (Wang et al. 2021). Der Einsatz von Pestiziden kann zu schwerwiegenden Umweltproblemen führen und ist aufgrund der Komplexität speziell in Waldökosystemen nicht möglich (Kaczynski et al. 2021). Hierdurch ist die biologische Kontrolle von Schädlingen in Waldökosystemen von steigendem Interesse. Eine positive Wirkung antagonistischer Bakterien und Pilze bzw. des Mikrobioms auf die Gesundheit der Pflanzen konnte bereits nachgewiesen werden (Raymaeker et al. 2020). Für das in Mitteleuropa massiv auftretende Eschentriebsterben werden verschiedene Formen der Bekämpfung des Erregers *Hymenoscyphus fraxineus* bzw. Erhöhung der Toleranz der Eschen gegenüber dem Erreger erforscht. Eine Möglichkeit der Toleranzerhöhung liegt in der Optimierung des Mikrobioms der Esche durch antagonistische Bakterien und/oder Pilzen (Griffith et al. 2019). Vorherige Untersuchungen über Kultivierung und Sequenzierung (NGS) von Markergenen haben gezeigt, dass es Unterschiede im Mikrobiom gibt und bestimmte Mikroorganismengruppen u. a. der Bakteriengattungen *Luteimonas* und *Aureimonas* häufiger in der Phyllosphäre bzw. in den Blättern toleranter Eschen auftreten (Ulrich et al. 2020). Über ein intensives Screening wurden antagonistische Isolate gewonnen bzw. Stämme, die über eine colonization resistance wirken. Nach weiterer Selektion konnten einige Bakterienstämme und Konsortien als potenzielle biocontrol agents (BCA) klassifiziert werden (Becker et al. 2022; Ulrich et al. 2022).

Mit dem Ziel, die Toleranz junger Eschen gegenüber dem Eschentriebsterben zu erhöhen, haben wir im Freilandversuch untersucht, wie sich die Inokulation mit BCAs auf die Vitalität der Eschen auswirkt. Um die Langfristigkeit der Wirkung besser beurteilen zu können, lag ein weiterer Fokus auf der Untersuchung der Persistenz der inokulierten Bakterien auf den Eschen und wie sie sich langfristig auf

die Zusammensetzung des Eschenmikrobioms auswirken. Zur Messung des Inokulationserfolgs haben wir eine effiziente Methode entwickelt, die durch spezifische Quantifizierung mittels quantitativer PCR die inokulierten Bakterienstämme nachweist. Dafür wurden für vier Bakterienstämme (*Bacillus veleszensis* A4P130, *Luteimonas fraxinea* D4P002, *Aureimonas altamirensis* C2P003, *Schauerella fraxinea* B3P038) jeweils auf der Basis von stammspezifischen DNA-Fragmenten des Genoms Primer-Sonden-Systeme für den qPCR-Nachweis entwickelt und etabliert. In einem Gewächshausversuch konnte gezeigt werden, dass die inokulierten Bakterien auf/in verschiedenen Pflanzenorganen persistent waren.

Im noch laufenden Freilandversuch wurden Eschensämlinge in zehn unterschiedlichen Varianten mit *H. fraxineus* gegenüber antagonistischen Bakterien (Einzelisolate) oder Konsortien inokuliert. In den ersten zwei Versuchsjahren konnte einerseits nur eine kaum nachweisbare Infektion mit *H. fraxineus* gezeigt werden, andererseits auch nur ein vereinzelter Nachweis der Inokulationsstämme. Trotzdem war es möglich, Veränderungen im Mikrobiom der Eschen nachzuweisen. Dies kann ein Hinweis auf eine längerfristige Wirkung der inokulierten Bakterien sein. Im dritten Versuchsjahr wurde der Freilandversuch auf einem feuchteren Standort mit angrenzendem infiziertem Eschenbestand wiederholt. Die Auswertung der Ergebnisse dauert noch an.

Standortfaktoren bzw. (a)biotische Einflussfaktoren sind somit sehr wichtig für die Interaktion des Mikrobioms und der Wirtspflanze. Im Rahmen des Verbundes war es möglich, auf den über ganz Deutschland verteilten IB-Flächen knapp 300 Eschen zu untersuchen und deren bakterielle Mikrobiome anhand der Sequenzierung (NGS) des 16S rRNA Gens zu analysieren. Hierdurch konnten Unterschiede im Mikrobiom in Bezug auf Standort und Genotyp der Eschen identifiziert werden. Durch die Untersuchung verschiedener (a)biotischer Faktoren (u.a. Temperatur, Niederschlag, Genotyp, Bodentyp, Baumartendiversität) ist es möglich den stärksten Einflussfaktor auf das Mikrobiom finden zu können. Die Auswertung dieser Ergebnisse zielt drauf ab, zukünftige Behandlungen der Eschen mit antagonistischen Bakterien, also die biologische Kontrolle des Erregers des Eschentriebsterbens, standortangepasster durchzuführen.

Literatur

Becker R, Ulrich K, Behrendt U, Kube M, Ulrich A (2020): Analyzing ash leaf-colonizing fungal communities for their biological control of *Hymenoscyphus fraxineus*. Front. Microbiol. 11, 590944. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.590944.

Becker R, Ulrich K, Behrendt U, Schneck V, Ulrich A (2022): Genomic characterization of *Aureimonas altamirensis* C2P003-A specific member of the microbiome of *Fraxinus excelsior* trees tolerant to ash dieback. Plants 11, 3487. https://doi.org/10.3390/plants11243487.

Griffiths SM, Galambao M, Rowntree J, Goodhead I, Hall J, O'Brien D, Atkinson N, Antwis RE, Thrall P (2019): Complex associations between cross-kingdom microbial endophytes and host genotype in ash dieback disease dynamics. J. Ecol. 108, 291-309. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13302.

Kaczyński P, Łozowicka B, Perkowski M, Zoń W, Hrynko I, Rutkowska E, Skibko Z (2021): Impact of broad-spectrum pesticides used in the agricultural and forestry sector on the pesticide profile in wild boar, roe deer and deer and risk assessment for venison consumers. Sci. Total Environ. 784, 147215. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147215.

Raymaekers K, Ponet L, Holtappels D, Berckmans B, Cammue BPA (2020): Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management – A review. Biol. Control 144, 104240. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104240.

Ulrich, K., Becker, R., Behrendt, U., Kube, M., Ulrich, A., 2020. A comparative analysis of ash leaf-colonizing bacterial communities identifies putative antagonists of *Hymenoscyphus fraxineus*. Front. Microbiol. 11, 966. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00966.

Ulrich K, Becker R, Behrendt U, Kube M, Schneck V, Ulrich A (2022): Physiological and genomic characterisation of *Luteimonas fraxinea* sp. nov., a bacterial species associated with trees tolerant to ash dieback. Syst. Appl. Microbiol. 45, 126333. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2022.126333.

Wang Y-P, Pan Z-C, Yang L-N, Burdon JJ, Friberg H, Sui Q-j, Zhan J (2021): Optimizing plant disease management in agricultural ecosystems through rational in-crop diversification. Front. Plant Sci. 12, 767209. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.767209.

Förderkennzeichen: 2219WK22I4

Schwerpunkt Ökologie

Bekämpfung des Eschentriebsterbens mit Hilfe hypovirulenter Viren

Tobias Lutz, Birgit Hadeler, Cornelia Heinze*

Universiät Hamburg, Institut für Pflanzenwissenschaften und Mikrobiologie, Hamburg

*cornelia.heinze@uni-hamburg.de

Während der Einsatz von Fungiziden zur gängigen Praxis in Gartenbau und Landwirtschaft gehört, findet dieser durch das breite Wirkspektrum im Ökosystem Wald keine Anwendung. Wie auch für andere Pathogene, fehlen für den invasiven Erreger des Eschentriebsterbens, *Hymenoscyphus fraxineus*, effiziente, spezifische und ökologisch verträgliche Bekämpfungsstrategien. Neben dem Einsatz von resistenten oder toleranten Sämlingen sowie bakteriellen oder pilzlichen Antagonisten wird im Projektverbund „FraxForFuture“ das Potenzial von Viren erforscht, welche auf natürliche Weise in der Lage sind, die Infektiosität des pilzlichen Erregers zu reduzieren. Bestenfalls ist dieser nicht mehr fähig, seinen pflanzlichen Wirt zu schädigen. Mit Hypovirulenz wird die Verringerung der Virulenz durch Virusinfektion bezeichnet. Eine solche Strategie wird in Europa bereits seit Jahren erfolgreich zur Bekämpfung des Kastanienrindenkrebses eingesetzt (Rigling & Prospero 2018). Über Anastomosen wird das Virus Cryphonectria hypovirus 1 (CHV1) auf virusfreie, virulente Stämme übertragen und entfaltet hier seine Wirkung. Durch seine selektive Ausbreitung, die auf die gegebene Art beschränkt ist, gibt es keine negativen Nebeneffekte, wie es bei einem Einsatz von Fungiziden der Fall wäre. Das Virus kann sich sogar selbstständig über Sporen und Anastomosen in der Pilzpopulation verbreiten und damit langfristig wirken. Somit erfüllt dieses System alle Voraussetzungen für die Behandlung einer Pilzerkrankung im sensiblen Ökosystem Wald und kann auch in Kombination mit weiteren Antagonisten für die Bekämpfung des Eschentriebsterbens optimiert werden. Im Gegensatz zu dem bereits etablierten System von CHV1 sind trotz intensiver Suche keine für die praktische Applikation geeignete Viren gefunden worden (Schoebel et al. 2014; Shamsi et al. 2022; Shamsi et al. 2023). Deswegen muss auf wirtsfremde Viren zurückgegriffen werden, um diese artifiziell auf *H. fraxineus* zu übertragen. Hierfür wurde zunächst (i) eine Methode zur Transformation von *H. fraxineus* entwickelt (Lutz et al. 2023a), die nach geringfügiger Adaption für die künstliche Transfektion geeignet ist, und (ii) heimische Viren in verschiedenen Pilzen aus

Sammlungen der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt Göttingen (NW-FVA) und der Universität Braunschweig identifiziert und isoliert. In der Sichtung von 234 Pilzisolaten wurden in acht Proben nutzbare Viren gefunden (Tab. 1). Von diesen wurde das Hymenoscyphus albidus victorivirus 1 (HaVV1) und zusätzlich das bereits bekannte, Hypovirulenz verursachende Virus aus *Fusarium graminearum*, Fusarium graminearum virus China9 (FgV ch9) (Darissa et al. 2012), für Transfektionen ausgewählt. Für beide Virusübertragungen wurden Viruspartikel aus ihren natürlichen Wirten isoliert und auf *H. fraxineus* transfiziert. Subkulturen zeigten mit einem stark reduzierten Wuchs den typischen Phänotyp von Hypovirulenz (Abb. 1) und für FgV ch9 wurde die erfolgreiche Transfektion bereits mittels Reverse Transkriptase PCR bestätigt. Im Rahmen dieses Projekts wurden alle Voraussetzungen geschaffen, um das Eschentriebsterben mit Hilfe von hypovirulenten Viren zu bekämpfen. Welche weiteren Viren der Sammlung ebenfalls einen hypovirulenten Phänotyp nach Transfektion bewirken, welche Ergebnisse der Biotest ergibt und wie die Applikation im letzten Schritt aussehen wird, müssen weitere Versuche zeigen.

Tabelle 1: Probennummer, Wirt und darin gefundene Viren

Probe	Pilz	Virus 1	Virus 2
NW-FVA 1706	*Diplodia fraxini*	DfFGV1[1]	DfPV1[1]
NW-FVA 1581	*Diplodia fraxini*	DfFV1[1]	-
NW-FVA 1829	*Ilyonectria sp.*	IAV1[2]	-
NW-FVA 2572	*Fusarium solani*	FsAV1[3]	-
NW-FVA 3187	*Harzia velata*	Hadakavirus[1]	-
NW-FVA 5852	*Fusarium tricintum*	Totivirus[1]	Chrysovirus[1]
NW-FVA 2590	*Aspergillus pseudoglaucus*	Chrysovirus[1]	-
NW-FVA 1901	*Theleonectria sp.*	TQV1[4]	
090812.3[5]	*Hymenoscyphus albidus*	HaVV1[1]	HfMV1

[1]nicht publiziert, [2]Lutz et al. (2023b), [3]Lutz et al. (2022a); [4]Lutz et al. (2022b); [5]Queloz et al. (2011)

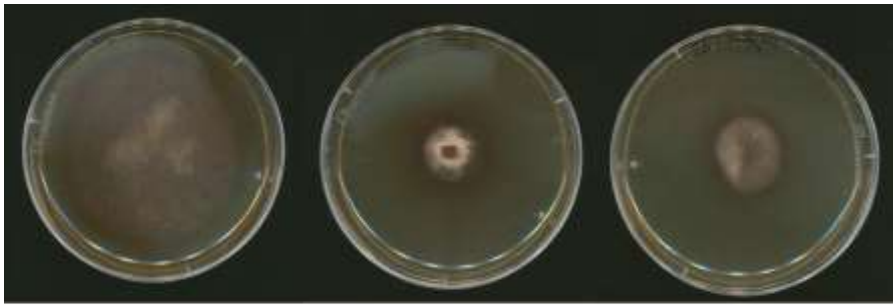

Abbildung 1: Phänotyp von NW-FVA 1856 in der Kontrollreaktion mit H_2O (*Hf* x H_2O). Phänotyp nach Transfektion von NW-FVA 1856 mit FgV-ch9 (*Hf* x FgV-ch9) und HaVV1 (*Hf* x HaVV1).

Literatur

Lutz, T., B. Hadeler, M. Jaeckel, B. Schulz, C. Heinze 2023a: Stable overexpression and targeted gene deletion of the causative agent of ash dieback *Hymenoscyphus fraxineus*. Fungal biology and biotechnology 10 (1), 1, DOI: 10.1186/s40694-023-00149-y.

