



Universität für Bodenkultur Wien

**Präsentation
von geförderten Projekten
der Stiftung
„120 Jahre Universität
für Bodenkultur“**

**Elektronische Publikation
zur Vortragsveranstaltung
der Stiftung am 11.03.2014**

Martin H. Gerzabek (Hrsg.)
Rektor &
Josef GlöbI (Hrsg.)
Vize rektor für Forschung
und Internationale Forschungskooperation

IMPRESSUM

Präsentation
von geförderten Projekten
der Stiftung „120 Jahre Universität
für Bodenkultur“

HERAUSGEBERIN
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor-Mendel-Straße 33
A-1180 Wien
www.boku.ac.at

Herausgegeben im März 2014

REDAKTION UND LAYOUT

Mag.^a Marion Mitter
Forschungsservice
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor-Mendel-Straße 33
A-1180 Wien, Austria
Tel.: +43 (0)1 47654-1032
Fax: +43 (0)1 47654-2603
marion.mitter@boku.ac.at
www.boku.ac.at/fos-foerderungen.html



Martin H. Gerzabek
Rektor der Universität für Bodenkultur Wien

Foto: Robert Newald

Geleitwort

Die Universität für Bodenkultur Wien steht für nachhaltige Nutzung der natürlichen Ressourcen, ein Konzept, das vor mehr als 300 Jahren aus der Forstwirtschaft heraus entwickelt wurde. Gerade heute, in Zeiten eines nie dagewesenen Hungers der Menschheit nach Biomasse für vielfältigste Nutzungen und des Klimawandels, sind praxismgerechte aber wissenschaftsbasierte Innovationen und Managementkonzepte in der Forstwirtschaft notwendig. Die zunehmende Bevölkerungsdichte in vielen Regionen der Welt und das sich ändernde Freizeitverhalten führen zu unterschiedlichsten Nutzungsansprüchen. Tourismus, Naturschutz, Jagd und etwa Schutz vor Naturgefahren sind mit den Erfordernissen einer nachhaltigen Forstwirtschaft in Einklang zu bringen. Forstwissenschaftliche Forschung ist daher gerade heute auf hohem Niveau gefragt und höchst notwendig. Die Universität für Bodenkultur Wien hat in ihren einschlägigen Departments eine international hoch angesehene und auch nachgefragte Expertise in den Forstwissenschaften anzubieten. So nimmt sie seit 2012 einen Platz unter der Top 100 Universitäten im Bereich der Land- und Forstwirtschaft ein. Zukunftsorientiert ist es, den wissenschaftlichen Nachwuchs zu stärken und zu unterstützen.

Zum Glück gibt es im Umfeld der BOKU immer wieder Menschen, die als Gönner auftreten und gerade in den wissenschaftlichen Nachwuchs investieren. Einer davon, der bereits über Jahrzehnte den wissenschaftlichen Nachwuchs fördert, ist unser Absolvent und Ehrensator Dipl.-Ing. Rupert Hatschek, dem an dieser Stelle mein besonderer Dank gilt. Er hat bereits 1992 eine Stiftung an der BOKU – „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ - zur Unterstützung der forstwissenschaftlichen Forschung begründet, mit viel persönlichem Einsatz vorangetrieben und mit seinem Fachwissen - auch als Mitglied des Kuratoriums bei der Auswahl der Projekte ganz wesentlich bereichert. Zahlreiche NachwuchswissenschaftlerInnen kamen in der Zwischenzeit in den Genuss von Förderungen der von ihnen vorgeschlagenen Projekte und konnten damit das forstwissenschaftliche Fachwissen vermehren und die eigene wissenschaftliche Karriere weitertreiben. Die vorliegende Publikation gibt die Ergebnisse einiger, der in den Jahren 2009 bis 2011 durchgeführten, und in der Vortragsveranstaltung am 11. März 2014 an der BOKU präsentierten Projekte, wieder. Diese Veranstaltung ist das dritte einschlägige Symposium, das in dieser Form die Ergebnisse der aus der Stiftung geförderten Projekte der interessierten Öffentlichkeit vorstellt.

Ich danke den AutorInnen für die Mitwirkung und wünsche den geneigten LeserInnen eine anregende Lektüre.

Martin H. Gerzabek

Rektor



Ehrensator DI Rupert Hatschek
Stifter

Vorwort

Die BOKU hat im Vergleich der internationalen Universitäten eine gute Position. Mit diesem Ergebnis können wir sehr zufrieden, ja auch stolz sein. Es wird unsere Leistung international anerkannt und über Österreich wird positiv berichtet.

Mit ausschlaggebend für die gute Beurteilung der BOKU ist ohne Zweifel die rege Forschungstätigkeit auf vielen Gebieten. Die Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ trägt ihr Scherflein zur Forschung auf dem Gebiet der Forstwirtschaft bei. Bis heute konnte an 49 PreisträgerInnen eine Summe von ca. € 190.000,- verteilt werden.

Heute kommen wir zusammen, um fünf Forscherinnen und Forschern Gelegenheit zu geben, ihre Arbeiten und sich selbst vorzustellen. Ich hoffe, diese Präsentationen helfen nicht nur den jungen WissenschaftlerInnen in ihrer Laufbahn, sie mögen auch die forstliche Forschung, die lebensnotwendig ist, anregen und die Verbindung zwischen Bodenkultur und Praxis vertiefen.

Rupert Hatschek

Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“

Inhalt

PROJEKTE

Auswirkungen des Klimawandels auf die Böden eines alpinen Karstökosystems: Resultierende Effekte auf die ökologischen Bodenfunktionen Mag.^a Dr.ⁱⁿ Ika Djukic	1
Waldbauliche Analyse des Eiben-Generhaltungswaldes in Bad Bleiberg, Kärnten Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Harald Vacik	14
Untersuchungen zum Eschentriebsterben in Eschen-Samenplantagen in Österreich Dipl.-Ing. Christian Freinschlag	25
Immunabwehr von Nonnenraupen (<i>Lymantria monacha</i> L.) nach Parasitierung durch Schlupfwespen Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Christa Schafellner	43
Phylogeography of the eight spined larch bark beetle, <i>Ips cembrae</i> (Coleoptera, Scolytinae), in the Palearctic and consequences for bark beetle control Mag.^a DIⁱⁿ Raffaella Schaidreiter	55
Ausschreibung 2013 der Stiftung	66

Die PreisträgerInnen



Mag.ª Dr.ª Ika Djukic



Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr. Harald Vacik



Dipl.-Ing. Christian Freinschlag



Priv.-Doz.ª Dr.ª Christa Schafellner



Mag.ª DIª Raffaella Schaidreiter



Auswirkungen des Klimawandels auf die Böden eines alpinen Karstökosystems: Resultierende Effekte auf die ökologischen Bodenfunktionen

Climate Change Impacts on Alpine Soils: Effects on the Ecological Soil Functions

Climate Change Impacts on Alpine soils

Ika Djukic

Mentoren: Martin Gerzabek & Franz Zehetner

Zusammenfassung

Die Dissertationsschrift fasst meine Forschungsarbeiten über die wechselseitigen Einwirkungen sich ändernder klimatischer Bedingungen und der Vegetationszusammensetzung auf alpine Bodeneigenschaften und -prozesse sowie die Kohlenstoffumsatzdynamik während des Streuabbaus zusammen. Dabei zeigt sich, dass die Änderungen in Quantität und Qualität der organischen Substanz sowie die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften vorwiegend von der vorherrschenden Vegetationszusammensetzung, den Kohlenstoffeinträgen sowie der Streuqualität mitbestimmt waren. Eine Bodenerwärmung von 1.5 bzw. 2.7°C, die mittels Translokation simuliert wurde, führte zu einer beschleunigten Umsetzung von zugegebenem Maiskohlenstoff. Der resistente Kohlenstoffpool reagierte dabei stärker auf die experimentelle Bodenerwärmung als der labile Pool. Die Änderung der Substratquantität und -qualität im Verlauf des Abbaus scheint dabei weniger Einfluss auf die mikrobielle Zusammensetzung zu haben, als die jeweiligen Umwelt- / Standortbedingungen, an welche sich die Mikroorganismen relativ schnell angepasst haben. Beide, Langzeit- und Kurzzeitstudie unterstreichen die Wichtigkeit der Berücksichtigung von unterschiedlichen Parametern, zusätzlich zum Klima, für das bessere Verständnis und die Simulation von biogeochemischen Stoffkreisläufen in alpinen Ökosystemen.