Lutz, T., E. Japić, S. Bien, G.J. Langer, C. Heinze 2022a: Characterization of a novel alternavirus infecting the fungal pathogen *Fusarium solani*. Virus research 317, 198817, DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198817.

Lutz, T., G. Langer, C. Heinze 2022b: Complete genome sequence of a new quadrivirus infecting a member of the genus *Thelonectria*. Archives of virology 167 (2), 691–694, DOI: 10.1007/s00705-021-05353-y.

Lutz, T., G. Langer, C. Heinze 2023b: Complete genome sequence of a novel alternavirus infecting the fungus *Ilyonectria crassa*. Archives of virology 168 (2), 34, DOI: 10.1007/s00705-022-05652-y.

Queloz, V., C.R. Grünig, R. Berndt, T. Kowalski, T.N. Sieber, O. Holdenrieder 2011: Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. Forest Pathology 41 (2), 133–142, DOI: 10.1111/j.1439-0329.2010.00645.x.

Rigling, D., S. Prospero 2018: *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control. Molecular plant pathology 19 (1), 7–20, DOI: 10.1111/mpp.12542.

Schoebel, C.N., S. Zoller, D. Rigling 2014: Detection and genetic characterisation of a novel mycovirus in *Hymenoscyphus fraxineus*, the causal agent of ash dieback. Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology

and evolutionary genetics in infectious diseases 28, 78–86, DOI: 10.1016/j.meegid.2014.09.001.

Shamsi, W., H. Kondo, S. Ulrich, D. Rigling, S. Prospero 2022: Novel RNA viruses from the native range of *Hymenoscyphus fraxineus*, the causal fungal agent of ash dieback. Virus research 320, 198901, DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198901.

Shamsi, W., J. Mittelstrass, H. Kondo, S. Ulrich, D. Rigling, S. Prospero 2023: Possible biological control of ash dieback using the parasitic Hymenoscyphus fraxineus mitovirus 2?, DOI: 10.1101/2023.03.03.530786.

Förderkennzeichen: 2219WK22G4

Schwerpunkt Ökologie

RNA Interferenz-vermittelte Bekämpfung von *Hymenoscyphus fraxineus*

Linus Hohenwarter*, Gabi Krczal

RLP AgroScience GmbH, Neustadt an der Weinstraße
*linus.hohenwarter@agroscience.rlp.de

Das Eschentriebsterben, ausgelöst durch den Pilz *Hymenoscyphus fraxineus*, hat zu einem extremen Rückgang der Eschenbestände in Europa mit einem Verlust pro Bestand von bis zu 85 % geführt (Coker et al. 2019). Für diese Krankheit gibt es noch keine effektiven Pflanzenschutzmaßnahmen, die eine Infektion stoppen oder vorbeugenden Schutz bieten. Es wird daher untersucht, ob RNA Interferenz (RNAi) als selektive und biologische Bekämpfungsmethode gegen *H. fraxineus* eingesetzt werden kann. RNAi ist ein wirtseigener Mechanismus aller Eukaryoten zur Gen-Regulation, Transposon-Silencing und Virusabwehr. Die Kaskade wird durch eine Doppelstrang-RNA (dsRNA) ausgelöst. Die dsRNA wird durch Dicer-Like-Proteine (DCLs) in kleine interferiende RNA (siRNA) geschnitten. Nach der Inkorporation der siRNA in Argonaute-Proteine (AGO) werden diese an mRNAs mit Sequenz-homologien geleitet und schneiden diese gezielt, so dass keine Translation dieser mRNAs mehr stattfinden kann (Torres-Martínez & Ruiz-Váquez 2017). Die Auswahl eines lebenswichtigen Zielgens im Pathogen als „Target“ für einen mit einer spezifischen siRNA geladenen AGO-Komplex ermöglicht den Einsatz von RNAi als Pflanzenschutzstrategie. Die exogene Applikation einer dsRNA gegen drei Cytochrome P450 Lanosterol C-14 α-Demethylase Gene (CYP51) führte bereits in *Fusarium graminearum* zu einer Hemmung des Wachstums (Koch et al. 2016). Im Gegensatz dazu konnte durch die exogene Applikation einer dsRNA zu dem homologen Zielgen in *H. fraxineus* bisher keine Wachstumsreduzierung festgestellt werden. Die Gründe dafür sind noch unklar. Für die weiteren Untersuchungen wurde als Zielgen eine Polyketid Synthase als phänotypischer Marker ausgewählt. Die stabile Expression eines PKS-Inverted-Repeat-Konstrukt, das zur Bildung einer dsRNA in *H. fraxineus* führt, umgeht das Problem der RNA-Aufnahme und führte zu einem Albino-ähnlichen Phänotyp (Abb. 1).

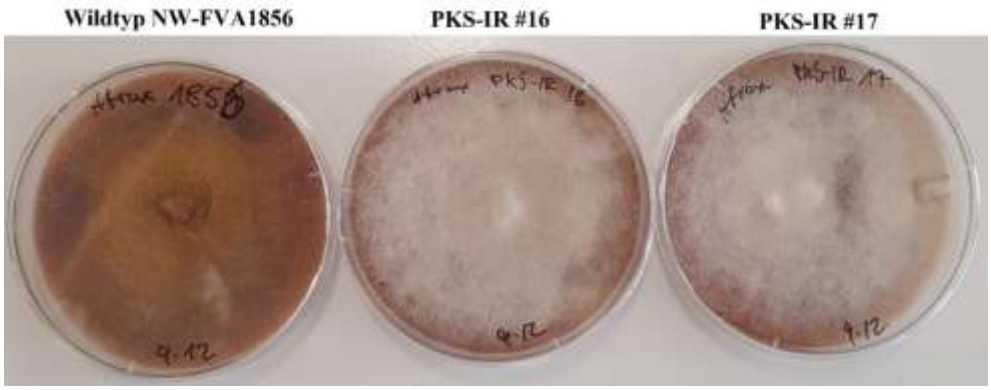

Abbildung 1: Die Expression eines Inverted-Repeat-Konstrukts mit Sequenzhomologie zu einer Polyketid Synthase (PKS) führt in transgenen *Hymenoscyphus fraxineus* Linien zu einem Albino-ähnlichen Phänotyp.

Interessanterweise wurde das PKS-Transkript trotz des Auftretens des zu erwartenden Phänotyps nach einem erfolgreichen „Silencing“ nicht reduziert. Die Sequenzierung der AGO-gebundenen siRNA (TraPR-Kit, Lexogen GmbH) bestätigt die korrekte Prozessierung des Inverted-Repeats, jedoch weisen die vorhandenen siRNA lediglich Sequenzhomologien für den Bereich des Inverted-Repeat auf (Abb. 2). Es hat also keine Amplifizierung des Silencing Signals stattgefunden und möglicherweise hat ein unbekannter Suppressor die Bildung von sekundären siRNAs verhindert. Ähnliches ist bereits bei *Schizosaccharomyces pombe* bekannt (Kowalik et al. 2015).

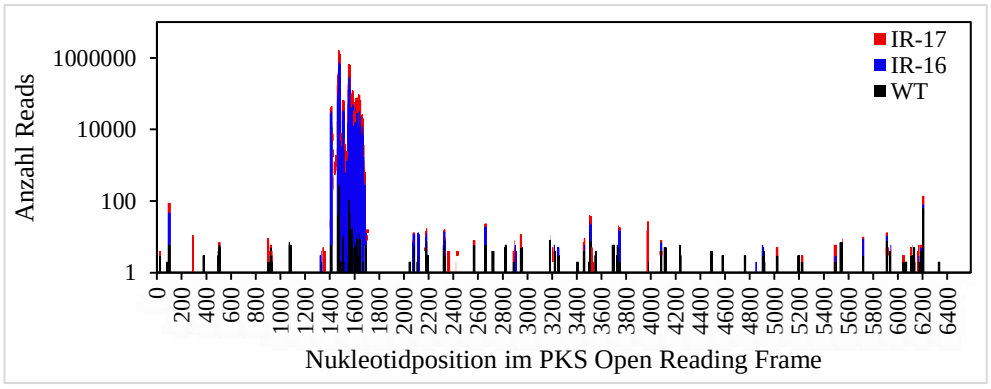

Abbildung 2: Die Sequenzierung der Argonaute Protein (AGO) gebundenen siRNAs zeigt eine Anreicherung der siRNA ausschließlich im Bereich des PKS- Inverted-Repeats (Nukleotid Positionen 1400 – 1686). Dies bestätigt die Prozessierung der dsRNA, die aus der Expression des Inverted-Repeat-Konstrukts resultiert, in kleine siRNA und deren Aufnahme von AGO. Jedoch wurden keine sekundären siRNAs gebildet, möglicherweise wird dies durch einen unbekannten Suppressor verhindert.

Die Aufklärung dieses Mechanismus bei *H. fraxineus* könnte durch die Hemmung des putativen Suppressors zu einer erfolgreichen Bekämpfung von *H. fraxineus* mittels einer RNAi-Strategie führen. Um damit dem Eschentriebsterben effektiv entgegenzuwirken sind Applikationsmethoden notwendig, die einen präventiven Schutz bieten und das Ausbreiten einer akuten Infektion verhindern. Das Besprühen der Blätter einer Esche mit einer dsRNA-haltigen Formulierung bietet potentiellen Schutz vor den luftübertragenen Sporen von *H. fraxineus*. Durch die direkte Injektion einer dsRNA-haltigen Lösung in den Stamm verbreitet sich die dsRNA über das Leitgewebe (Xylem) bis in die Blätter. Dadurch könnte *H. fraxineus* auch in tieferliegendem Gewebe erreicht werden.

Literatur

Coker, TLR, Rozsypálet J, Edwards A, Harwood TP, Butfoy L, Buggs RJA (2019): Estimating mortality rates of European ash (*Fraxinus excelsior*) under the ash dieback (*Hymenoscyphus fraxineus*) epidemic. Plants, People, Planet 1 (1), 48-58, https://doi.org/10.1002/ppp3.11

Koch, A, Biedenkopf D, Furch A, Weber L, Rossbach O, Abdellatef E, Linicus L, Johannsmeier J, Jelonek L, Goesmann A, Cardoza V, McMillan J, Mentzel T, Kogel KH (2016): An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. PLoS Pathogens 12 (10), e1005901, https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005901

Kowalik, KM, Shimada Y, Flury V, Stadler MB, Batki J, Bühler M (2015): The Paf1 complex represses small-RNA-mediated epigenetic gene silencing. Nature 520 (7546), 248-252, https://doi.org/10.1038/nature14337

Torres-Martínez S & Ruiz-Váquez RM (2017): The RNAi universe in fungi: A varied landscape of small RNAs and biological functions. Annual Review of Microbiology 71, 371-391. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093352

Förderkennzeichen: 2219WK22H4

Keynote: Knowledge Transfer

Plants, pathogens, pests and practice: bridging the gap between knowledge and practice

Mariella Marzano*

Forest Research, Northern Research Station, Roslin, EH25 9SY, Scotland
*mariella.marzano@forestresearch.gov.uk

The increased biosecurity threat to trees, woods and forests from pests and pathogens has been strongly linked to the continuing expansion of international trade (e.g. live plants, wood packaging material) and tourism, as well as improvements in modes of transport. Preventing, limiting and/or managing invasions and outbreaks of tree pathogens and pests require actions from a wide range of actors – from growers, traders, transporters and quarantine officers through to sellers, consumers and countryside visitors. Many factors affect the details of individual and collective actions, including stakeholder values, motivations and risk perceptions, as well as the regulative and economic frameworks within which this very wide spectrum of actors operate. Understanding these factors is key to any future attempts to improve biosecurity. As the range and numbers of tree pests and diseases continue to rise globally, there has been an increased interest in understanding human behaviours related to the introduction and spread of these invasive species as well as acceptance of control measures. Biosecurity behaviours in people can depend on their values and beliefs that in turn influence their attitudes towards the risk (of the pest or the management options to control the pest), legitimacy of the management advice and perceived efficacy of the proposed approach to management and control of the pests and diseases. Potential biosecurity responses also depend on the type of pest or disease and the expected level of ecological and financial risk. Social science involvement in forest health can provide important contributions such as understanding the stakeholder landscape, knowledge flows and networks, values and risk perceptions of pest and diseases and motivating factors for better biosecurity behaviours along value chains.

The case of ash dieback (ADB) in Britain will be used to critically reflect on the social dimensions of tree health. Ash trees in many parts of Europe are already under threat from ash dieback (ADB), and the potential introduction of Emerald Ash Borer (*Agrilus planipennis* EAB) may signal the end for European ash. Contingency plans across Europe recognise the need to prepare for the arrival of EAB but surveillance for EAB and management of ash in the context of the already well established ADB

is likely to be much more challenging because of the uncertainties surrounding ADB and EAB interactions. ADB has had devastating effects on ash trees resulting in significant social, economic and ecological impacts. Several ADB related research projects will be introduced to underline the importance of understanding knowledge and awareness and how risk is assessed and informs decision-making. Evidence involves a mix of quantitative and qualitative data drawn largely from surveys and semi-structured interviews with land managers. One project that will be presented aimed to identify key actors and their roles in tree health through a stakeholder mapping and analysis exercise (Dandy et al. 2017). The starting point was to question what it means to have a 'stake' in tree health and the result was a framework for improving our understanding of how outbreaks develop over time and the advantages of developing a typology of roles played by a diverse range of stakeholders as they became more or less involved at different points in the ADB outbreak. The framework also supports recognition of how stakeholder engagement changes over the course of an outbreak, how identification of potential key stakeholder groups may be overlooked or difficult to access, and which stakeholders are likely to be most influential in driving or facilitating behaviour change. Further examples will be provided on how uncertainty around ash dieback progression, mortality rates and hazards associated with trees at different stages of infection can present issues for assessing risk and decision-making (Ambrose-Oji et al. 2019). How land managers and other key actors may react and whether wider society is prepared for the drastic action that will be required for EAB including, potentially, the complete loss of ash requires urgent research. Importantly, experience of ADB is likely to affect land managers perceptions of risk and their decision-making regarding acceptability of management options for ADB and EAB in the future but the values that people hold for ash will also influence how, why and when they will act. These findings are the result of an interdisciplinary project that integrated social research with spatial modelling to represent key surveillance and management strategies (SMARTIES - Forest Research; https://www.forestresearch.gov.uk/research/smarties/). Survey results from the social research revealed that land managers who stated ash trees were personally important to them and expressed concerned that EAB posed a risk to ash across Britain were more likely to participate in surveillance activities. The purpose and location of ash matters and participants who stated that ash trees were important for a 'connection to nature' were less likely to carry out all possible EAB management options. Interviews revealed strong connections to the remaining ash but there is scepticism around the effectiveness of current measures to manage the spread of EAB and whether it is indeed possible to save the remaining European ash.

Future choices over planting ash are also influenced by options available such as resistant or tolerant ash that can withstand ADB. A number of these options were

explored with forest managers in Britain—from non-native ash to the use of GM technologies—to identify which were more acceptable and would benefit from further investment (Marzano et al. 2019). There was a strong interest in the concept of resistant ash but a clear mandate that any 'new' varieties should have similar characteristics, retain genetic diversity and be able to withstand future pests such as EAB. At the time of the study there was limited support for planting non-native ash and use of GM methods and greater support for traditional breeding, though views will evolve with experience of ADB and as technologies progress and are tested further. There were also concerns about the time required to produce resistant varieties of ash and a strong need identified for communication and engagement over costs, benefits and impacts as science and policy evolves.

The social dimensions of tree health research over the last decade have covered numerous pests and diseases and host species, a variety of actors and pathways and key themes around knowledge, risk perceptions and risky behaviours, how to achieve a social license to operate (social acceptability), the impact of formal and informal governance and approaches to engagement and communication. Reflections will be provided on future social research needs but also a call for better integration within the social sciences and between social and natural sciences to promote effective interdisciplinary and policy-relevant contributions for better biosecurity and resilient treescapes.

References

Ambrose-Oji B, Stokes J, Jones GD (2019): When the bough breaks: How do local authorities in the UK assess risk and prepare a response to ash dieback? Forests 886; https://doi.org/10.3390/f10100886.

Dandy N, Marzano M, Porth EF, Urquhart J, Potter C (2017): Who has a stake in ash dieback? A conceptual framework for the identification and categorisation of tree health stakeholders. In: Dieback of European Ash (*Fraxinus* spp.). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, pp. 15-26. ISBN: 978-9-157686-96-1.

Forest Research. SMARTIES: Surveillance and MAnagement of multiple Risks to Treescapes: Integrating Epidemiology and Stakeholder behaviour. SMARTIES - Forest Research. Accessed 1st August 2023.

Marzano M, Woodcock P, Quine CP (2019): Dealing with dieback: forest manager attitudes towards developing resistant ash trees in the United Kingdom. Forestry 92 (5): 554–567, https://doi.org/10.1093/forestry/cpz022.

Schwerpunkt Transfer

Analyse der monetären und nicht-monetären Folgen des Eschentriebsterbens und Entwicklung eines Entscheidungsunterstützungssystems für Forstbetriebe

Aaron Westhauser*

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Forstökonomie und Management, Freiburg

*Aaron.Westhauser@forst.bwl.de

Das Eschentriebsterben (ETS) stellt eine existenzbedrohende Erkrankung der Baumart Esche dar. Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung der Esche, aber auch angesichts ihrer vielfältigen ökologischen Eigenschaften verursacht diese Erkrankung enorme wirtschaftliche und gesellschaftliche Schäden. Neben einem anwachsenden Ungleichgewicht bei der Kosten-/Erlössituation der betroffenen Forstbetriebe führt das ETS auch zu einer Reihe nicht-monetärer Folgen. Um einen objektiven Umgang mit den Folgen des ETS auf Forstbetriebsebene zu ermöglichen, steht in diesem Projekt daher die Analyse der sich ergebenden monetären und nicht-monetären Konsequenzen des ETS im Mittelpunkt.

Die Grundlage für die Analyse der monetären Folgen des ETS beruht auf dem Vergleich der Entwicklung von Eschenbeständen mit und ohne Einfluss des ETS. Hierfür wurden auf Basis der Ertragstafeln nach Wimmenauer (1919) und Volquardts (1958) Modellbestände generiert. In Kombination mit einem Mortalitätsmodell (Coker et al. 2019) wurde mithilfe eines waldwachstumskundlichen Simulators die Bestandesentwicklung der Modellbestände über einen Zeitraum von 30 Jahren simuliert. Die Berechnung der Kosten und Erlöse erfolgte mit dem Programm „Holzernte“ der FVA Baden-Württemberg. Anschließend wurden mithilfe des Bewertungsansatzes von Möhring & Rüping (2006) die erntekostenfreien Erlöse der Modellbestände in eine Annuität überführt. Die so berechneten Annuitäten und deren Vergleich zwischen Beständen mit und ohne Einfluss des ETS stellen die abschließende Bewertung der ökonomischen Folgen des ETS auf Betriebsebene dar. Aufbauend auf den Ergebnissen der oben beschriebenen Verfahren wurde ein Entscheidungsunterstützungssystem entwickelt, das betroffenen Betrieben die fallbezogene Einordnung der monetären Folgen des ETS durch die Eingabe betriebsspezifischer Kenngrößen ermöglicht.

Der Fokus des Tools liegt dabei auf der Verarbeitung von jeweils einem Bestand und dessen Entwicklung über einen Zeitraum von 30 Jahren, sowohl mit als auch ohne Einfluss des ETS. Um eine einfache Bedienung zu ermöglichen, wurde das Tool hinsichtlich der Eingabeparameter, bestehend aus dem waldbaulichen Behandlungsszenario, der Bonität in Form der dGz-Stufe und des Vorrats der Baumart Esche pro Hektar, auf die geringste noch notwendige Information vereinfacht. Auf Basis dieser drei Eingangsparameter ermittelt das Programm den Modellbestand, der den eingegebenen Parametern am ehesten entspricht. Die Darstellung der Ergebnisse dieser Abfrage erfolgt jeweils für die Entwicklung mit und ohne Einfluss des ETS und umfasst den jährlichen Holzproduktionswert, die Bestandesentwicklung im Stil einer Ertragstafel sowie zusätzliche Kenngrößen für die Analyse der monetären Folgen des ETS wie die durchschnittlichen Erntekosten oder den erntekostenfreien Erlös des verbleibenden und ausscheidenden Bestandes. Die Funktionsweise des Tools wird in Abb. 1 schematisch dargestellt.

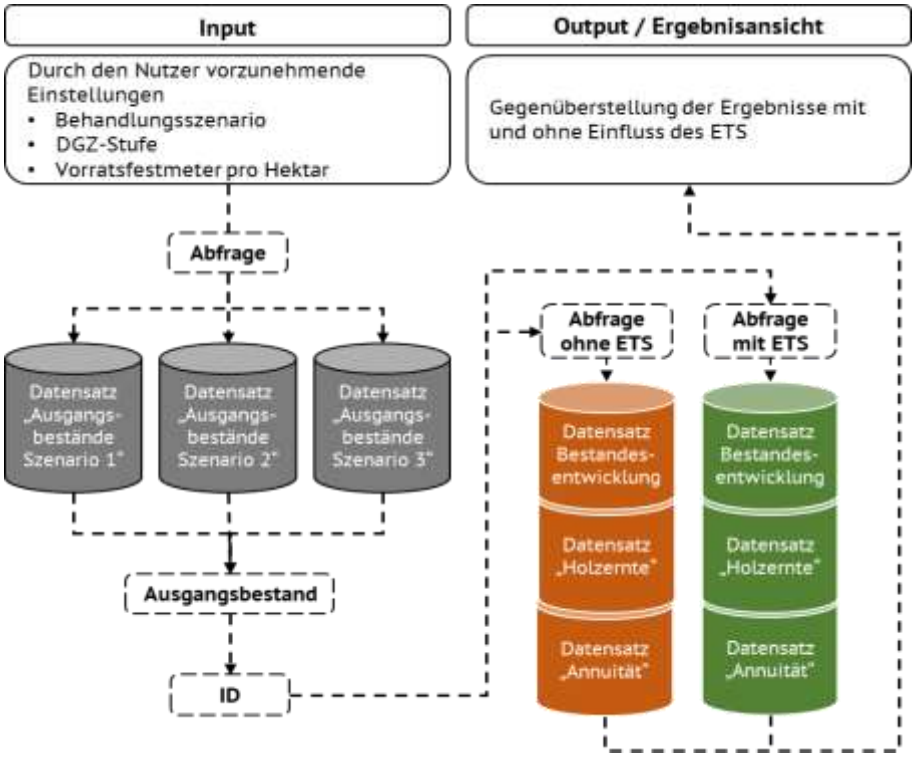

Abbildung 1: Schematischer Aufbau des Tools zur Analyse der monetären Folgen des ETS

Bei der Analyse der nicht-monetären Folgen des ETS war es das Ziel, ein systemanalytisches Tool zu entwickeln, das Forstbetriebe im Umgang mit den Unsicherheiten in Folge des ETS bei langfristigen Entscheidungen unterstützt. Als Bezugsgröße dienen hierbei die Auswirkungen des ETS auf ausgewählte Ökosystemleistungen eines Forstbetriebes, bestehend aus Biodiversität, Bodenschutz, Hochwasserschutz, Klimaanpassung, Kohlenstoff-Produktespeicher, Kohlenstoff-Waldspeicher und Zuwachs.

Die Basis für die Analyse der nicht-monetären Folgen stellt die Referenzpunkt-Methodik nach Estrella et al. (2014) dar. Ein Referenzpunkt ist in diesem Zusammenhang der günstigste für ein Zielkriterium erreichbare Wert, den man auch als „idealen Wert“ beschreiben kann (Knoke & Kienlein 2020). Im vorliegenden Anwendungsfall stellen die oben genannten Ökosystemleistungen die potenziellen Zielkriterien dar. Die vollständige Realisierung einer Ökosystemleistung ergibt demnach den Referenzpunkt bzw. idealen Wert. Betrachtungsgegenstand in Bezug auf die potenziellen Zielkriterien sind die gängigen Bestandestypen bzw. Hauptbaumarten. Auf Basis von Referenztabellen werden hierbei jeder Hauptbaumart und jedem Zielkriterium eine relative Eignung in Prozent zugewiesen.

Für die Ermittlung, zu welchem Anteil die derzeitige Baumartenzusammensetzung eines Betriebes die betrachteten Ökosystemleistungen erfüllt, wurden zusätzlich eine Flächengewichtung der aktuellen Bauartenzusammensetzung sowie unterschiedliche Risikofaktoren in das Tool integriert. Betrachtete Risikofaktoren sind hierbei Sturm, Insekten, Trockenstress und ETS. Vergleichbar mit der Einteilung hinsichtlich ihrer Eignung für die unterschiedlichen Zielkriterien wurden den Hauptbaumarten ein baumartenspezfischer Risikowert in Bezug zu den genannten Risiken zugewiesen. Für die Abbildung der Auswirkungen des ETS auf die Erfüllung der Ökosystemleistungen wurde das Mortalitätsmodell nach Coker et al. (2019) integriert. Durch die Integration des Modells in das Tool lassen sich so die Auswirkungen des ETS auf die Erfüllung der unterschiedlichen Ökosystemleistungen eines Betriebs über einen Zeitraum von 30 Jahren visualisieren und analysieren.

Literatur

Coker TLR, Rozsypálek J, Edwards A, Harwood TP, Butfoy L, Buggs RJA (2019): Estimating mortality rates of European ash (*Fraxinus excelsior*) under the ash dieback (*Hymenoscyphus fraxineus*) epidemic. Plants People Planet 1:48-58. https://doi.org/10.1002/ppp3.11.

Estrella R, Cattrysse D, van Orshoven J (2014): Comparison of three Ideal Point-based multi-criteria decision methods for afforestation planning. Forests 5:3222-3240. https://doi.org/10.3390/f5123222.

Knoke S & Kienlein S (2020): Multifunktionale und robuste forstliche Optimierung. AFZ-Der Wald 75 (14):12-15.

Möhring B & Rüping U (2006): Bewertungskonzept für forstliche Nutzungsbeschränkungen. Schriftenreihe zur Forstökonomie. Band 32. Frankfurt am Main: Sauerländer Verlag.

Volquardts G (1958): Die Esche in Schleswig-Holstein. Dissertation. Universität Göttingen.

Wimmenauer K (1919): Wachstum und Ertrag der Esche. Allg. Forst- u. Jagdzeitung 95: 9-17.

Förderkennzeichen: 2219WK19X4

Schwerpunkt Transfer

Praxisorientierte Handlungsempfehlung zum zukünftigen Umgang mit dem Eschentriebsterben

Feray Steinhart[1*], Aaron Westhauser[2], Johannes Osewold[3], Tim Burzlaff[1], Katharina Mausolf[4], Falk Schrewe[5], Holger Fischer[5], Ralf-Volker Nagel[3]

[1]Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Waldschutz, Freiburg

[2]Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Forstökonomie und Management, Freiburg

[3]Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldwachstum, Göttingen

[4]Institut für Ökosystemforschung, Abteilung Geobotanik, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel

[5]Technische Universität Dresden, Professur für Waldbau, Dresden

[*]Feray.Steinhart@forst.bwl.de

Das Eschentriebsterben (ETS) dominiert seit seinem ersten Auftreten 2002 in Deutschland alle forstwirtschaftlichen Prozesse rund um die Gemeine Esche (*Fraxinus excelsior*). In Folge des nun mehr als 20 Jahre andauernden Befalls von Eschenbeständen in Deutschland ist das Vorkommen der Gemeinen Esche drastisch zurückgegangen. Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung der Esche, aber auch angesichts ihrer vielfältigen ökologischen Eigenschaften, wurde seit Auftreten des ETS in Deutschland und Europa eine Vielzahl unterschiedlicher Handlungsempfehlungen zum Umgang mit den Folgen des ETS veröffentlicht. Im Demonstrationsprojekt „FraxForFuture“ wird zum Erhalt der Esche als Wirtschaftsbaumart geforscht (Langer et al. 2022). Ein fachgebietsübergreifendes Projektziel ist die Formulierung von Empfehlungen zum forstbetrieblichen Umgang mit dem ETS mit starkem Praxisbezug. Für den Transfer in die forstliche Praxis werden die Erkenntnisse dezidiert aufbereitet.