Abstract

The dissertation dossier summarizes my research work on mutual effects of changing climatic conditions and shifting vegetation zones on alpine soil properties and processes as well as C turnover dynamics during the litter decomposition. The studies revealed that the soil organic matter quantity and quality as well as the microbial community composition are strongly affected by the vegetation composition, their C input and litter quality. A simulated soil warming of 1.5 and 2.7°C, respectively, by the altitudinal soil translocation experiment, resulted in a significantly accelerated turnover of added maize carbon; whereby the resistant carbon pool responded much stronger to experimental warming compared to the labile pool. The microbial community composition and function significantly affected substrate decomposition rates only in the later stage of decomposition and appeared to be more influenced by prevailing environmental / site conditions than by changes in substrate quantity and quality in the course of the decomposition. Both long-term and short-term studies highlighted the importance of different variables, besides temperature, in decomposition processes; hence, their consideration in modeling studies is of eminent relevance for a better understanding and simulation of biogeochemical cycling in alpine environments.

1. Introduction

Global warming and associated environmental changes are predicted to be particularly pronounced at temperate Alpine and high latitude zones this century (IPCC 2001; ACIA 2005). Given that mountain regions occupy one fifth of the earth's continental areas and comprise a high percentage of the total global soil carbon pool, it can be assumed that even small changes in mineralization rates of these large soil pools could have significant effects on the concentration of atmospheric CO₂.

However, the future dynamics of organic carbon in the soils, whether soil will function as a C sink or source, is still uncertain and is one of the key issues in climate change research. Since global change affects different factors (e.g., climatic variables, vegetation and soil properties) it is of essential importance to integrate and study the multitude of parameters that characterize physical, chemical and biological changes for a better fundamental understanding of global change scenarios. A parameter such as soil organic matter (SOM) deserves special attention in this context because of its key role in many important soil processes, its rapid response to environmental changes, and its feedback to the atmospheric climate system.

The overall objective of our study was to enhance the understanding of climate change impacts on SOM dynamics in alpine ecosystems at different temporal scales.

The specific objectives were:

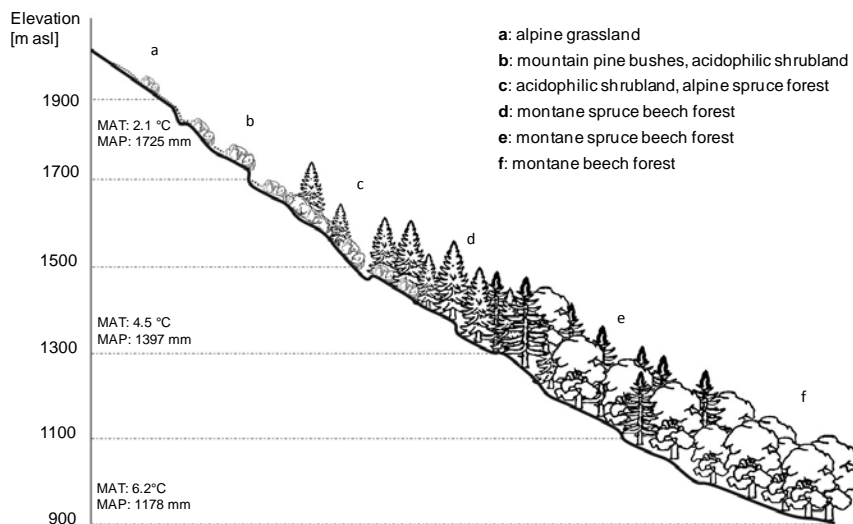
- To characterize the long-term steady state of SOM quantity and quality along an elevation gradient (900 to 1900 meters above sea level) by using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Simultaneous Thermal Analysis.

- To analyse the long-term steady state of microbial community composition and activity along the studied elevation gradient by using Phospholipid Fatty Acid, Ergosterol Analysis and Dimethyl Sulphoxide Reduction.
- To monitor translocation-induced short-term changes in C turnover dynamics, microbial community composition and function during decomposition of isotopically labelled plant litter by using isotope ratio mass spectroscopy.

2. Soil climatic gradients (climosequences)

In the Alpine area the major part of ecosystem carbon (> 92%) is located in SOM fractions with the rest in the live biomass (3-5%) and dead plant mass and litter (2-3%), respectively (KÖRNER 2003). Despite the low productivity in cool and moist biomes, organic matter accumulates because the substrate decomposition is limited by the climatic and edaphic conditions. Hence, any changes that could influence the balance between input and output will consequently also influence the SOC stocks. Rising temperatures may cause shifts in vegetation composition, which in turn will influence the chemical composition, the “quality”, of SOM and implies changes in the soil microbial structure and microbial activity. These alterations can have direct consequences on biogeochemical processes that affect ecosystem functioning and soil C storage in alpine environments.

In this context, mountain environments are well suited for the study of climate impacts because of pronounced climatic gradients, or climosequences, within short distances (Fig.1). Along these climosequences, factors



such as vegetation composition and snow cover regimes, that are predicted to shift with climate change, can be investigated simultaneously under field conditions. Moreover, the altitudinal gradients reflect adapted systems to the long-term prevailing climatic

conditions and are well suited to study long-term effects of climatic conditions on soil properties and processes.

Fig.1 Studied climosequence at the Hochschwab massif

2.1 Long-term changes of soil organic matter and soil microbial community along an altitudinal climosequence

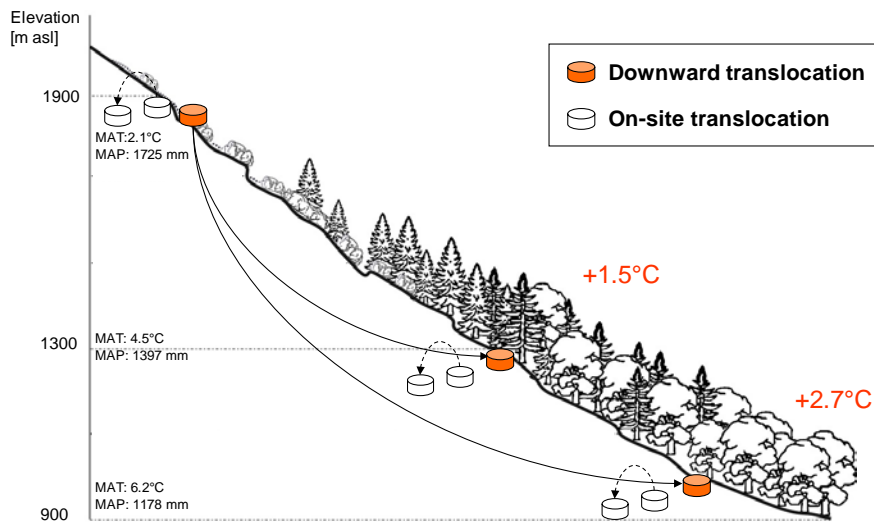
Many climosequence studies report soil organic carbon (SOC) and N concentrations / stocks to increase with decreasing temperature (e.g. HART and PERRY, 1999; GANUZA and ALMENDROS, 2003; GARTEN, 2004; KANE et al., 2005; KUEPPERS and HARTE, 2005; DAI and HUANG, 2006); however, the findings in the literature are not unequivocal. For example, LEIFELD et al. (2005) showed that while SOC concentrations under permanent grassland increased linearly with altitude in the Swiss Alps, no relationship was found between altitude and SOC stocks, which was a result of shallow soils and high rock contents at high elevations. GARCIA-PAUSAS et al. (2007) even reported decreasing SOC stocks with increasing elevation in grasslands of the Pyrenees, which they attributed to temperature limitation of net primary production. In our studies in the Austrian Limestone Alps, we found increasing SOC stocks from 900 to 1500 m above sea level (asl), which decreased again from 1500 to 1900 m asl (DJUKIC et al., 2010). We attributed this decrease mainly to harsh climate and short growing seasons at high elevations, which limits net primary production and C inputs to the soil. Several climosequence studies have provided insight into the temperature-dependence of OM turnover dynamics under natural steady-state conditions. For example, SIMMONS et al. (1996) reported slower forest floor OM decomposition under cooler conditions along a climatic gradient. HITZ et al. (2001) found that in alpine grasslands, above-ground phytomass, production rate and turnover time decreased while the importance of below-ground phytomass and its production rate increase with altitude. KANE et al. (2003) reported decreasing soil respiration with decreasing temperature and shorter growing season along an elevation gradient. Likewise, GARTEN (2004) reported in-situ loss rate of ^{13}C from labeled forest soils to be inversely related to elevation and directly related to mean annual temperature. On the other hand, KUEPPERS and HARTE (2005) found no significant climate trends of total annual soil CO_2 flux along a climatic gradient in the Rocky Mountains. Recent studies on litter decomposition along climatic gradients have confirmed the influence of temperature and moisture on decomposition processes, but also emphasized the importance of litter composition / quality in this context (SJÖGERSTEN and WOOKEY, 2004; CORNELISSEN et al., 2007; PARTON et al., 2007). CORNELISSEN et al. (2007) concluded that the warming-induced expansion of shrubs with recalcitrant leaf litter across cold biomes could actually result in a negative feedback to global warming. Other climosequence studies have revealed climate-induced differences in SOM characteristics and soil microbial community composition. AMELUNG et al. (1997) reported that polysaccharides persisted less and alkyl structures were enriched in warmer areas of the Great Plains prairie. AMELUNG et al. (1999a) found that increasing precipitation and temperature led to decreasing proportions of bacterial-derived amino sugars and increasing proportions of glucosamine (produced by fungi) in native grassland soils. In the finer particle size fractions of the same soils, the degree of lignin decomposition decreased with increasing temperature, possibly because there was a lack of additional C sources needed for the cometabolic decay of lignin (AMELUNG et al., 1999b). MARTIN-NETO et al. (1998) showed that OM humification increased with increasing rainfall in an arid-to-humid climosequence of the Argentine Pampa grassland. FAZ CANO et al. (2002) reported that soils of the mesomediterranean zone had a higher content of O-