Zu Beginn wurden bisher veröffentlichte Empfehlungen aus verschiedenen Bundesländern systematisch durchgearbeitet und die Inhalte nach Kategorien sortiert. Diese Sammlung wurde erweitert mit Maßnahmen aus England und Schottland. Es zeigte sich, dass derzeit kursierende Handlungsempfehlungen in ihrem Umfang und ihrer wissenschaftlichen Absicherung heterogen, teilweise lückenhaft und nicht widerspruchsfrei sind. In den neu erarbeiteten Empfehlungen sollen noch gültige Maßnahmen übernommen und mit Forschungsergebnissen aus

FraxForFuture und FraDiv (s.u.) erweitert werden. Darüber hinaus erfolgt eine Neubewertung der Empfehlungen nach dem heute vorhandenen Wissen.

Es wurden vier Handlungsfelder identifiziert, auf die sich die Empfehlungen fokussieren: 1) Genetik, 2) Waldbau, 3) Naturschutz und 4) Verkehrs- und Arbeitssicherheit. Im Bereich „Genetik“ soll vermittelt werden, dass die genetische Vielfalt der Gemeinen Esche erhalten bleiben muss. Die Möglichkeiten zur Identifikation weniger anfälliger Eschen werden mit aktuellen Forschungsergebnissen unterlegt. Im Themenfeld „Waldbau“ wird die Strukturvielfalt der Eschenbestände in ihrer ganzen Bandbreite dargestellt. Waldbauliche Empfehlungen werden dabei spezifisch für unterschiedliche Standortsbedingungen, Schädigungsgrade, Bestandestypen, Bestandesalter und Bewirtschaftungsziele formuliert. Die Entscheidungsfindung sollte dabei die ökologischen und ökonomischen Aspekte sowie deren waldbauliche Umsetzung in Einklang bringen. Aufgrund der ökologischen Bedeutung der Esche soll das Themenfeld „Naturschutz“ stärker als zuvor berücksichtigt werden. Die Betonung der Ökosystemfunktionen von Eschen bei der Inwertsetzung von Bäumen und Beständen sollte in der aktuellen Lage ein wichtiges Element in den betrieblichen Überlegungen sein. Auch wenn derartige Leistungen nur selten monetär gemessen werden können, so sollten sie dennoch Orientierung für Maßnahmen liefern. Ein weiterer Schwerpunkt ist die „Verkehrs- und Arbeitssicherheit“. Offensichtlich ist im Rahmen des ETS mit erhöhtem Risiko durch Kronenbrüche und umstürzende Eschen zu rechnen.

Literatur

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—Research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Förderkennzeichen: 2219WK19X4, 2219WK23A4 und 2219WK23B4.

FraDiv wird gefördert im Bundesprogramm Biologische Vielfalt durch das Bundesamt für Naturschutz (BfN) mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz (BMUV) und das Ministerium für Energiewende, Klimaschutz, Umwelt und Natur in Schleswig-Holstein (MEKUN SH) unter dem Fkz 3518685010.

Schwerpunkt Transfer

Eschentriebsterben effizient überwachen – Konzept zur großräumigen Eschenzustandserhebung mit Stereo-Luftbildern

Melanie Kirchhöfer[1*], Valentina Gacitua[1], Facundo Ponce de Léon[2], Philip Beckschäfer[2], Kai Jütte[3], Petra Adler[1]

[1]Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Biometrie und Informatik, Freiburg

[2]Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldschutz, Sachgebiet Fernerkundung und GIS, Göttingen

[3]Landesforst Mecklenburg-Vorpommern, Betriebsteil Forstplanung, Versuchswesen, Informationssysteme, Schwerin

[*]melanie.kirchhoefer@forst.bwl.de

Hintergrund

Seit in den 1990er Jahren erste Symptome des Eschentriebsterbens in Europa entdeckt wurden, hat sich die Krankheit rasant in ganz Europa ausgebreitet und verursacht einen drastischen Rückgang der Esche (Enderle et al. 2019). Um diesen Prozess zu verstehen und zu überwachen, braucht es regelmäßig zuverlässige Daten zu Vorkommen und Zustand von Eschenbeständen. Das Verbundvorhaben FraxMon befasst sich daher innerhalb des Forschungsverbundes FraxForFuture mit der Entwicklung eines Eschen-Monitoringsystems, welches in der Lage ist, großräumig und effizient Informationen zum Zustand der Eschen in Deutschland zu erheben und bereitzustellen. Zur Erfassung des Kronenzustands, einem wichtigen Indikator für die Vitalität der Eschen, bietet die Fernerkundung geeignete Möglichkeiten.

Monitoringkonzept

Im Rahmen von FraxMon wurde ein Konzept entwickelt, das den Aufbau eines fernerkundungsbasierten großräumigen Eschenmonitoringsystems skizziert.

Identifizierung von Eschenvorkommen

Da Eschen in Deutschland als Nebenbaumart selten als große geschlossene Bestände vorkommen (Ebert 2002), steht auf der obersten Ebene des Monitoringkonzepts die Identifizierung von Standorten, auf denen Eschenbestände potentiell vorkommen können. Basierend auf Expertenwissen zu den Standortansprüchen der Esche (siehe Ebert 2002) wurden anhand der Kartierung der (heutigen) potentiellen natürlichen

Vegetation (pnV) in Deutschland (https://www.floraweb.de/lebensgemeinschaften/vegetationskarte.html) Standorte ausgeschlossen, die für Eschen nicht geeignet sind. Diese Ausschlussflächen wurden um Nicht-Waldflächen und um mit Nadelwald (mind. 80 % Nadelholzanteil) bestockte Flächen erweitert. Nur auf den verbliebenen Flächen kann mit nennenswertem Eschenvorkommen gerechnet werden. Um die effektive Monitoringfläche weiter einzuschränken wurde geprüft, inwieweit Sentinel-2-Satellitendaten genutzt werden können, um das tatsächliche Eschenvorkommen zu identifizieren. Verschiedene Modellierungsansätze wurden hierzu evaluiert, Forsteinrichtungsdaten dienten als Referenz. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass derzeit mit den vorhandenen Daten eine großräumige Erfassung des Eschenvorkommens nicht mit ausreichender Verlässlichkeit und Genauigkeit möglich ist.

Stichprobeninventursystem

Da es nicht möglich war, die Monitoringfläche auf konkrete Eschenbestände zu beschränken, wurde beschlossen, das Stichprobeninventursystem zum Eschenmonitoring, an das Stichprobenraster der Bundeswaldinventur (BWI) anzulehnen. Informationen zum Vorkommen von Esche liegen an den BWI-Punkten bereits vor, sodass eine Stichprobe hieraus gezogen werden kann.

Das Monitoring des Kronenzustands der Eschen stützt sich auf Stereo-Luftbilder, die mittels visueller Interpretation unter Verwendung von zwei Interpretationsschlüsseln ausgewertet werden. Die Positionen der Eschen sind durch die BWI bekannt, allerdings müssen die terrestrisch eingemessenen Stammfußpositionen den im Luftbild sichtbaren Kronen zugeordnet werden. Dies kann aufgrund von Ungenauigkeiten in der Ko-Registrierung und bei Schrägwuchs der Bäume erschwert sein.

Interpretationsschlüssel für Stereo-Luftbilder

Zur Aufnahme der Probekreise werden zuerst Eschen von anderen Baumarten unterschieden. Dazu wurde im Projekt ein Luftbildinterpretationsschlüssel zur Identifizierung von Eschen entwickelt. Dieser Schlüssel ist hierarchisch aufgebaut und berücksichtigt die Merkmale Kronenform, Kronenrand, Verzweigungsstruktur und Kronenelemente. Ein zweiter, ebenfalls im Projekt entwickelter Luftbildinterpretationsschlüssel dient zur Einstufung der Kronenverlichtung von Eschen. Dieser wird auf die identifizierten Eschen angewandt. Die sechs Kronenverlichtungsstufen werden in einer mehrstufigen Herangehensweise gutachterlich eingeschätzt (Abb. 1). Dabei werden die Merkmale Kronenrand, Struktur und Totastvorkommen in die Entscheidungsfindung einbezogen.

Abbildung 1: Beispielbilder für die sechs Eschenschadstufen des Luftbildinterpretationsschlüssels mit Kronenverlichtung in Klammern und Auszug aus der Beschreibung der Kronenmerkmale (Fotos: Landesforst Mecklenburg-Vorpommern – AöR).

Ausblick

Die an den Stichprobenpunkten erfasste Eschenvitalität lässt Rückschlüsse auf den Gesamtzustand der Eschen auf einer großen Fläche zu. Über den Aufbau von Zeitreihen bietet das Konzept zur großflächigen Eschenzustandserhebung mit Stereo-Luftbildern eine Möglichkeit, das Fortschreiten des Eschentriebsterbens effizient zu überwachen. Die Verfügbarkeit von Luftbilddaten, die während der Vegetationsperiode aufgenommen wurden, variiert jedoch von Bundesland zu Bundesland, was bei der Implementierung des Systems bedacht werden sollte. Darüber hinaus kann das Konzept auch als Referenz für die Entwicklung von Monitoringsystemen zur Kronenzustandserfassung anderer Baumarten genutzt werden.

Literatur

Ebert H-P (2002): Die Behandlung von nicht häufig vorkommenden Baumarten (Nebenbaumarten). Schriftenreihe der Fachhochschule Rottenburg Nr. 10. Rottenburg am Neckar.

Enderle R, Stenlid J, Vasaitis R (2019): An overview of ash (*Fraxinus* spp.) and the ash dieback disease in Europe. CAB Reviews 2019, 14 (025):1-12. https://doi.org/10.1079/PAVSNNR201914025.

Förderkennzeichen: 2219WK20B4, 2219WK20C4 und 2219WK20F4

Schwerpunkt Transfer

Luftbildbasierte Erfassung der historischen und aktuellen Vitalitätsentwicklung von Eschen – Kronenzustandserfassung in Zeiten des Eschentriebsterbens

Facundo Ponce de Leon[1*], Melanie Kirchhöfer[2], Petra Adler[2], Kai Jütte[3], Philip Beckschäfer[1]

[1] Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldschutz, Sachgebiet Fernerkundung & GIS, Göttingen

[2] Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Biometrie und Informatik, Freiburg

[3] Landesforst Mecklenburg-Vorpommern -Anstalt des öffentlichen Rechts- (LFOA), Betriebsteil Forstplanung, Versuchswesen, Forstliche Informationssysteme, Schwerin

[*]Facundo.Ponce-de-leon@NW-FVA.de

Die Symptome des Eschentriebsterbens (ETS), manifestieren sich u. a. in den strukturellen Merkmalen der Krone. Die Belaubung nimmt ab, die Krone erscheint transparent, der Kronenrand löst sich auf und der Totastanteil erhöht sich. Diese strukturellen Merkmale lassen sich mittels Luftbildauswertung erfassen, sodass anhand historischer und aktueller Luftbilder die Dynamik der Ausbreitung der ETS-Symptome nachvollzogen, sowie die akute Entwicklung überwacht werden kann. Insbesondere die stereoskopische Luftbildauswertung ermöglicht ein detailliertes Kronenzustandsmonitoring. Ein solches Monitoring muss jedoch nach einem standardisierten Verfahren erfolgen und die Eigenschaften der Luftbilddaten berücksichtigen, um qualitativ hochwertige und vergleichbare Daten zu erzeugen. Auf Grundlage zweier neu erarbeiteter Luftbildinterpretationsschlüssel zur Identifikation von Eschen und zur Ansprache des Kronenzustands wurde ein Verfahren entwickelt, das eine Erfassung der ETS-Symptome ermöglicht. Dieses standardisierte Verfahren wurde genutzt, um anhand historischer digitaler Luftbilddaten Zeitreihen zu erstellen und die Entwicklung des Kronenzustands in Raum und Zeit zu analysieren.

Zu diesem Zweck wurden zehn Beobachtungsflächen von je ca. 1 ha Größe mit jeweils mindestens 30 Eschen in verschiedenen Regionen Deutschlands betrachtet (Langer et al. 2022). Von allen zehn Flächen wurden in den Jahren 2021 und 2022 Luftbildaufnahmen mit einer räumlichen Auflösung (ground sampling distance,

GSD) von 10 cm angefertigt. Die Anzahl historischer Luftbilddatensätze, die für jede Fläche zur Verfügung stand, variierte zwischen null und vier. Bei jeder Befliegung wurden die Eschenkronen in einem 3D-System visualisiert, digitalisiert und ihr Kronenzustand bonitiert. Der für die Bonitur verwendete Interpretationsschlüsseln teilt die Eschenkronen in sechs Schadstufen, wobei Stufe 0 einem symptomfreien Baum und Stufe 5 einem abgestorbenen Baum entspricht. Die Bewertung beruht auf der Quantifizierung von drei Eigenschaften der Krone, die in Luftbildern erkennbar sind: die Kontinuität des Kronenrands, die Kronentextur und der relative Anteil an toten oder kahlen Ästen. Parallel dazu wurden in den Jahren 2021 und 2022 bodengestützte Bonitierungen mit einer ebenfalls 6-stufigen Skala durchgeführt.