alkyl C and a lower content of aromatic C than soils of the warmer thermomediterranean zone of southern Spain. KANE et al. (2005) showed that the proportion of (relatively labile) light -fraction SOM decreased with increasing heat sum in interior Alaska. Similarly, DALMOLIN et al. (2006) found increasing proportions of O-alkyl C with increasing elevation (cooler and moister climate) in southern Brazil, which indicates accumulation of OM with larger carbohydrate contents and is a sign of a lower degree of OM decomposition. In our studies in the Austrian Limestone Alps, we found the aliphatic Fourier-transform infrared (FTIR) band (2920 cm⁻¹) to be lower in low-elevation forest sites compared to high-elevation shrubland and grassland sites; however, most other FTIR bands did not change with altitude but were related to specific site conditions, such as vegetation composition and associated differences in soil pH (DJUKIC et al., 2010). A few studies have pointed out shifts in microbial community composition along altitudinal / climatic gradients. For example, in the Austrian Central Alps, the fungal population and relative amount of Gram-negative bacteria increased with increasing elevation (MARGESIN et al., 2009), while decreasing diversity of soil fungi with increasing elevation had been reported earlier (SCHINNER and GSTRANTHALER, 1981). FURTHERMORE, MA et al. (2004) reported for China and GIRI et al. (2007) for India that bacterial population was negatively correlated with elevation. In contrast, MÄNNISTÖ et al. (2007) found that microbial community composition in tundra soils was relatively similar at different elevations as long as the soil pH was similar. Also, changes in microbial activity have been reported along altitudinal /climatic gradients. Soil microbial activity measured by dehydrogenase activity (MARGESIN et al., 2009), other enzyme activities and CO₂-evolution (SCHINNER, 1982) decreased with increasing elevation (and decreasing temperature). However, in the former study (MARGESIN et al., 2009), relative microbial activities (relative to the activity at optimum temperature) were significantly higher in alpine than in subalpine soils, which shows that soil microorganisms may be well adapted to the prevailing climatic conditions. Climate warming is expected to cause an upward migration of vegetation zones (e.g. DULLINGER et al., 2003), which will entail changes in microbial community composition and function in a given elevation zone. In our studies in the Austrian Limestone Alps, we found the fungal biomarkers ergosterol and phospholipid fatty acid (PLFA) 18:2w6,9 to be significantly higher in low-elevation forest sites compared to high-elevation shrubland and grassland sites; however, again soil pH was an important determinant of other microbial parameters, such as bacterial PLFAs and microbial activity (DJUKIC et al., 2010).

3. SOM warming experiments

Different experimental approaches (laboratory versus in-situ) have been used for quantifying the temperature dependence of SOM decomposition. While laboratory studies can provide valuable information on the direction of change and elucidate the mechanisms involved, their extrapolation to natural conditions is often limited. Recently, soil warming experiments have been carried out in the field in an attempt to simulate the expected effects of increases in soil temperature under conditions closer to those in the real world. Artificial soil warming has been achieved by controlled climate chambers (e.g. KANDELER et al., 1998; LOISEAU and SOUSSANA, 1999; HOBBIÉ et al., 2004), plastic roofing and enclosures (e.g. EMMETT et al.,

2004; RINNAN et al. 2007), buried heating cables (e.g. GRIME et al., 2000; ELIASSON et al., 2005; HAGEDORN et al., 2010) or overhead infrared radiators (e.g. LUO et al., 2001; PASTOR et al., 2003; ZHANG et al., 2005). In an increasing number of research studies, soil warming was accomplished through translocation of soil monoliths from colder to warmer areas, often from high-elevation to low-elevation zones along mountain slopes (e.g. HART and PERRY, 1999; MAKAROV et al., 2003; EGLI et al., 2004; ZIMMERMANN et al., 2009; Fig.2).



One of the advantages of the latter mentioned experimental design over artificial soil heating is, that the downward soil translocation simulates not

only soil warming but also associated shifts of vegetation zones and snow cover regimes, which can have an important impact on SOM dynamics.

Fig. 2 Altitudinal soil core translocation in the studied area

Moreover, problems with the occurrence of a temperature gradient with increasing distance from heating cables are omitted in such an experimental set up. On the other hand, a weakness of this technique is that during the excavation of the soil cores, the plant roots may become injured and the availability of oxygen changes for a short time. Therefore, it is important to identify and separate transplanting effects from the effects of warmer climate. This is usually resolved by transplanting reference soil cores on the studied sites close to their original position. Additionally, the use of open or closed soil cores has been noted to affect the results (BOTTOMLEY et al 2006) and the method of choice will depend on the research questions.

3.1 Translocation-induced short-term changes in C turnover dynamics, microbial community composition and function during decomposition of isotopically labeled plant litter

Decomposition is defined as the breakdown of substrate through the act of fragmentation, leaching and chemical degradation into CO₂ and nutrients (CHAPIN et al., 2002). In general, decomposition of organic substrate is controlled by environmental conditions (temperature, moisture), substrate quantity, quality and microbial community abundance and composition (GAVAZOV, 2010). Although, microorganisms take up a very important space in SOM and litter decomposition, little is known about their regulating impacts in the course of decomposition. Additionally, the responses of C

mineralization to temperature can be highly ecosystem specific (SCHMIDT et al., 1999) and more research is needed for a better understanding of soil processes in various ecosystems. In general, the response of C mineralization to temperature can be highly ecosystem specific (SCHMIDT et al., 1999). For instance, TEKLAY et al. (2010) reported that an addition of sucrose to soils from hybrid poplar stands in Alberta resulted in a higher mineralization rate at lower (5 °C) but not at elevated temperature (15 °C), whereas PANIKOV (1999) observed an opposite response for tundra soil. Some long-term studies have shown that initially accelerated decomposition rates declined with prolonged warming (RUSTAD et al., 2001; KNORR et al., 2005; DAVIDSON & JANSSENS, 2006) as a result of a decrease in soil C content and quality as well as microbial biomass and activity over time (FREY et al., 2008; STEINWEG et al., 2008). Similar in our study, changes in the biomass of different microorganism groups were related to changes in the quality of organic substrates over time. This was apparent in the change of the abundance between Gram-negative and Gram-positive bacteria. The observed shift is likely due to the decrease in easily decomposable organic substrate with the succession of decay, for which the Gram negative bacteria may be more competitive (KOURTEV et al., 2003). In several studies, a similar pattern after substrate addition has been observed (BOSSIO & SCOW, 1995; WALDROP & FIRESTONE, 2004). In contrast, changes in substrate quantity and quality in the course of the decomposition appeared to have less influence on the microbial community composition and its substrate utilization than the prevailing environmental/site conditions, to which the microbial community adapted quickly upon change. Indeed, broad scale processes (e.g. metabolism of simple C compounds) that are performed by many groups of microorganisms appear to have minor influence on microbial community composition (SCHIMMEL, 1995; BALSER & FIRESTONE, 2005). Also, microbial incorporation of added maize C was only slightly different among the sites and was carried out by all microorganism groups. As noted by WALDROP & FIRESTONE (2006b), the groups active on specific substrates may be very similar to one another, even in communities with a different overall composition.

A simulated mean annual soil warming (through downslope translocation) of 1.5 and 2.7 °C, respectively, resulted in an increase of microbial biomass relative to the origin site. Changes in microbial community composition appeared either immediately (high-elevation grassland soil translocated to the lowelevation beech forest; mean soil warming of 2.7 °C) or after 2 years (high-elevation grassland soil translocated to the mid-elevation conifer forest site; mean soil warming of 1.5 °C). Similarly, rapid changes in soil biology were observed by VANHALA et al. (2011) after transplanting soil from north to south boreal forests with a temperature increase of approximately 4.5 °C. In our study, the observed changes in microbial community composition reflect adaptation of the microbial community to the new climatic and site conditions as well as to the changes in substrate availability and quality over time. This is in agreement with the findings of BRADFORD et al. (2008).

The current understanding is that the decomposition of litter and SOM is governed by environmental conditions, substrate availability, microbial community abundance, and composition (GAVAZOV, 2010). Our study shows that different climatic conditions along the studied elevation gradient and related differences in vegetation composition, physicochemical soil properties and abundance and structure of soil microorganism groups exert an influence on litter decomposition at different points in time and to differ-

ent extents. Immediately after the start of our isotope decomposition experiment (within 2 weeks), we did not observe any significant relationships between potential control factors and maize C decomposition. It has been reported that initially, soil preparation procedures (such as sieving and homogenizing of soil) causing a change in oxygen availability, as well as soil coring can affect soil microbial community functioning (PETERSEN & KLUG, 1994; BALSER & FIRESTONE, 2005; VANHALA et al., 2011). In our case, it is likely that the experimental setup as well as the addition of a relatively large amount of substrate has masked the effects of the investigating parameters at this stage of decomposition. With progressing decomposition (within 1 year), the impact of environmental and site variables (i.e. soil temperature and pH, both showing a positive effect) on maize C decomposition became apparent, while the C incorporation among different microbial groups did not play a significant role. At this stage, still high proportions of TotalPLFA-C derived from maize straw indicate that sufficient substrate availability precludes the differentiation in substrate use among the microbial groups. It is likely that 1 year post addition of maize straw, the incorporation of the ^{13}C originates partly also from accruing microbial residues. In the second year of the experiment, a possible soil coring effect on the microbial community should not be significant anymore (BALSER & FIRESTONE, 2005) and prolonged decomposition should have decreased substrate availability and increased substrate complexity (JOERGENSEN et al., 1990; WALDROP & Firestone, 2006b). As a result, the involvement of different microbial groups in the degradation process became a determinant factor in controlling litter decomposition at this stage.

4. Conclusions and Outlooks

Altitudinal gradients represent an important methodological tool for the study of climate change impacts on soil ecosystems since they comprised a multitude of parameters, beside temperature, that characterize physical, chemical and biological changes for a better fundamental understanding of global change scenarios.

Along the studied elevation gradient in the Austrian Limestone Alps, SOC stocks and characteristics as well as microbial community composition and activity did not consistently change with elevation, but rather reflected differences in vegetation composition and decomposition conditions at different sites. An upward movement of vascular plants in alpine environments, as an effect of global warming, could result in a shift of microbial community composition, which can have important consequences for ecosystem functioning and should be of considerable interest for future research.

Our soil warming simulation study demonstrates that rising temperatures in alpine ecosystems will accelerate decomposition of litter carbon, especially in the more resistant pools. On the other hand, microorganisms seem to be able to adapt quite fast to the new climatic / site conditions. This may have important implication for modelling and predicting the potential impact of global change on soil carbon efflux. However, the findings in the literature remain equivocal and more research is needed towards this issue.

Acknowledgements

I wish to thank my supervisors, Martin Gerzabek and Franz Zehetner, for their support and advice during the project. I am also grateful to Michael Bierbaumer for his help during the fieldwork.

References

- AERTS R (1997). Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: A triangular relationship. *Oikos*, 79, 439-449.
- AERTS R (2006). The freezer defrosting: Global warming and litter decomposition rates in cold biomes. *Journal of Ecology*, 94, 713-724.
- ÅGREN GI, BOSATTA E (1996). Quality: A bridge between theory and experiment in soil organic matter studies. *Oikos*, 76, 522-528.
- AMELUNG W, KW FLACH and W ZECH (1997). Climatic effects on soil organic matter composition in the great plains. *Soil Science Society of America Journal* 61, 115-123.
- AMELUNG W, X ZHANG, K W FLACH and W ZECH (1999a). Amino sugars in native grassland soils along a climosequence in North America. *Soil Science Society of America Journal* 63, 86-92.
- AMELUNG W, KW FLACH and W ZECH (1999b). Lignin in particle-size fractions of native grassland soils as influenced by climate. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1222-1228.
- ARCTIC MONITORING and ASSESSMENT PROGRAM (2005). *Impacts of a Warming Climate—Arctic Climate Impact Assessment*. Cambridge: Cambridge University Press.
- BALSER TC, FIRESTONE MK (2005). Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. *Biogeochemistry*, 73, 395-415.
- BENISTON M (2010). Impacts of climatic change on water and associated economic activities in the Swiss Alps. *Journal of Hydrology*. *Journal of Hydrology*, 412-413, 291-296.
- BERG B, JOHANSSON MB, MEENTEMEYER V (2000). Litter decomposition in a transect of Norway spruce forests: Substrate quality and climate control. *Canadian Journal of Forest Research*, 30, 1136-1147.
- BERG B, MCCLAUGHERTY CA (2008). *Plant litter. Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Springer-Verlag, second edition, Berlin Heidelberg.
- BOSSIO DA, SCOW KM (1995). Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 4043-4050.
- BOTTOMLEY PJ, YARWOOD, RR KAGEYAMA, SA WATERSTRIPE, KE WILLIAMS, MA et al. (2006). Responses of soil bacterial and fungal communities to reciprocal transfers of soil between adjacent coniferous forest and meadow vegetation in the Cascade Mountains of Oregon. *Plant and Soil*, 289, 35-45.
- BRADFORD MA, DAVIES CA, FREY SD et al. (2008). Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters*, 11, 1316-1327.
- CANNONE N, SGORBATI S, GUGLIELMIN M (2007). Unexpected impacts of climate change on alpine vegetation. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 360-364.
- CHAPIN FS, MATSON PA, MOONEY HA (2002). Terrestrial decomposition. In *principles of terrestrial ecosystem ecology*. (eds FS Chapin III, PA Matson and HA Mooney), pp 151-175. Springer, New York.