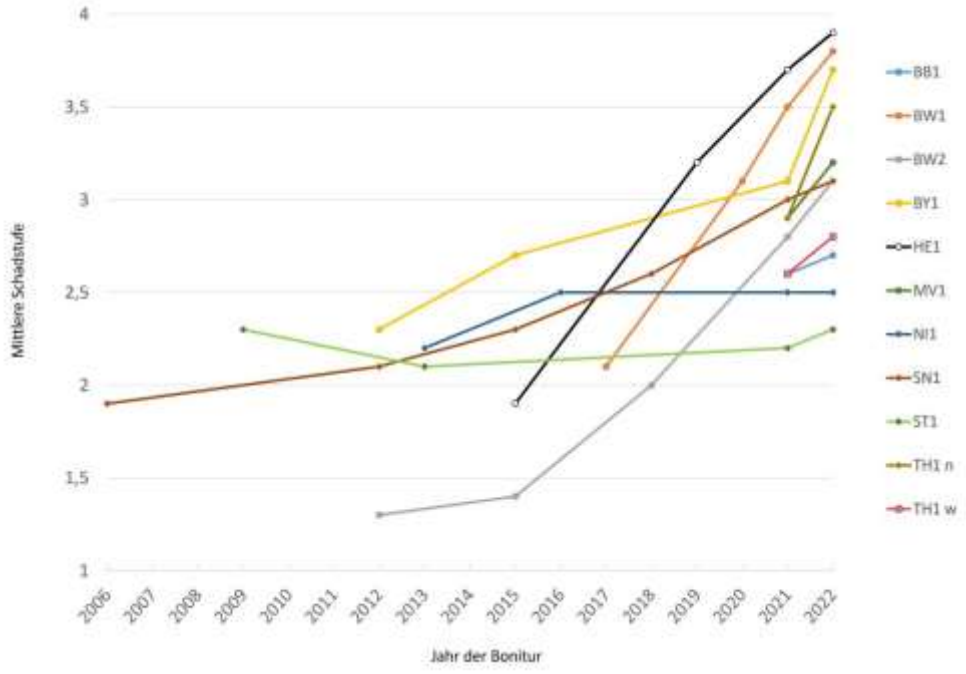

Abbildung 1: ETS-Verlauf auf den Untersuchungsflächen Stegelitz (BB1), Plattenwald (BW1), Weisweil (BW2), Monheim (BY1), Schotten (HE1), Karlsburg (MV1), Mollenfelde (NI1), Leutzsch (SN1), Huy (ST1), Ettersberg Wirtschaftswald (TH1 w), Ettersberg Naturwald (TH1 n). Die Kurven zeigen eine allgemeine Tendenz zur Abnahme der Vitalität der Eschen.

Der zeitliche Verlauf der ETS-Symptome zeigt insgesamt eine klare Tendenz zur Abnahme der Vitalität der Eschen. Die Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufs in den verschiedenen Beobachtungsgebieten ist dabei jedoch unterschiedlich, was durch unterscheidliche Klima-, Waldstruktur- und Standortbedingungen begründet sein könnte. Der Trend ist jedoch in allen Beobachtungsgebieten gleichgerichtet und konstant (Abb. 1).

Auf einer Fläche konnte eine vorübergehende Verbesserung der Entwicklung der ETS-Symptome festgestellt werden (ST1), die möglicherweise mit den Wetterbedingungen im Jahr bzw. im Vorjahr der Bonitierung erklärt werden kann. Diese Verbesserung des Kronenzustands war jedoch nur temporär und bedeut keine langfristige Erholung der Eschen.

Beim Vergleich der luftbildbasierten mit der am Boden durchgeführten Bonitur (Peters et al. 2021) der Kronenzustände der Jahre 2021 und 2022 wurde festgestellt, dass bei der Luftbildbonitur der Vitalitätszustand tendenziell schlechter eingeschätzt wird (Abb. 2). Das liegt zum einen daran, dass die Kriterien, die bei den beiden Beurteilungsarten angewandt werden, zwar große Ähnlichkeiten aufweisen, aber nicht identisch sind. Auch unterscheiden sich die Perspektiven deutlich, aus denen die Beobachtungen gemacht werden. Es kann daher nicht gesagt werden, dass die eine Form der Bonitur zu korrekteren Ergebnissen führt als die andere. Grundsätzlich lässt sich sagen, dass die terrestrische Bonitur die Ansprache von Details erlaubt, die im Luftbild nicht erkennbar sind, während die Stärke der luftbildbasierten Bonitur in der gleichzeitigen Wahrnehmung aller Kronenteile vom selben Ort aus liegt, was einen einzigartigen Überblick über den Kronenzustand des Baumes ermöglicht. Die Bewertung aus der Luft ermöglicht auch den simultanen Vergleich der Zustände verschiedener Kronen in einer Parzelle vom selben Standpunkt aus.

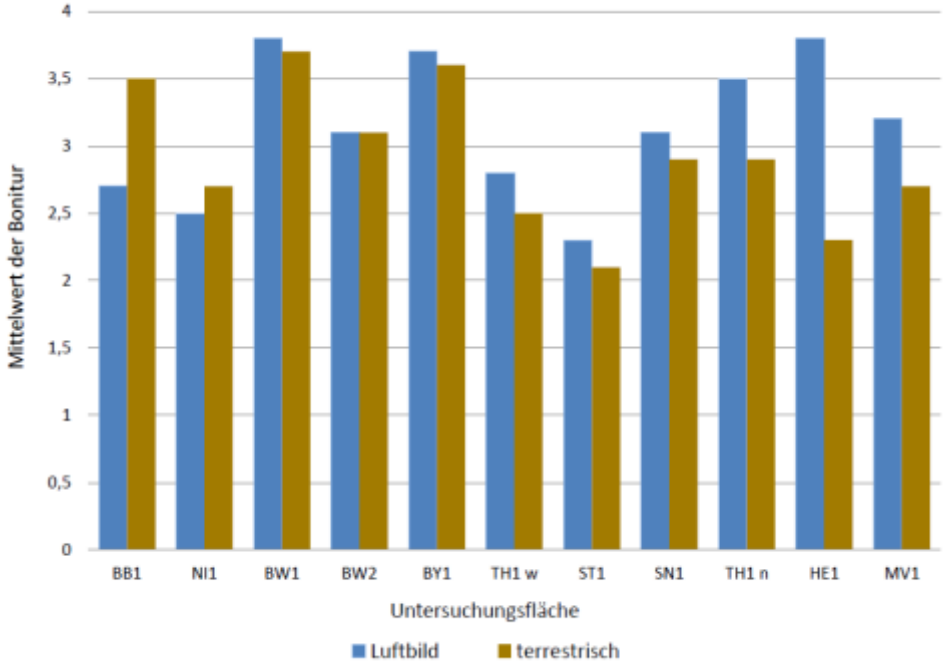

Abbildung 2: Terrestrisch- und luftbildbasierte Bonitur der ETS-Schäden auf den verschiedenen Untersuchungsflächen für das Jahr 2022. Der Vitalitätszustand wird bei den luftbildbasierten Bonituren tendenziell schlechter eingeschätzt als bei den terrestrischen Bonituren.

Aus den Versuchen mit unterschiedlichen Flugzeiten im Jahresverlauf, GSD und Auswertungsformen (terrestrisch und luftbildbasiert) lassen sich die folgenden allgemeinen Beobachtungen ableiten:

- Idealerweise werden Luftbilddaten verwendet, die zum Höhepunkt der Vegetationszeit (Mitte Juni – Mitte August) aufgenommen wurden.
- Die geometrische Auflösung sollte mindestens 20 cm betragen. Besser auswertbar sind jedoch höher aufgelöste Daten mit 10 bis 4 cm Auflösung.
- Wenn Luftbildaufnahmen mehrerer Jahre zur Verfügung stehen, sodass die Entwicklung verschiedener Aspekte der Kronenstruktur berücksichtigt werden kann, sind die Interpretationsergebnisse robuster.
- Vergleiche zwischen terrestrischen und luftbildbasierten Kronenansprachen zeigen mitunter Abweichungen bei der Einstufung der Kronenzustände. Dieses ist in der unterschiedlichen Beobachtungsperspektiven, dem unterschiedlichen Interpretationsschlüssel und den Merkmalen die angesprochen werden können begründet.

- Trotz der Abweichungen zwischen terrestrischem und luftbildbasiertem Kronenzustandsmonitoring empfiehlt sich das Luftbildverfahren auf Grund seiner hohen Flächenleistung zur schnellen und großräumigen Erfassung eines solch rapiden Fortschreitens des ETS, wie wir es derzeit beobachten.

Literatur

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—Research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Peters S, Langer GJ, Kätzel R (2021): Eschentriebsterben – Kriterien zur Schadensbonitur an Eschen. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR), Gülzow-Prüzen, 60 Seiten, ISBN-Nr.: 978-3-942147-44-6.

Förderkennzeichen: 2219WK20F4, 2219WK20B4 und 2219WK20C4

Schwerpunkt Transfer

Überwachung des Eschentriebsterbens in Deutschland mittels hyperspektraler Messtechnik und Ableitung relevanter Indizes

Joshua Moritz[1*], Denny Schmelz[1], Bonito Thielert[1], Patrick Menz[1], Uwe Knauer[1,2], Katharina Holstein[3], Ina Ehrhardt[1], Andreas Herzog[1]

[1] Fraunhofer IFF, Magdeburg
[2] Hochschule Anhalt, Bernburg
[3] Hochschule Anhalt, Köthen
[*]Joshua.Moritz@iff.fraunhofer.de

Die räumlich und spektral hochaufgelöste Aufnahme von Waldbeständen mit Hyperspektralkamerasystemen bietet in der Fernerkundung mit optischen Sensoren ein großes Potenzial zur Unterscheidung verschiedener Baumarten einerseits und verschiedener Vitalitätszustände innerhalb einer Baumart andererseits (Knauer et al. 2022). An jedem Bildpunkt steht ein vollständiges Spektrum der Wellenlängen zur Verfügung und kann für eine Klassifikation genutzt werden. Die größte bestehende Herausforderung für den Einsatz bildgebender hyperspektraler Messtechnik ist die Entwicklung standardisierter und damit reproduzierbarer Aufnahme- und Auswertemethoden, die durch kommerzielle Anbieter (Luftbildunternehmen) einsetzbar sind und für das regelmäßige Monitoring großer Flächen genutzt werden können. Diese Voraussetzungen sind leider noch nicht gegeben. Zudem stellen hyperspektrale Befliegungen noch einen großen Kostenfaktor dar und sind in der forstlichen Praxis zu aufwändig und nicht anwendungsnah. Daher ist es ein Projektziel, nach dem Proof of Concept aus den Hyperspektraldaten relevante multispektrale Indizes zu erstellen, die sich für den laufenden Einsatz eignen. Auf deren Basis könnte perspektivisch ein kostengünstiges Monitoring des Waldes mit Multispektralkameras möglich werden. Marktüblich sind bereits Standardkameras mit dedizierten Wellenlängen.

Das Fraunhofer IFF setzt seit 2011 Hyperspektralkameras für die flugzeuggestützte Erfassung des Ernährungs- und Gesundheitszustands von verschiedenen Kulturpflanzen ein (Knauer et al. 2015). Es bestehen umfangreiche Erfahrungswerte beim Einsatz der Hyperspektraltechnik inklusive Versuchsplanung, Kalibrierung und Datenhandling, sowie bei der Auswertung der Bilder mit Verfahren des maschinellen Lernens in einem automatisierten Workflow (Verarbeitungspipeline).

Mit Hilfe von Methoden des maschinellen Lernens lassen sich auch die multispektralen Indizes erstellen und verifizieren.

Im Projekt wurden mehrere Beobachtungsflächen (jeweils Frühjahr und Sommer in den Jahren 2021 und 2022) beflogen. Dabei wurden in verschiedenen Konfigurationen zwei Hyperspektralkameras VNIR (Wellenlängenbereich von 400 nm-1000 nm) und SWIR (950 nm-2500 nm) sowie hochauflösende Farbkameras (RGB) eingesetzt. Die Prozessierung zu hyperspektralen georeferenzierten Orthofotos erfolgte unter Nutzung kommerzieller Software (POSPac MMS, Agisoft Metashape, ATCOR-4 und PARGE), die in die eigene Verarbeitungspipeline eingebunden ist.

Die Segmentierung einzelner Baumkronen in den Orthofotos wurde für die ersten Referenzbilder manuell von den Projektpartnern durch das Erstellen von Shape Dateien mit den Umrissen der Baumkronen vorgenommen. Für den großflächigen Einsatz wurden dann Segmentierungsverfahren auf der Basis von Bildverarbeitungsalgorithmen und Neuronalen Netzwerken (NN) ermittelt (Abb. 1).

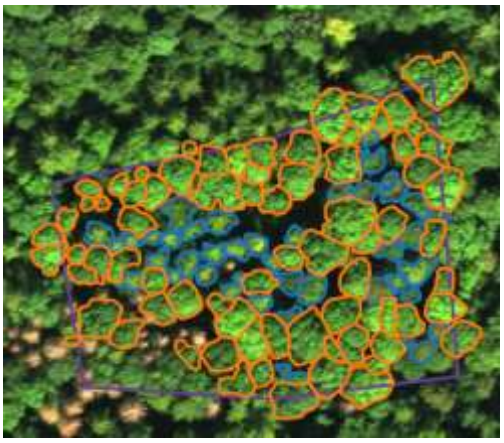

Abbildung 1: Visualisierung des VNIR-Hyperspektralbild (auf RGB abgebildet) mit markierter IB-Fläche (violett) und segmentierten Baumkronen von Eschen (orange) und Nicht-Eschen (blau).

Innerhalb der segmentierten Baumkronen werden die Spektren zum Training und zum Verifizieren des Modells ermittelt. Dazu wurden Filter und Clusterverfahren entworfen und implementiert, welche geeignete Punktspektren extrahieren und gegebenenfalls zu einem gemittelten Spektrum zusammenfassen.