- CORNELISSEN JHC, PM.van BODEGOM, R Aerts, TV CALLAGHAN, RSP van LOGTESTIJN, et al. (2007). Global negative vegetation feedback to climate warming responses of leaf litter decomposition rates in cold biomes. *Ecology Letters* 10, 619-627.
- DAI WH and Y HUANG (2006). Relation of soil organic matter concentration to climate and altitude in zonal soils of China. *Catena* 65, 87-94.
- DALMOLIN RSD, CN GONCALVES, DP DICK, H KNICKER, E KLAMT, et al. (2006). Organic matter characteristics and distribution in Ferralsol profiles of a climosequence in southern Brazil. *European Journal of Soil Science* 57, 644-654.
- DAVIDSON EA, JANSSENS IA (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440, 165-173.
- DJUKIC I, F ZEHETNER, M TATZBER, and MH GERZABEK (2010). Soil organic-matter stocks and characteristics along an Alpine elevation gradient. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, 30-38.
- DJUKIC I, F ZEHETNER, A MENTLER, and MH GERZABEK (2010). Microbial community composition and activity in different Alpine vegetation zones. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 155-161.
- DULLINGER S, T DIRNBÖCK and G. GRABHERR (2003). Patterns of shrub invasion into high mountain grasslands of the Northern Calcareous Alps, Austria. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 35, 434-441.
- EGLI M, HITZ C, FITZE P, MIRABELLA A (2004). Experimental determination of climate-change effects on above-ground and below-ground organic matter in alpine grasslands by translocation of soil cores. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167, 457-470.
- EKSCHMITT K, KANDELER E, POLL C et al. (2008). Soil-carbon preservation through habitat constraints and biological limitations on decomposer activity. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171, 27-35.
- ELIASSON PE, MCMURTRIE RE, PEPPER DA, STROMGREN M, LINDER S et al. (2005). The response of heterotrophic CO₂ flux to soil warming. *Global Change Biology*, 11, 167-181.
- EMMETT BA, BEIER C, ESTIARTE M, TIETEMA A, KRISTENSEN HL et al. (2004). The response of soil processes to climate change: Results from manipulation studies of shrublands across an environmental gradient. *Ecosystems*, 7, 625-637.
- FAZ CANO A, AR MERMUT, R ORTIZ, MB BENKE and B CHATSON (2002). C-13 CP/MAS-NMR spectra, of organic matter as influenced by vegetation, climate, and soil characteristics in soils from Murcia, Spain. *Canadian Journal of Soil Science* 82,403-411.
- FREY SD, DRIJBER R, SMITH H, MELILLO J (2008). Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2904-2907.
- GANUZA A and G ALMENDROS (2003). Organic carbon storage in soils of the Basque Country (Spain): the effect of climate, vegetation type and edaphic variables. *Biology and Fertility of Soils* 37, 154-162.
- GARTEN CT (2004). Potential net soil N mineralization and decomposition of glycine-C-13 in forest soils along an elevation gradient. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1491-1496.
- GARCIA-PAUSAS J, P CASALS, L CAMARERO, C HUGUET, MT SEBASTIA, et al. (2007). Soil organic carbon storage in mountain grasslands of the Pyrenees: effects of climate and topography. *Biogeochemistry* 82, 279-289.
- GAVAZOV KS (2010). Dynamics of alpine plant litter decomposition in a changing climate. *Plant and Soil*, 337, 19-32.

- GHOLZ HL, WEDIN DA, SMITHERMAN SM, HARMON ME, PARTON WJ (2000). Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: Toward a global model of decomposition. *Global Change Biology*, 6, 751-765.
- GIRI DD, PN SHUKLA, S KASHYAP, P SINGH, AK KASHYAP, et al. (2007). Variation in methanotrophic bacterial population along an altitude gradient at two slopes in tropical dry deciduous forest. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2424-2426.
- GRIME JP, BROWN VK, THOMPSON K, MASTERS GJ, HILLIER SH, CLARKE IP et al. (2000). The response of two contrasting limestone grasslands to simulated climate change. *Science*, 289, 762-765.
- HAGEDORN F, MARTIN M, RIXEN C, RUSCH S, BEBI P, ZÜRCHER A, SIEGWOLF RTW, WIPF S, ESCAPE C, ROY J, HÄTTENSCHWILER S (2010). Short-term responses of ecosystem carbon fluxes to experimental soil warming at the Swiss alpine treeline. *Biogeochemistry*, 97,7-19.
- HART SC and DA PERRY (1999). Transferring soils from high-to low-elevation forests increases nitrogen cycling rates: climate change implications. *Global Change Biology* 5, 23-32.
- HITZ C, M EGLI and P FITZE (2001). Below-ground and above-ground production of vegetational organic matter along a climosequence in alpine grasslands. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 389-397.
- HOBBIE EA, JOHNSON MG, RYGIIEWICZ PT, TINGEY DT, OLSZYK DM (2004). Isotopic estimates of new carbon inputs into litter and soils in a four-year climate change experiment with Douglas-fir. *Plant and Soil*, 259, 331-343.
- IPCC (2007) Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M & Miller HL, eds), Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York.
- JOERGENSEN RG, BROOKES PC, JENKINSON DS (1990). Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 22, 1129-1136.
- KANDELER E, TSCHERKO D, BARDGETT RD, HOBBS PJ, KAMPICHLER C, et al. (1998). The response of soil microorganisms and roots to elevated CO₂ and temperature in a terrestrial model ecosystem. *Plant and Soil*, 202, 251-262.
- KANE ES, KS PREGITZER and AJ BURTON (2003). Soil respiration along environmental gradients in Olympic National Park. *Ecosystems* 6, 326-335.
- KANE ES, DW VALENTINE, EAG SCHUUR and K DUTTA (2005). Soil carbon stabilization along climate and stand productivity gradients in black spruce forests of interior Alaska. *Canadian Journal of Forest Research* 35, 2118-2129.
- KNORR W, PRENTICE IC, HOUSE JI, HOLLAND EA (2005). Long-term sensitivity of soil carbon turnover to warming. *Nature*, 433, 298-301.
- KÖRNER CH (1999) Alpine plant life. Springer, Heidelberg.
- KOURTEV PS, EHRENFELD JG, HAGGBLOM M (2003). Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 895-905.
- KUEPPERS, LM and J HARTE (2005). Subalpine forest carbon cycling: short-and long-term influence of climate and species. *Ecological Applications* 15, 1984-1999.
- LEIFELD J, S BASSIN and, J FUHRER (2005). Carbon stocks in Swiss agricultural soils predicted by land-use, soil characteristics, and altitude. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 105, 255-266.

- LOISEAU P, SOUSSANA JF (1999). Elevated [CO₂], temperature increase and N supply effects on the accumulation of below-ground carbon in a temperate grassland ecosystem. *Plant and Soil*, 212, 123-134.
- LUO YQ, WAN SQ, HUI DF WALLACE LL (2001). Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature*, 413, 622-625.
- MAKAROV, B GLASER, W ZECH, T MALYSHEVA, I BULATNIKOVA (2003) Nitrogen dynamics in alpine ecosystems of the northern Caucasus. *Plant and Soil*, 256, 389-402.
- MARGESIN R, M Jud, DTSCHERKO and F SCHINNER (2009). Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS Microbiology Ecology* 67, 208-218.
- MARTIN-NETO L, R ROSELL and G SPOSITO (1998). Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma* 81, 305-311.
- MAX, T CHEN, G ZHANG and R WANG (2004). Microbial community structure along an altitude gradient in three different localities. *Folia Microbiologica* 49, 105-111.
- MÄNNISTÖ MK, M TIIROLA and MM HAGGBLOM (2007). Bacterial communities in Arctic fjelds of Finnish Lapland are stable but highly pH-dependent. *FEMS Microbiology Ecology* 59, 452-465.
- PANIKOV NS (1999) Understanding and prediction of soil microbial community dynamics under global change. *Applied Soil Ecology*, 11, 161-176.
- PASTOR J, SOLIN J, BRIDGHAM SD, UPDEGRAFF K, HARTH C, WEISHAMPEL P, DEWEY B (2003) Global warming and the export of dissolved organic carbon from boreal peatlands. *Oikos*, 100, 380-386.
- PARTON W, WL SILVER, IC BURKE, L GRASSENS, ME HARMON, et al. (2007). Global-scale similarities in nitrogen release patterns during long-term decomposition. *Science* 315, 361-364.
- PETERSEN SO, KLUG MJ (1994) Effects of sieving, storage and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of a soil microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 2421-2430.
- RINNAN R, MICHELSEN A, BAATH E, JONASSON S (2007) Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem. *Global Change Biology*, 13, 28-39.
- RINNAN R, STARK S, TOLVANEN A (2009) Responses of vegetation and soil microbial communities to warming and simulated herbivory in a subarctic heath. *Journal of Ecology*, 97, 788-800.
- RUSTAD LE (2006) From transient to steady-state response of ecosystems to atmospheric CO₂- enrichment and global climate change: Conceptual challenges and need for an integrated approach. *Plant Ecology*, 182, 43-62.
- RUSTAD LE, CAMPBELL JL, MARION GM et al. (2001) A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia*, 126, 543-562.
- SCHIMEL J (1995) Ecosystem consequences of microbial diversity and community structure. In: *Arctic and Alpine Biodiversity: Patterns, Causes and Ecosystem Consequences* (eds Chapin FS, Koerner C), pp 239-254. Springer Verlag, New York.
- SCHINNER F (1982). Soil microbial activities and litter decomposition related to altitude. *Plant and Soil* 65, 87-94.
- SCHINNER F and GSTRANTHALER G (1981). Adaptation of microbial activities to the environmental conditions in alpine soils. *Oecologia* 50, 113-116.