Die Flächenauswahl, die Vorbereitung und die geplanten Befliegungen wurden zwischen den Projektpartnern abgestimmt. Dabei wurden IB-Flächen und weitere Flächen verwendet (siehe Abb. 2). Um in den dichtbewachsenen Wäldern der Flächen Passpunkte zur Georeferenzierung zu finden, wurden teilweise vor der

Frühjahrsbefliegung Messmarken ausgelegt und deren genaue geographische Lage vermessen.

Zum Erzeugen von Trainingsdaten wurden den segmentierten Baumkronen die Baumart und die Schadstufe als Label zugeordnet. Grundlage dazu waren Angaben, die aus Luftbildbonituren und Flächenbegehungen stammen, welche von den Projektpartnern durchgeführt wurden.

Für die Unterscheidung Esche vs. Nicht-Esche wurde ein NN trainiert, welches jeden Pixel der VNIR-Fotos in eine der beiden Klassen – Esche oder Nicht-Esche – einordnet. Beim Training des Netzes wurde die Lernstichprobe über die Klassen und dann Baumkronen balanciert, sodass ein Ungleichgewicht der Trainingsbeispiele zwischen den Klassen oder Baumkronen nicht das NN beeinflusst. Die Klassifikationsgenauigkeit für beide Klassen – Esche und Nicht-Esche – liegt im Ergebnis bei größer 78 % auf allen untersuchten Flächen mit Mischbeständen (siehe Abb. 2).

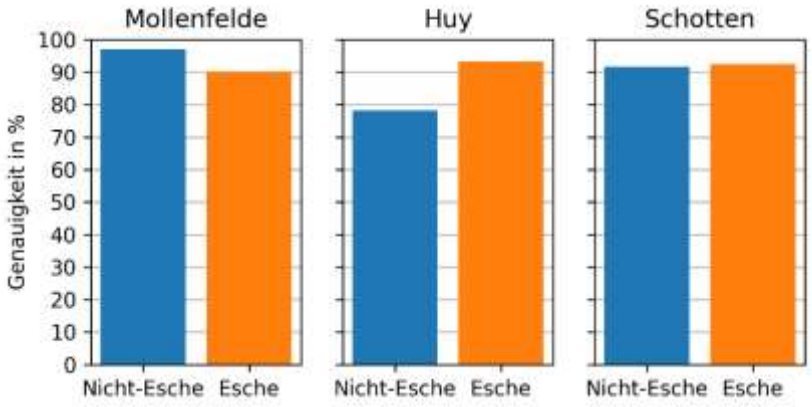

Abbildung 2: Ergebnis der Eschenerkennung für ausgewählte Flächen durch ein trainiertes Neuronales Netz. Dabei wurde jeweils eine ganze Fläche zum Validieren verwendet (Leave-One-Out-Kreuzvalidierung).

Um die Anzahl der relevanten Wellenlängen einzugrenzen und Indizes abzuleiten, wurde eine Relevanzanalyse durchgeführt. Für die Relevanzbestimmung eines Attributs wurde die maximale Genauigkeit zugrunde gelegt, die man durch einen optimierten Schwellwert erreichen könnte. Die betrachteten Attribute waren die Reflektanzen an jeder Wellenlänge und die Kombinationen mehrerer Wellenlängen durch normalisierte Differenzen. Ein Kandidat für Eschenerkennung ist die normalisierte Differenz der Wellenlängen 800 nm und 830 nm. Als Eingangsgröße für eine logistische Regression erlangt dieser Index bei einer Leave-One-Out-Kreuzvalidierung über die drei Flächen eine gemittelte (klassen- und baumkronenbalancierte) Erkennungsrate von 81 %, wobei die flächenspezifische Erkennungsrate von 69 %

in Schotten (HE1) über 85 % in Huy (ST1) bis zu 90 % in Mollenfelde (NI1) schwankt.

Analog wurden Indizes für Vitalitätsunterschiede anhand der Daten für die Luft-Kronenansprache aus dem Sommer 2021 ermittelt. Hierbei wurden die Schadstufen 0-2 und 3-5 (Langer et al. 2022) jeweils zu einer Klasse zusammengefasst, sodass man wie bei der Eschenklassifikation die Schadstufenunterscheidung auf ein binäres Problem reduziert. Ein möglicher Kandidat ist die normalisierte Differenz der Wellenlängen 1450 nm und 1650 nm. Da die Schadstufen sich sehr inhomogen über die drei Flächen HE1, NI1 und ST1 verteilen, wurde die Relevanzanalyse über alle Flächen zusammen durchgeführt. Wie bei der Eschenerkennung wurde auch hier ein Modelltraining durchgeführt, jedoch bedingt durch die inhomogene Verteilung der Schadstufen über die Flächen nur mittels einer 4-Fach-Kreuzvalidierung über gesamtheitlich alle Eschen der drei ausgewählten Flächen. Der Klassifikator erreicht eine mittlere balancierte Genauigkeit von 83 % für die Indexwerte, was der Genauigkeit der Klassifikation aus dem gesamten Spektrum entspricht.

Um die Umsetzung der Eschenerkennung im Feld zu testen, wurde auf einer Fläche nahe Ettersberg, 20 unbekannte Bäume mit dem NN-Modell klassifiziert (12 Eschen und 8 Nicht-Eschen). Das Ergebnis wurde in eine GIS-App geladen und den Partnern zur Vor-Ort-Überprüfung gegeben. Von den 20 Bäumen wurden 17 richtig erkannt. Eine Hainbuche und ein Ahorn wurden fälschlicherweise als Eschen klassifiziert, sowie eine Esche fälschlicherweise als Nicht-Esche.

Literatur

Knauer U, Holstein K, Thielert B, Schmelz D, Ehrhardt I (2022): Eschentriebsterben-Erkennung der Eschenvitalität mit hyperspektralen Fernerkundungsdaten. Wissenschaftlich-Technische Jahrestagung der DGPF, 42:84-93.

Knauer U, Edwards E, McGrath A, Lieff W, Hacker J.M, Seiffert U (2015): Towards grape-vine management based on mapping of airborne hyperspectral images. 9th International Symposium on Mobile Mapping Technology, Sydney, Australia.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022): FraxForFuture—Research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Mahlein AK, Rumpf T, Welke P, Dehne HW, Plümer l, Steiner U, Oerke EC (2013): Development of spectral indices for detecting and identifying plant diseases. Remote Sensing of Environment, 128:21-30.

Förderkennzeichen: 2019WK20D4

Keynote: Ökosystemare Betrachtungen

Biodiversität eschenreicher Wälder und Strategien zu ihrer Erhaltung

Katharina Mausolf[1*], Katharina S. Haupt[1], Jessica Richter[1], Joachim Schrautzer[1], Alexandra Erfmeier[1*]

[1]Institut für Ökosystemforschung, Abteilung Geobotanik, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel

[*]kmausolf@ecology.uni-kiel.de, aerfmeier@ecology.uni-kiel.de

Das Eschentriebsterben hat in den vergangenen Jahrzehnten zu rasanten Veränderungen in eschenreichen Waldökosystemen geführt. Neben zusammenbrechenden Bestandesstrukturen und sich damit rasant ändernden abiotischen Bedingungen wird auch ein negativer Einfluss auf viele der eschenassoziierten Arten vermutet (Mitchell et al. 2016, Hultberg et al. 2020). Vor dem Hintergrund dieser rapiden ökologischen Veränderungen stehen Waldbewirtschaftende vor der dringenden Herausforderung, den Ausfall der Schlüsselbaumart Esche (*Fraxinus excelsior*) soweit wie möglich zu kompensieren. Dazu müssen nachhaltige Lösungen gefunden werden, um sowohl die ökologischen (Ökosystemfunktionen der Esche) als auch die ökonomischen Verluste (Wirtschaftsbaumart Esche) infolge des Eschentriebsterbens abzumildern (Broome et al. 2019).

Das im Bundesprogramm „Biologische Vielfalt“ geförderte Projekt FraDiv aus Schleswig-Holstein besteht aus zwei Teilprojekten, FraDiv^{exp} und FraDiv^{obs}, mit unterschiedlichem methodischen Vorgehen. In einem landesweiten Monitoring (FraDiv^{obs}) werden die Auswirkungen des Eschentriebsterbens auf die Biodiversität (hier Flora und Funga) sowie die Bestandesstruktur untersucht. Die experimentellen Ansätze (FraDiv^{exp}) entlang eines hydrologischen Gradienten zielen darauf ab, mit Hilfe alternativer Baumarten in einem *Biodiversity-Ecosystem-Functioning* (BEF)-Experiment zu testen, inwieweit den nachteiligen ökologischen Auswirkungen des Eschentriebsterbens entgegengewirkt werden kann. In FraDiv^{exp} wird ein BEF-Ansatz mit waldbaulicher Praxis direkt kombiniert. So können ökologische Forschungsfragen unter Realbedingungen beantwortet werden, während gleichzeitig Empfehlungen für die Behandlung massiv geschädigter Bestände erarbeitet werden (Abb. 1).

Abbildung 1: Konzeptioneller Rahmen des Teil-Projektes FraDiv^{exp}. Das Teil-Projekt von FraDiv verbindet die ökologische Forschung zu den Auswirkungen des Eschentriebsterbens mit den Fragestellungen der waldbaulichen Praxis. Aus dem Projekt generierte Ergebnisse können so direkt in die Anwendung gehen. Abbildung verändert nach Haupt et al. (2022).

Im Winter 2019/2020 wurden in Schleswig-Holstein zwölf Versuchsflächen mit autochthonen Alternativ-Baumarten angelegt. Die Pflanzungen mit Spitzahorn (*Acer platanoides*), Hainbuche (*Carpinus betulus*), Flatterulme (*Ulmus laevis*), Winterlinde (*Tilia cordata*) und der Esche selbst erfolgten dabei direkt unter den verbliebenen Kronendächern zusammenbrechender Eschen(misch-)bestände. Die Pflanzungen wurden in vorgegebenen Mischungen angelegt, wobei auf jeder der Versuchsflächen alle Baumarten in Monokultur sowie in den rechnerisch möglichen Zwei-, Vier- und Fünf-Art-Mischungen gepflanzt wurden (Haupt et al. 2022; Abb. 2).

Nach Ablauf des ersten Standjahres der insgesamt 25.200 ausgepflanzten Bäume lag die Gesamtmortalitätsräte bei 5 %, wobei die Baumart Flatterulme die geringste Sterblichkeit aufwies, während die Ausfallraten beim Spitzahorn hoch waren (17,4 %). Die getesteten Baumarten zeigten artspezifische Unterschiede in der Reaktion auf verschiedene Umweltfaktoren. Spitzahorn wies im Vergleich mit den anderen Baumarten eine negative Reaktion auf eine hohe zwischenartliche Konkurrenz mit Brombeerarten auf. Auch die Reaktion auf Unterschiede in der Bodenreaktion (pH-Wert) variierte zwischen den Baumarten, wobei die Heterogenität der chemischen Bodenbedingungen innerhalb der Experimentalflächen kleinsträumige Unterschiede aufwies. Für alle Baumarten konnte gezeigt werden, dass die initiale Pflanzengröße sowie der Grad der Öffnung des Kronendachs einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenswahrscheinlichkeit hat. Entgegen der Erwartungen wirkte sich ein hoher Kronenschluss im Hauptbestand positiv auf die Überlebenswahrscheinlichkeit aus. Dies steht in Kontrast zu den gängigen lichtökologischen Annahmen der forstlichen Praxis.

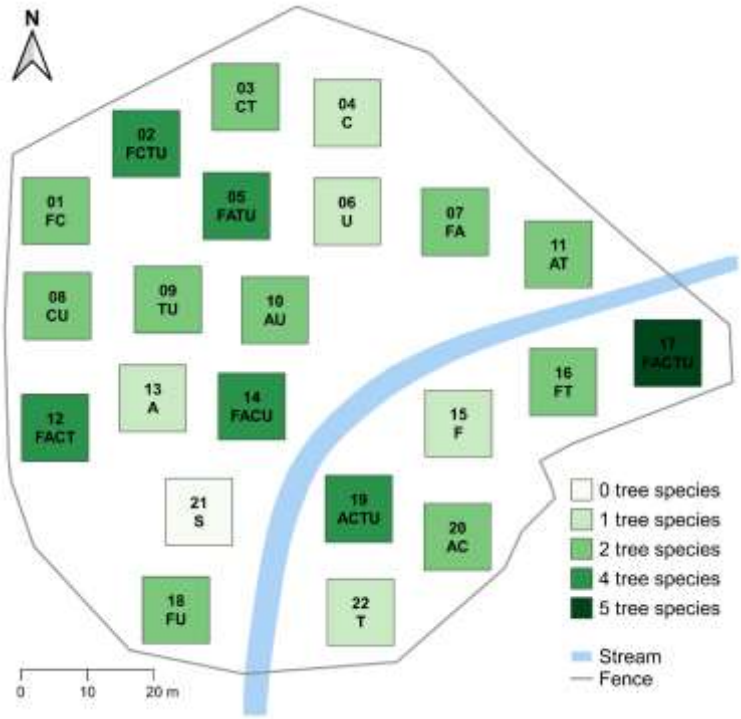

Abbildung 2: Schematische Darstellung einer Versuchsfläche. Auf jeweils 22 Plots wurden in jeder der 12 ca. 1 ha-großen, gezäunten Flächen Pflanzungen mit zweijähriger wurzelnackter Baumschulware der Baumarten Esche (*F. excelsior*; F), Spitzahorn (*A. platanoides*; A), Hainbuche (*C. betulus*; C), Flatterulme (*U. laevis*; U) und Winterlinde (*T. cordata*, T) in Ein- bis Fünf-Art-Mischungen angelegt. Unterschiedliche Färbungen zeigen die Mischungsintensität der einzelnen Plots an. Abbildung aus Haupt et al. (2022).