SCHMIDT IK, JONASSON S, MICHELSEN A (1999) Mineralization and microbial immobilization of N and P in arctic soils in relation to season, temperature and nutrient amendment. *Applied Soil Ecology*, 11, 147-160.

SCHRÖTER D, CRAMER W, LEEMANS R, PRENTICE IC, ARAUJO MB, et al. (2005) Ecosystem service supply and vulnerability to global change in Europe. *Science* 310, 1333-1337.

SIMMONS JA, IJ FERNANDEZ, RD BRIGGS and MT DELANEY (1996). Forest floor carbon pools and fluxes along a regional climate gradient in Maine, USA. *Forest Ecology and Management* 84, 81-95.

SJÖGERSTEN S and PA WOOKEY (2004). Decomposition of mountain birch leaf litter at the forest-tundra ecotone in the Fennoscandian mountains in relation to climate and soil conditions. *Plant and Soil* 262, 215-227.

SOMMARUGA-WÖGRATH S, KOINIG KA, SCHMIDT R, SOMMARUGA R, TESSADRI R, AND PSENNER R (1997) Temperature effects on the acidity of remote alpine lakes. *Nature* 387, 64-67.

STEINWEG JM, PLANTE AF, CONANT RT, PAUL EA, TANAKA DL (2008) Patterns of substrate utilization during long-term incubations at different temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2722-2728.

TEKLY T, SHI Z, ATTAEIAN B, CHANG SX (2010) Temperature and substrate effects on C & N mineralization and microbial community function of soils from a hybrid poplar chronosequence. *Applied Soil Ecology*, 46, 413-421.

VANHALA P, KARHU K, TUOMI M, BJÖRKLÖF K, FRITZE H, HYVÄRINEN H, LISKI J (2011) Transplantation of organic surface horizons of boreal soils into warmer regions alters microbiology but not the temperature sensitivity of decomposition. *Global Change Biology*, 17, 538-550.

WALDROP MP, FIRESTONE MK (2004) Microbial community utilization of recalcitrant and simple carbon compounds: impact of oak-woodland plant communities. *Oecologia*, 138, 275- 284.

WALDROP MP, FIRESTONE MK (2006b) Seasonal dynamics of microbial community composition and function in oak canopy and open grassland soils. *Microbial Ecology*, 52, 470-479.

WOLTERS V (2000) Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biology and Fertility of Soils*, 31, 1-19.

ZHANG W, PARKER KM, LUO Y, WAN S, WALLACE LL et al. (2005) Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology*, 11: 266-277.

ZIMMERMANN M, MEIR P, BIRD MI, MALHI Y, CCAHUANA AJQ (2009) Climate dependence of heterotrophic soil respiration from a soil-translocation experiment along a 3000 m tropical forest altitudinal gradient. *European Journal of Soil Science*, 60, 895-906.

Kontaktperson: Mag.^a Dr.ⁱⁿ Ika Djukic
ika.djukic@boku.ac.at

Waldbauliche Analyse des Eiben-Generhaltungswaldes in Bad Bleiberg, Kärnten

Silvicultural Analysis of the English Yew genreserve in Bad Bleiberg, Carinthia

Eiben-Generhaltungswald Bad Bleiberg

Harald Vacik

Projektteams

Herwig Ruprecht, Raphael Klumpp, Georg Frank, Gerald Oitzinger

Zusammenfassung

Der Eiben-Generhaltungswald bei Bleiberg-Nötsch liegt am Hangfuß der Villacher Alpe in Kärnten und ist Teil des Projektes „Beiträge zur Erhaltung der genetischen Vielfalt“. Der 25 ha große Eibenbestand ist im Bestandeskomplex des Fichten-Tannen-Buchenwaldes eingebunden. Durch eine Wiederholungsaufnahme sollte die Entwicklung des Eibenbestandes und der Naturverjüngung seit der Erstaufnahme im Jahr 1998 analysiert werden. Die Vitalität der 823 Eiben hat sich offensichtlich gebessert, dort wo Maßnahmen zur Erhaltung der Eibe gesetzt worden sind. Die Stammzahl ist insgesamt zurückgegangen, die interspezifische Konkurrenz hat sich verringert, was die Kronenentwicklung der Eiben verbessert hat. Die verbesserte Samenproduktion kann zur Erhaltung der Naturverjüngung der Eiben und zum langfristigen Ziel der Sicherung der genetischen Vielfalt beitragen.

Abstract

The English yew genreserve in Bleiberg-Nötsch of the Villacher Alpe of Carinthia is part of the Austrian program for the maintainance of genetic diversity. The genreserve is situated in a Norway Spruce - Silver Fir – Beech forest with a total size of 25 ha. The reinvestigation of the yew reserve and the natural regeneration should help to describe the stand development since the first investigations in the year 1998. The vitality of the 823 yews has improved with regard to the silvicultural operations applied. The total number of trees and the inter-specific competition has decreased, which has helped to improve the development of the crown of the adult yew trees. This will help to sustain the natural regeneration of yew and support the overall long term goal of maintaining the genetic diversity.

1. Einleitung

1.1 Problemstellung

In Österreich findet sich die gemeine Eibe (*Taxus baccata* L.) in der Liste der gefährdeten Arten (NIKL FELD 2005), europaweit gehört sie jedoch zu den Arten mit geringerem Gefährdungsrisiko (IUCN: LR/lc). Die Auswertungen der österreichischen Waldinventur belegen einen Verbreitungsschwerpunkt im Bereich der Nördlichen Kalkalpen, wo sie hauptsächlich in Höhenlagen zwischen 600 und 1000 m Seehöhe vorkommt (SCHADAUER et al. 2003, RUSS 2005). Seitens des Österreichischen Bundesforschungszentrums für Wald (BFW) wurde zu Beginn der 1990er Jahre des vorigen Jahrhunderts ein „Generhaltungsprogramm“ für heimische Waldbaumarten ins Leben gerufen. Ziel ist die „in situ“ Erhaltung von Arten auf Basis eines Vertragsnaturschutz-konzeptes, bei welchem die Eigentümer für besondere Leistungen oder Unterlassung wirtschaftlicher Nutzung entschädigt werden (MÜLLER und SCHULTZE 1998). Für die Eibe umfasst das Projekt derzeit dreizehn Eiben-Generhaltungswälder in insgesamt sechs österreichischen Bundesländern, davon fünf in Kärnten, drei in Oberösterreich, zwei in Tirol, und jeweils eines in den Bundesländern Niederösterreich, Steiermark und Vorarlberg (HERZ et al. 2005) und wird weiter ausgebaut.