Die Erkenntnisse aus FraDiv^{exp} machen am Beispiel Norddeutschlands deutlich, dass die Baumartenwahl für Wiederherstellungspflanzungen in ehemals eschenreichen Beständen nicht nur unter ökonomischen Gesichtspunkten getroffen werden sollte. Insbesondere die Entwicklung der Krautschicht (sowohl ihre Dichte, als auch zur Abschätzung der Bodenreaktion) und die bereits erfolgte Öffnung des Kronendachs sollten als Indikatoren für eine ökologisch sinnvolle Baumartenwahl herangezogen werden: (nur) gut funktionierende Baumartkombinationen im Sinne einer Etablierung sind mittel- und langfristig auch ökonomisch sinnvoll. In Beständen, in denen eine konkurrierende Krautschicht bereits von Brombeerarten oder konkurrenzstarken Gräsern dominiert wird (als Folge sich verändernder Lichtbedingungen bei einer hohen Ausfallrate der Esche im Hauptbestand), muss die

Forstpraxis die artspezifischen Standortsansprüche von möglichen Alternativbaumarten berücksichtigen, so dass für stark degradierte Standorte die Wahl auf weniger empfindliche und/oder pflegeintensive Alternativbaumarten(kombinationen) fallen sollte.

Die erfolgreiche Etablierung von Pflanzungen mit Ersatzbaumarten ist eine Möglichkeit, um den Folgen eines massiven Verlusts von Eschen entgegenzuwirken und die biologische Vielfalt sowie die Ökosystemfunktionen auch unter Berücksichtigung weiterer exogener Störungen (Klimawandel, Vitalitätsschwächen, andere biotische Faktoren) zu erhalten.

Literatur

Broome A, Ray D, Mitchell R, Harmer R (2019): Responding to ash dieback (*Hymenoscyphus fraxineus*) in the UK: Woodland composition and replacement tree species. Forestry 92:108-19. https://doi.org/10.1093/forestry/cpy040.

Haupt KS, Mausolf K, Richter J, Schrautzer J, Erfmeier A (2022): The FraDiv experiment: Biodiversity-Ecosystem Functioning research meets reforestation practice. Ecol Ind 144:109497. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109497.

Hultberg T, Sandström J, Felton A, Öhman K, Rönnberg J, Witzell J, Cleary M (2020): Ash dieback risks an extinction cascade. Bio Con 244(5):108516. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108516.

Mitchell RJ, Bailey S, Beaton JK, Bellamy PE, Brooker RW, Broome A, Chetcuti J, Eaton S, Ellis CJ, Farren J, Gimona A, Goldberg E, Hall J, Hester AJ, Hewison RL, Hodgetts NG, Hooper RJ, Howe L, Iason GR, Kerr G, Littlewood NA, Morgan V, Newey S, Potts JM, Pozsgai G, Ray D, Sim DA, Stockan JA, Taylor AFS, Woodward S (2014): The potential ecological impact of ash dieback in the UK. JNCC Report No. 483.

Förderung: Gefördert im Bundesprogramm Biologische Vielfalt durch das Bundesamt für Naturschutz mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz (FKZ 3518685010)

Schwerpunkt Waldbau

Sicherung ausgewählter Eschengenotypen (*Fraxinus excelsior*) mittels in-vitro-Kultur

Lena Safranek*

Humboldt Universität zu Berlin, Fachgebiet urbane Ökophysiologie der Pflanzen, Berlin

*lena.safranek.1@hu-berlin.de

Die in-vitro-Kultur bietet die Möglichkeit zur Kultur von Eschengenotypen außerhalb ihrer natürlichen Umgebung. Dies bietet mehrere Vorteile. Augenscheinlich tolerante Individuen können vermehrt und zur künstlichen Verjüngung genutzt werden. Ist ein Genotyp für die in-vitro-Vermehrung geeignet, so können viele Klone und von jedem Klon prinzipiell beliebig viele Individuen innerhalb von relativ kurzer Zeit produziert werden. Die entstandenen Pflanzen können unter Laborbedingungen auf ihre Anfälligkeit gegenüber dem Eschentriebsterben getestet werden. Durch die sterilen Aufzuchtbedingungen können von anderen Schaderregern verursachte Effekte ausgeschlossen werden. Auch der Erhalt von anfälligen Genotypen ist möglich. Diese Genotypen dienen für weiterführende Experimente als Ausgangsmaterial, wenn Probematerial an natürlichen Standorten nicht mehr zur Verfügung steht. Die Vermehrung *in vitro* birgt allerdings auch Nachteile. So sind nicht alle Genotypen für die Kultur geeignet. Diese sterben innerhalb kurzer Kulturdauer ab oder sind nicht vermehrungsfähig. Je nach Ausgangsmaterial machen Kontaminationen eine Kultivierung unmöglich. Zudem ist vor allem die Anfangsphase kostenintensiv. Ein spezialisiertes Labor und entsprechend geschultes Personal sind nötig und die Entwicklung und Optimierung geeigneter Protokolle kann Jahre dauern.

Im Rahmen von FraxForFuture werden zwei Ansätze zur Inkulturnahme von Eschen verfolgt. Beim „direkten Ansatz“ wird Ausgangsmaterial von selektierten Bäumen mit den gewünschten Eigenschaften zur Vermehrung verwendet. Beim „reversen Ansatz“ dient Saatgut als Probenmaterial für die somatische Embryogenese (sE). Die so entstandenen Bäume müssen erst auf ihre Eigenschaften getestet werden. Folgend wird nur auf letzteren Ansatz eingegangen.

Bei der somatischen Embryogenese wird die Totipotenz von Pflanzenzellen genutzt. Bereits differenzierte (somatische) Zellen werden mittels Wachstumsregulatoren gestresst, sodass diese eine Re-Embryonalisierung durchlaufen und anfangen neue, genetisch identische Embryonen zu bilden. Als Orientierung wurden die Arbeiten von Capuna et al. (2007) und Yang et al. (2013) verwendet und angepasst. Im Jahr

2022 wurden von KW25 bis KW31 jeweils drei Bäume in Berlin beerntet. Als Explantate wurden sowohl ganze Embryonen als auch Kotyledonen und Hypokotyle getrennt auf Induktionsmedium aufgelegt. Es wurden zwei Medienvarianten getestet. Als Basis diente das Woody Plant Medium (WPM) nach Lloyd & McCown (1980) mit Zusatz unterschiedlicher Konzentrationen Benzylaminopurin (BAP) und 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) als Stimulanz. Als Kontrolle diente hormonfreies WPM. Insgesamt wurden 5.940 Explantate aufgelegt. Nach 12 Wochen wurde eine erste Bonitur durchgeführt und die Explantate mit Induktionsereignissen (Abb. 1) wurden subkultiviert. Für das Proliferationsmedium wurden die Konzentrationen beider Phytohormone reduziert und die Subkulturdauer auf fünf Wochen festgelegt. Es konnten 104 Klone generiert werden, was einer sE-Rate von ca. 2 % entspricht. Die Kontamination lag bei etwa 69 %.

Abbildung 1: HS3K5RR Bildung somatischer Embryonen an Kotyledonen von Baum HS3 geerntet in KW29 nach 12 Wochen Kultur auf WPM + BAP&2,4-D

Es sind weitere Versuche zur somatischen Embryogenese bei *Fraxinus excelsior* unbedingt notwendig. 2023 wird der Versuch wiederholt, um zum einen die Ergebnisse zu bestätigen und zum anderen das Protokoll zu optimieren. Optimierungsbedarf besteht vor allem in der Proliferationsphase. Weiter soll eine Methode zur kontrollierten Reifung der Embryonen und anschließender Akklimatisierung der

Jungpflanzen erarbeitet werden. Ein Protokoll zur Kryokonservierung der sE kann innerhalb der Projektlaufzeit nicht mehr entwickelt werden.

Literatur

Capuana, M.; Petrini, G.; Di Marco, A.; Giannini, R. (2007) Plant regeneration of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) by somatic embryogenesis. In Vitro Cell.Dev.Biol. - Plant 43:101-110 https://doi.org/10.1007/s11627-007-9030-0.

Lloyd, G.; McCown, B. H. (1980) Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. Proc Int Plant Prop Soc. 30:421-427.

Yang, L.; Bian, L.; Shen, H.-L.; Li, J.-H. (2013) Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from mature zygotic embryos of Manchurian ash (*Fraxinus mandshurica* Rupr.). Plant Cell Tiss Organ Cult 115:115-125 https://doi.org/10.1007/s11240-013-0345-8.

Förderkennzeichen: 2219WK21G4

Schwerpunkt Waldbau

Ausprägung des Eschentriebsterbens in der Naturverjüngung

Johannes Osewold*, Ralf-Volker Nagel

Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldwachstum, Göttingen
*johannes.osewold@nw-fva.de

Einleitung und Methodik

Zur Verbreitung und zum Verlauf des Eschentriebsterbens (ETS) an Altbäumen wurde bereits viel geforscht. Weniger intensiv und noch nicht sehr lange hingegen wird das Infektionsgeschehen bei sehr jungen Bäumen insbesondere in der Naturverjüngung beobachtet. Lygis et al. (2014) untersuchten 775 Jungeschen in Litauen und fanden Infektionen an 54 %, Dietrich (2016) fand Infektionen an 20 % aller Jungeschen in Schweden und Pušpure & Matisons (2017) untersuchten insgesamt 7.533 Jungeschen in Lettland, von denen 75 % gesund waren. Diese Ergebnisse variieren stark und sind eventuell nicht auf Deutschland übertragbar. Auf Flächen in Deutschland gibt es bisher nur eine solche Untersuchung von Enderle et al. (2017a), die Infektionen an etwa 95 % der 867 lebenden jungen Eschen ihrer Stichprobe fanden.

Daher wurde Eschennaturverjüngung auf neun Flächen eines standörtlichen und klimatischen Gradienten in acht deutschen Bundesländern eine Vielzahl von Parametern aufgenommen (Langer et al. 2022). Ziel war es, Erkenntnisse über den Einfluss der Konstitution, v.a. der Wuchshöhe von jungen Eschen und deren Konkurrenzsituation, insbesondere auch hinsichtlich der interspezifischen Konkurrenz in baumartengemischten Verjüngungen auf die Infektion mit ETS zu gewinnen.

Dazu wurden auf jeder Fläche zwischen 65 und 98 Plots von je einem Quadratmeter mit einem Rasterabstand von 10 m eingerichtet. Auf jedem Plot wurden die Höhen und durch Triebrückmessung die beiden zurückliegenden Höhenzuwächse der Eschen und aller anderen Baumarten dokumentiert. Zusätzlich wurde die Symptomatik des Eschentriebsterbens pro Pflanze anhand des im Projekt abgestimmten Boniturschlüssels (Peters et al. 2021) beurteilt. Für eine bessere Skalierbarkeit musste der umfangreiche Schlüssel vereinfacht werden. Dafür wurden pro Esche die Zahl aller Triebe in verschiedenen Kategorien aufgenommen: Triebe, die im letzten Sommer von ETS infiziert wurden und nur eine Nekrose aufwiesen; Triebe, die im letzten Sommer an ETS abgestorben sind; Triebe, die aus anderen,

häufig in ihrer Ursache nicht mehr zu ermittelnden Gründen abgestorben sind. Infektionen am aktuell höchsten Trieb wurden gesondert verzeichnet.

Die Datenaufnahmen wurden im Winter nach Blattfall durchgeführt. Hierdurch wurde sichergestellt, dass innerhalb der Messkampagne von mehreren Wochen keine Veränderungen im Infektionsgeschehen stattfanden. Außerdem waren solche Fälle besser zu interpretieren, bei denen noch verwelkte Blätter, die ohne natürliche Seneszenz abgestorben waren, am Trieb anhafteten und so eindeutig dem ETS zugeordnet werden konnten.

Ergebnisse und Diskussion

Auf einer Gesamtfläche der Plots von 726 m² wurden insgesamt 5.918 Eschen gefunden, mit einer starken variierenden Dichte zwischen den Plots einer Fläche, v.a. aber zwischen den verschiedenen Untersuchungsflächen (Tab. 1). Der Anteil an Eschen in der Verjüngung schwankt zwischen 2 % und 79 %, bei variierenden Grundflächenanteilen von Eschen im Oberstand zwischen 23 % und 68 %. Insgesamt waren 7,8 % aller Eschen von ETS betroffen (Tab. 2), aber nur 2,2 % hatten noch lebende Triebe mit Nekrosen. Weitaus mehr (15 %) Eschen haben Triebe mit anderen oder unspezifischen Schäden. Der Anteil der Eschen, die in irgendeiner Form Symptome des Eschentriebsterbens aufweisen, variiert zwischen den Flächen und liegt bei 5 % bis 16 %.

Überraschend ist zunächst die geringe Anzahl an Infektionen in der Naturverjüngung. Andere Studien finden, wie bereits beschrieben, durchgehend höhere Werte und auch Pflanzungen im Freiland mit künstlichem Infektionsdruck resultieren in höheren Befallszahlen (Enderle et al. 2017b; Kirisits 2012). Die Infektionsrate bezogen auf die Verjüngungsdichten ist in der vorliegenden Untersuchung über alle Flächen relativ konstant, so dass Besonderheiten einzelner Flächen ausgeschlossen werden können.

Zusätzlich fällt auf, dass nur etwas weniger Eschen noch lebende Triebe mit Nekrosen haben als bereits durch das ETS vollständig abgestorbene Triebe. Dies spricht dafür, dass Infektionen in der Naturverjüngung schnell ablaufen. Der Prozess von der Infektion des Blattes bis zum vollständigen Absterben des einzelnen Triebes läuft innerhalb von zwei Vegetationsperioden oder sogar schneller ab. Das Verhältnis zwischen Eschen mit abgestorbenen Trieben, die älter als ein Jahr sind und Eschen mit abgestorbenen Trieben, die maximal ein Jahr alt sind, beträgt 1,4 zu 1. Dies lässt sich dahingehend interpretieren, dass infizierte Triebe nur etwa 3-4 Jahre als solche zu erkennen sind und danach entweder schwer zu erkennen sind oder sogar fehlen. Die hohe Anzahl von Eschen mit anderen oder unbekannten Schäden rührt

vermutlich zu einem großen Teil von ETS-Infektionen her, die nicht mehr zweifelsfrei als solche zu erkennen sind.