Die Forschungsgruppe am Institut für Waldbau zur Erforschung von Erhaltungsstrategien der Eibe (R. Klumpp, H. Ruprecht, H. Vacik) hat schon im Jahr 1998 damit begonnen, die Eiben-Generhaltungswälder in Österreich systematisch zu erfassen und zu beschreiben. Der Generhaltungswald bei Bleiberg-Nötsch/Ktn. liegt am Hangfuß der Villacher Alpe als ein ca. 25 ha großer Eiben - Generhaltungswald in einem Bestandeskomplex des montanen Fichten-Tannen-Buchenwaldes. Das Eibenvorkommen wurde von der ÖBF-AG dem Bundesforschungszentrum für Wald (BFW) als Generhaltungswald vorgeschlagen und als solcher im Rahmen des Projektes „Beiträge zur Erhaltung der genetischen Vielfalt“ anerkannt. Im Jahr 1998 wurde auf Anregung von DI Peter Honsig-Erlenburg (BFI Villach) und Ing. Alfred Bernhard (BFW) im Rahmen der Diplomarbeit von DI Gerald Oitzinger eine detaillierte Bestandesaufnahme durchgeführt und eine Erhaltungsstrategie ausgearbeitet. Dabei wurde auch ein permanentes Beobachtungsnetz angelegt, welches eine weiterführende Beobachtung im Sinne des am Institut für Waldbau etablierten Forschungsschwerpunktes zur Erhaltung der Eibe ermöglichen sollte. Darüber hinaus wurden auch Maßnahmen zur Erhaltung der Eibe (Zäunung, Bestandespflege) auf Basis der Erkenntnisse der Diplomarbeit durch die Mitarbeiter der ÖBF AG im Jahr 2000 durchgeführt. Da diese Versuchsanlage zu den ersten dieser Art in Europa zählt, hat sie daher besondere Bedeutung.

1.2 Zielsetzung

Bei zahlreichen Gesprächen mit DI Gerald Oitzinger, bei Feldbegehungen im Sommer 2009 mit Förster Ing. Angerer und im Rahmen der Exkursion zur „16. Internationalen Eibentagung“ in Kärnten/Ossiach (17.-20.9.2009), sind die Optionen für eine Kontrollaufnahme der Flächen diskutiert worden und die Fortführung der waldbaulichen Erhaltungsmaßnahmen angesprochen worden. Bei den TeilnehmerInnen der Eibentagung stieß die Versuchsanlage auf großes Interesse und Bewunderung. Ihre Bedeutung für

eine erfolgreiche Bewirtschaftung der Eibe wurde mehrfach hervorgehoben.

Bei den Begehungen hat sich herausgestellt, dass sich die Vitalität der Eiben offensichtlich gebessert hat, dort wo Maßnahmen zur Erhaltung der Eibe gesetzt worden sind. Durch die Wiederaufnahme im Rahmen der Forschungsarbeiten der Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ sollte die Entwicklung der Eiben seit der Erstaufnahme auch quantitativ dargestellt und wissenschaftlich analysiert werden.

Für die Erhebungen im Jahr 2010 sollte das Probeflächennetz überprüft, die Überprüfung und Wiederaufnahme der Einzelbaummerkmale der adulten Eiben sowie die Überprüfung, Wiederaufnahme und Analyse der Nachbarschaftsbeziehungen durchgeführt werden. Durch die Aktualisierung der Bestandesdaten und die Wiederaufnahme der Naturverjüngung sollte die Entwicklung des Bestandes dokumentiert werden.

Die Maßnahmen sollten dazu dienen, die ursprünglichen Versuchsanlagen sowie die Effekte der waldbaulichen Pflegeeingriffe zu beurteilen. Damit sollten erste Schlussfolgerungen für die Entwicklung von Eiben-Pflegekonzepten möglich werden. Hierbei sollten wertvolle Erkenntnisse zur Behandlung der Eibe gewonnen werden.

Als Ergebnis der Datenerhebung und Analyse sollten die waldbaulichen Optionen für die Freistellung und Pflege der Eiben diskutiert werden und die Grundlagen für die Umsetzung im Gelände liefern.

2. Charakterisierung der Eibe (*Taxus baccata* L.)

Die Eibe bevorzugt eine humide Klimlage, durch das Auftreten der Eibe im Nebenbestand können auch raue Klimlagen besiedelt werden. Sie ist eine extrem plastische Baumart mit einer weiten ökologischen Amplitude hinsichtlich Boden, Licht, Wärme und Wasserbedarf. Als extreme Schattbaumart kann sie im Alter jedoch auch volles Sonnenlicht vertragen. Das fein verzweigte Wurzelsystem reicht tief in den Boden und ermöglicht auch auf klüftigem Fels eine feste Verankerung. Die zweihäusige Baumart kann sich generativ und vegetativ vermehren. Bei einem Alter von 400-600 Jahren können Baumhöhen von max. 15-20m und ein Brusthöhendurchmesser von bis 100cm erreicht werden.

Das Holz ist dauerhaft und elastisch mit hartem, schwerem Farbkern und schmalem, gelblichem Splint, ohne Harzgallen. Es zeichnet sich durch gute Festigkeitseigenschaften aus. Alle Pflanzenteile außer dem Arillus enthalten ein für Mensch und Tier toxisches Alkaloid-Gemisch (Taxin).

Die Eibe ist stark spätfrostempfindlich und anfällig gegen strenge Winterkälte, weitere Gefährdungen sind Frostrocknis, Schneebruch, Verbiss, Schäden durch die Eibengallmücke sowie der direkte und indirekte Einfluss des Menschen. Im Jahr 2013 wurde die Eibe zum Baum des Jahres in Österreich gewählt. Die ökologische Strategie der Eibe ermöglicht ihr eine Reihe von Selektionsvorteilen, die das Überleben sichern (Tab. 1).

Tab 1: Ökologische Strategie der Eibe

Strategiemerkmal	Selektionsvorteile	Selektionsnachteile
„immergrün“	<ul style="list-style-type: none"> • Assimilationsapparat muss nicht jährlich neu aufgebaut werden = Energieeinsparung. • „Allzeit-Bereit“-Prinzip ermöglicht Ausnutzung von Licht- und Wärmespitzen vor Laubausbruch, nach Laubfall (= Verlängerung der Assimilationsperiode) und bei Abnahme der Überschildung. • Möglichkeit, durch frühe Bereitschaft im Frühling die im Winter akkumulierten Nährstoffe „wegzuschnappen“. 	<ul style="list-style-type: none"> • Die Assimilationsorgane müssen den Winter schadlos überstehen und daher relativ großen Aufwand für Kälte- und Transpirationsschutz leisten.
„geringer Lichtbedarf“	<ul style="list-style-type: none"> • Die Assimilation setzt schon bei relativ tiefen Temperaturen und bei geringem Lichteinfall (300 Lux) ein = Möglichkeit, dank guter Lichtausnutzung auch in relativ dunklen Beständen zu überdauern. • Diese Eigenschaft ermöglicht der Eibe, das lokal gemilderte Bestandesklima als weitere ökologische Nische auszunutzen. 	
„weiche (billige) Nadeln“	<ul style="list-style-type: none"> • Im Vergleich zu skleromorphen Nadeln und Blättern ist der Energieaufwand für Transpirationsschutzeinrichtungen relativ gering = Möglichkeit, die wenige zur Verfügung stehende Energie vermehrt für Wachstum und Fruchtbildung einzusetzen. 	<ul style="list-style-type: none"> • Weiche Nadeln besitzen eine geringe Kälteresistenz (Beschränkung auf ozeanisches Klima).
„geringe Wuchshöhe“	<ul style="list-style-type: none"> • Ausnutzung des Stammraumes der Oberschicht als räumlich-vertikale ökologische Nische. • Ausnutzung des Standortpotenzials. 	<ul style="list-style-type: none"> • Kommt selten in den Genuss von direkter Sonneneinstrahlung, muss mit ca. 7% des vollen Energieeinfalls auskommen = wesentlich geringere Produktion, hinsichtlich Zuwachs und Blütenbildung.

3. Methodik

Für die Untersuchung der Eibenbestände wurde am Institut für Waldbau ein Aufnahmekonzept entwickelt, welches eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse unterschiedlicher Bestände gewährleisten soll. Das verwendete Konzept basiert auf den Arbeitsverfahren, das OITZINGER (2000) im Anhalt an KOCH (1998) entwickelt hatte und das von RUPRECHT und VACIK (2005) modifiziert wurde.