Zwischen den Untersuchungsflächen stark variierende Dichten der Naturverjüngung lassen sich bisher nur schwer erklären. Die Grundfläche oder der Anteil der Eschen des Altbestandes zeigen jedenfalls keinen Zusammenhang zur Dichte der Eschennaturverjüngung. Vermutlich sorgt eine Kombination von Effekten der Konkurrenzvegetation und eines starken Wildverbisses auf einigen Flächen für geringe Verjüngungsdichten, die dort auch die anderen Baumarten betreffen.

Hohe Dichten der Eschennaturverjüngung auf anderen Flächen sind hingegen ermutigend hinsichtlich des Potenzials für eine Eschenerhaltung. Eine frühe Infektion mit ETS könnte anfällige Individuen abtöten oder ihren Zuwachs mindern und dadurch einen Selektionsdruck ausüben. Die geringen Infektionszahlen initialer Verjüngungsstadien sind in diesem Zusammenhang ggf. sogar nachteilig. Eine Hypothese für die Erklärung ist, dass sehr junge Eschen bereits eine einzelne Infektion nicht überleben und daher gar nicht mehr erfasst werden, wenngleich dies anhand der Beobachtungen während der Messungen wenig plausibel erscheint. Möglich scheint auch scheint ein Zusammenhang mit dem zerstörungsfrei nicht zu bestimmenden Alter der Eschen bzw. ihrer Höhe. Diesem Zusammenhang wird noch nachgegangen.

Tabelle 1: Kennwerte zu Dichte und Eschenanteil für die Altbestände und die Naturverjüngungen der Untersuchungsflächen (IBF), Durchmesser Esche listet den Durchmesser des Grundflächenmittelstammes, Abkürzungen Bundesländer: BB-Brandenburg, BW-Baden-Württemberg, HE-Hessen, MV-Mecklenburg-Vorpommern, NI-Niedersachsen, SN-Sachsen, ST-Sachsen-Anhalt, TH-Thüringen).

Altbestand (≥ 7cm BHD)					Naturverjüngung			
IBF	Grund-fläche	Grund-fläche Esche	Grund-flächen-anteil Esche	Durch-messer Esche	Anteil Esche	Stamm-zahl gesamt	Stamm-zahl Eschen	Anteil Esche mit ETS
	[m²/ha]	[m²/ha]	[%]	[cm]	[%]	[ha $^{-1}$]	[ha $^{-1}$]	[%]
MV_1	31,5	21,5	68	62,4	38	22.347	8.571	11
NI_1	27,6	12,6	46	38,4	25	99.275	25.217	13
BB_1	41,0	15,3	37	42,0	39	137.778	54.111	6
SN_1	30,7	12,0	39	69,1	33	201.149	66.552	16
HE_1	21,9	8,2	37	53,0	19	223.370	43.043	12
BW_1	25,6	12,7	50	27,2	15	276.711	41.579	15
TH_1	20,9	9,6	46	26,1	65	355.802	229.630	5
ST_1	24,8	6,5	26	26,1	79	366.324	288.676	6
BW_2	30,1	7,0	23	27,6	2	393.692	9.077	8

Tabelle 2: Triebschäden durch ETS (nach Entstehungszeitpunkt) und sonstige Triebschäden an Eschen der Naturverjüngung; mehrere Symptome an einer Esche können vorkommen, daher lassen sich die Werte nicht aufsummieren.

	Anzahl / Anteil	Höchster Trieb betroffen [%]
Eschen gesamt	5.918	6,4
ETS gesamt	7,8	4,2
durch ETS abgestorbener Trieb	4,4	1,2
frisch durch ETS abgestorbener Trieb	3,2	1,7
lebender Trieb mit ETS-Nekrose	2,2	1,3
Triebschäden durch andere Ursache	15,0	2,2

Literatur

Dietrich M (2016): The impact of ash dieback on ash regeneration in the forest reserve Dalby Söderskog (Southern Swedish Forest Research Centre). https://stud.epsilon.slu.se/8821/1/dietrich_m_160212.pdf.

Enderle R, Busskamp J, Metzler B (2017a): Growth performance of dense natural regeneration of *Fraxinus excelsior* under attack of the ash dieback agent *Hymenoscyphus fraxineus*. Baltic Forestry, 23:218-228.

Enderle R, Fussi B, Lenz HD, Langer G, Nagel R, Metzler B (2017b): Ash dieback in Germany: Research on disease development, resistance and management options. The Report on European Cooperation in Science & Technology (COST) Action FP1103 FRAXBACK, Dieback of European Ash (*Fraxinus* spp.)—Consequences and Guidelines for Sustainable Management, 19.

Kirisits T (2012): Ash dieback caused by *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in a seed plantation of *Fraxinus excelsior* in Austria. Journal of Agricultural Extension and Rural Development, 4(9). https://doi.org/10.5897/JAERD12.046.

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner J (2022). FraxForFuture—Research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129:1285-1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Lygis V, Bakys R, Gustiene A, Burokiene D, Matelis A, Vasaitis R (2014): Forest self-regeneration following clear-felling of dieback-affected *Fraxinus excelsior*: Focus on ash. European Journal of Forest Research, 133(3):501-510. https://doi.org/10.1007/s10342-014-0780-z.

Peters S, Langer GJ, Kätzel R (2021): Eschentriebsterben – Kriterien zur Schadensbonitur an Eschen. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR), Gülzow-Prüzen, 60 Seiten, ISBN-Nr.: 978-3-942147-44-6.

Pušpure I, Matisons R (2017): Natural Regeneration of Common Ash in Young Stands in Latvia. Baltic Forestry, 23(1):9.

Förderkennzeichen: 2219WK23A4

Schwerpunkt Waldbau

Bedeutung der Streu für den Infektionsdruck auf Jungeschen

Falk Schrewe*

Technische Universität Dresden, Professur für Waldbau, Dresden
*Falk.Schrewe@tu-dresden.de

Das Eschentriebsterben ist eine seit den frühen 1990er Jahren in Europa auftretende Krankheit, die von Ostasien eingeschleppt worden ist und sich seitdem über den Kontinent verbreitet (Drenkhan et al. 2017). Auslöser ist das Falsche Weiße Stängelbecherchen *Hymenoscyphus fraxineus*, welches, obwohl für ostasiatische Eschenarten harmlos, in Europa zu dramatischen Absterbeereignissen an *F. excelsior* geführt hat (Langer et al. 2022). Die windverbreiteten Erregersporen können über Fiederblättchen in Rhachis, Trieb und Holzkörper vordringen. Nach dem Blattfall überwintert der Pilz in den Rhacheis, aus denen in der kommenden Vegetationsperiode Fruchtkörper gebildet werden (Koehl 2018).

In bisherigen Arbeiten konnte ein Einfluss der an der Mischung beteiligten Arten auf den Verlauf des Eschentriebsterbens nachgewiesen werden (Pušpure et al. 2017, Havrdová et al. 2017). Ebenso wie der Grad der Mischung entscheidend (Turczański 2020).

Der Effekt von Mischbaumarten auf das Eschentriebsterben ist vielschichtig. Ihr Vorhandensein sorgt ganz direkt für eine geringere Abundanz von potenziellen Wirtsindividuen (siehe *Dilution Effect*), aber auch, dass sie als physische Barriere die Ausbreitung von infektiösem Material und somit die Übertragungsrate beeinflussen (Hantsch et al. 2013).

Indirekt verringert eine vielfältige Wirtsgemeinschaft den Befall mit Krankheitserregern durch eine größere strukturelle Heterogenität, was wiederum auch durch eine größere mikroklimatische Heterogenität bewirkt werden könnte (siehe *Associational Resistance Hypothesis* in Tahvanainen & Root 1972).

Gleichzeitig mag das Laub der Mischbaumarten durch günstige chemische Eigenschaften zu einer erhöhten Abbaurate durch Bodenorganismen führen, dass die Rhacheis und somit der Pilz schneller zersetzt werden. Denn im Gegensatz zu den Fiederblättchen der Esche ist die Rhachis weitaus beständiger (Bartha et al. 2017). Zudem umschließt *H. fraxineus* die befallenen Rhacheis mit Pseudosklerotien, was den Abbau verlangsamt (Bartha et al. 2017), sodass die Apothecienbildung, wenn

auch immer geringer ausfallend, bis zu fünf Vegetationsperioden nach Blattfall noch beobachtet werden konnte (Kirisits 2015).

Die Erkenntnisse über den komplexen Einfluss von Mischbaumarten veranlassten uns, den Effekt der Streu auch *ceteris paribus* zu untersuchen. Das Ziel war es, die Symptome des Eschentriebsterbens unter verschiedenen Streumischungen zu untersuchen und baumartenspezifische Unterschiede aufzuzeigen. Der zugrunde liegenden Hypothese nach könnte ein verstärkter Abbau der Streu sich negativ auf das Wachstum der Apothecien auswirken – und damit folglich auf die Sporenbildung und den Krankheitsverlauf.

In den 25 Gewächshauskabinen wurden jeweils zehn Eschen gepflanzt. Dort wurden sie mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen an Streu von Eschen und Mischbaumarten in Kontakt gebracht (Abb. 1). Die Mischbaumarten wurden aufgrund ihrer häufigen Vergesellschaftung mit Esche ausgewählt und umfassen die Rot-Buche (*Fagus sylvatica*), den Berg-Ahorn (*Acer pseudoplatanus*) und die Winter-Linde (*Tilia cordata*). Deren Laub wurde mit dem eines infizierten Eschenbestandes nach Gewichtsanteilen zu 90:10 und 10:90 (bezogen auf 1 kg) in den Kabinen ausgebracht, wobei das der Eschen jeweils die untere Schicht bildet. Dies beruht auf der Beobachtung, dass Eschen in der Lage sind, eine Blattinfektion mit *H. fraxineus* zu erkennen und, um ein Einwachsen in den Ast zu verhindern, dieses frühzeitig abwerfen (Kirisits & Freinschlag 2012). Zudem wurde eine Variante ohne jegliche Streu sowie mit 100 % Eschenstreu angelegt. Alle Varianten wurden dreimal wiederholt und die Eschen halbjährlich bonitiert. 2022 gelang es in jeder Kabine mit Eschenstreu Apothecien festzustellen.

Um die Sporendichte auch unmittelbar zu messen, wurden passiv sammelnde Sporenfallen in jeder Kabine angebracht und wöchentlich geleert. Im Anschluss wird mittels qPCR die Sporenkonzentration ermittelt und verglichen.

Eine abschließende Auswertung steht noch aus. Vorläufig kann von einer Korrelation zwischen Menge von infiziertem Eschenlaub und Auftreten von Eschentriebsterbensymptomen ausgegangen werden.

Abbildung 1: Die Gewächshäuser mit Eschen. Um das Laub von infizierten Eschen und Mischbaumarten gleichmäßig zu verteilen mussten die Kabinen geöffnet werden.

Literatur

Bartha B, Mayer A, Lenz HD (2017): Acceleration of ash petiole decomposition to reduce *Hymenoscyphus fraxineus* apothecia growth – a feasible method for the deprivation of fungal substrate. Baltic Forestry 23:82-88.

Drenkhan R, Solheim H, Bogacheva A, Riit T, Adamson K, Drenkhan T, Maaten T, Hietala AM (2017): *Hymenoscyphus fraxineus* is a leaf pathogen of local *Fraxinus* species in the Russian Far East. Plant Pathol 66:490-500. https://doi.org/10.1111/ppa.12588.

Hantsch L, Braun U, Scherer-Lorenzen M, Bruelheide H (2013): Species richness and species identity effects on occurrence of foliar fungal pathogens in a tree diversity experiment. Ecosphere 4, 81. https://doi.org/10.1890/ES13-00103.1.

Havrdová L, Zahradník D, Romportl D, Pešková V, Černý K (2017): Environmental and silvicultural characteristics influencing the extent of ash dieback in forest stands. Baltic Forestry 23:168-182.

Kirisits T (2015): Ascocarp formation of *Hymenoscyphus fraxineus* on several-year-old pseudosclerotial leaf rachises of *Fraxinus excelsior*. For. Path. 45, 254–257. https://doi.org/10.1111/efp.12183

Kirisits T, Freinschlag C (2012): Ash dieback caused by *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in a seed plantation of *Fraxinus excelsior* in Austria. Journal of Agricultural Extension and Rural Development 4, 184–191. https://doi.org/10.5897/JAERD12.046

Koehl A (2018): Confirmation of the colonization path of *Hymenoscyphus fraxineus* from leaves to shoots in *Fraxinus excelsior*. Master thesis. Université de Rennes, Agrocampus Ouest. https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01962507/document

Langer GJ, Fuchs S, Osewold J, Peters S, Schrewe F, Ridley M, Kätzel R, Bubner B, Grüner G (2022): FraxForFuture—research on European ash dieback in Germany. J Plant Dis Prot, 129: 1285–1295. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00670-z.

Pušpure I, Matisons R, Laiviņš M, Gaitnieks T, Jansons J (2017): Natural regeneration of Common ash in young stands in Latvia. Baltic Forestry 23, 209–217.

Tahvanainen JO, Root RB (1972): The influence of vegetational diversity on the population ecology of a specialized herbivore, *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). Oecologia 10, 321–346. https://doi.org/10.1007/BF00345736

Turczański K (2020): Site conditions for decline of ash stands in Europe. Acta Scientiarum Polonorum Silvarum Colendarum Ratio et Industria Lignaria 19, 67–73. https://doi.org/10.17306/J.AFW.2020.2.7

Förderkennzeichen: 2219WK23B4

Weitere Informationen zu FraxForFuture, den Forschungsprojekten und Ergebnissen finden Sie hier:

www.fraxforfuture.de