Da die Eiben im Generhaltungswald Bad Bleiberg markiert worden sind und das Stichprobennetz 1998 permanent eingerichtet worden ist, konnten im Rahmen der Erhebungen im Jahr 2010 folgende Tätigkeiten umgesetzt werden:

- Überprüfen des Probeflächennetzes (Markierung)
- Überprüfung und Wiederaufnahme der Einzelbaummerkmale der adulten Eiben
- Überprüfen, Wiederaufnahme und Analyse der Nachbarschaftsbeziehungen
- Aktualisierung der Bestandesdaten
- Wiederaufnahme der Naturverjüngung (an Probeflächen)

Die Daten wurden von einem Team von MitarbeiterInnen im Sommer 2010 erhoben und nach der Digitalisierung entsprechend analysiert. Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Charakterisierung des Bestandes

Über die gesamte Aufnahme­fläche betrachtet, hat die Stammzahl auf den 72 Stichprobenpunkten der Winkelzählprobe um 304 n/ha abgenommen, die Grundfläche um 0.67 m²/ha und der Vorrat um 20.84 Vfm/ha zugenommen (Tab 2). Bezogen auf die einzelnen Baumarten zeigt sich, dass vor allem Fichte, Weiß­kiefer und Buche in der Stammzahl und Grundfläche zurückgegangen sind. Bezogen auf den Vorrat hat nur die Weiß­kiefer und die Tanne abgenommen (Tab 3). Damit ergibt sich auch ein leicht verändertes Verhältnis der Baumarten zueinander. Bezüglich der Schichtung hat es im Generhaltungswald eine leichte Verschiebung gegeben, der Anteil an Stichproben, welche als zweischichtig angesprochen worden sind, hat zugenommen. Die Verteilung der Übershirmungsklassen zeigt, dass es mehr geringer übershirmte Bereiche und weniger stark übershirmte Bereich gibt.

Tab 2: Vorrat, Grundfläche und Stammzahl (Mittelwert ± Standardabweichung) pro ha 1998 und 2010 auf Grund der WZP-Daten (N = 72, F = 18.4, Kluppschwelle >5 cm)

	1998	2010
Vorrat [Vfm/ha]	277.44 ±174.85	298.12 ±177.16
Grundfläche [m²/ha]	31.39 ±17.98	32.00 ±17.06
Stammzahl [n/ha]	1286 ±1420	937 ±1014

Tab 3: Vorrat, Grundfläche und Stammzahl (Mittelwert ± Standardabweichung) pro ha nach Baumarten getrennt 1998 und 2010 auf Grund der WZP-Daten (N = 72, F = 18.4, Kluppschwelle >5 cm)

Baumart	Stammzahl [n/ha]		Grundfläche [m ² /ha]		Vorrat [Vfm/ha]	
	1998	2010	1998	2010	1998	2010
Fi	335 ±541	252 ±434	10.61 ±9.33	10.28 ±8.67	95.25 ±86.10	97.49 ±84.07
Lä	92 ±162	93 ±137	5.61 ±6.84	6.94 ±8.14	57.45 ±71.48	72.28 ±83.90
Ta	30 ±70	29 ±76	1.50 ±2.64	1.44 ±3.03	14.03 ±26.07	13.73 ±31.27
WKi	43 ±121	7 ±31	1.84 ±4.14	0.50 ±1.89	15.90 ±36.30	4.75 ±17.36
Eibe	47 ±108	41 ±91	1.11 ±2.62	1.17 ±2.55	5.49 ±13.61	5.91 ±14.21
Bu	739 ±1222	519 ±899	10.72 ±10.53	11.67 ±10.50	89.32 ±97.24	103.96 ±101.43

Im Vergleich der BHD-Verteilung zwischen den Aufnahmejahren 1998 und 2010 lässt sich erkennen, dass der Anteil an Individuen (über alle Baumarten) vor allem in den niedrigen BHD-Klassen (5-14cm) zurückgegangen ist (Abb 1). Der Rückgang in der Gesamtstammzahl ist vor allem auf die geringere Besetzung dieser Stärkeklassen durch Buche und Fichte zurückzuführen. In den anderen BHD-Klassen ist die Veränderung nur durch das Wachstum der Individuen in die nächsthöhere Stärkeklasse geprägt.

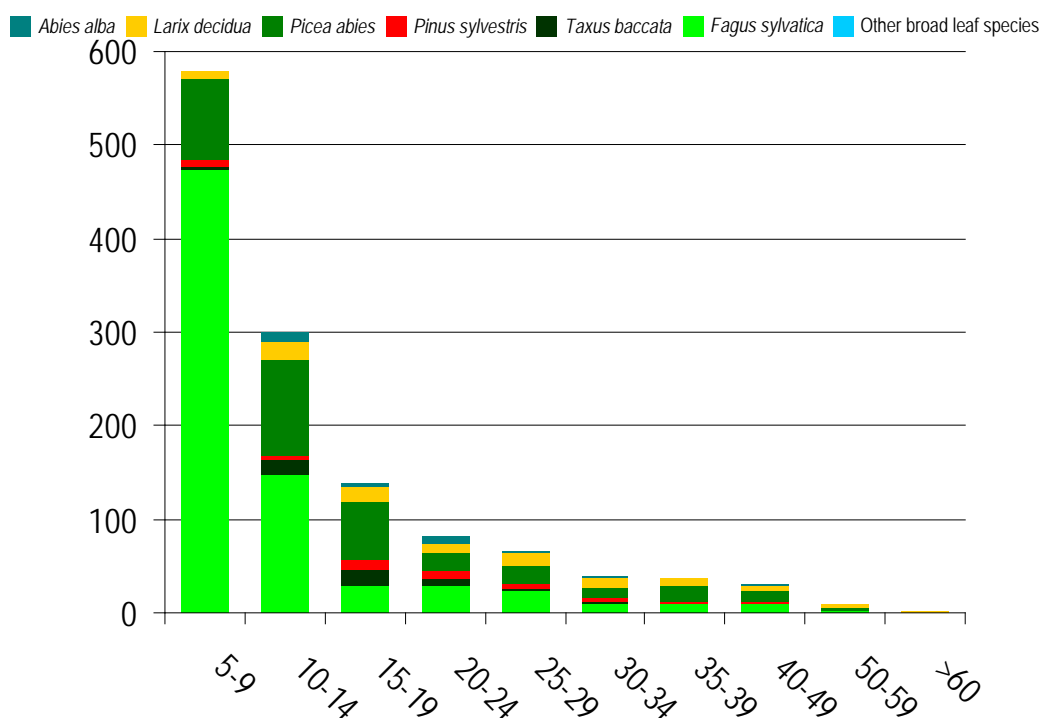


Abb 1: BHD-Verteilung nach Stammzahl pro ha auf Basis der Eibendaten aus der Vollaufnahme und der anderen Baumartendaten aus der WZP im Jahr 1998 [Gesamte Stammzahl: 1245 n/ha]

4.2 Charakterisierung der Eiben-Individuen

Insgesamt ist die Anzahl der Eiben von 828 Individuen auf 823 zurückgegangen. Dabei ist allerdings zu beachten, dass einige Individuen bei der Erhebung im Jahr 2010 neu hinzugekommen sind und andere illegal genutzt oder abgestorben sind. Die Anzahl, Kreisfläche und Volumen der Eibenindividuen getrennt nach Geschlecht im Jahr 1998 und 2010, ist relativ gesehen gleich geblieben (Tab 4).

Tab 4: Anzahl, Kreisfläche und Volumen der Eibe getrennt nach Geschlecht 1998 und 2010 (F = 18.4, Kluppschwelle >5 cm)

	1998			2010		
	Männlich	Weiblich	Total	Männlich	Weiblich	Total
Anzahl [n am Ort]	432	392	828	424	384	823
Kreisfläche [m² am Ort]	10.67	8.21	18.96	11.87	8.97	21.44
Volumen [Vfm am Ort]	49.77	36.79	86.96	58.92	47.71	104.36

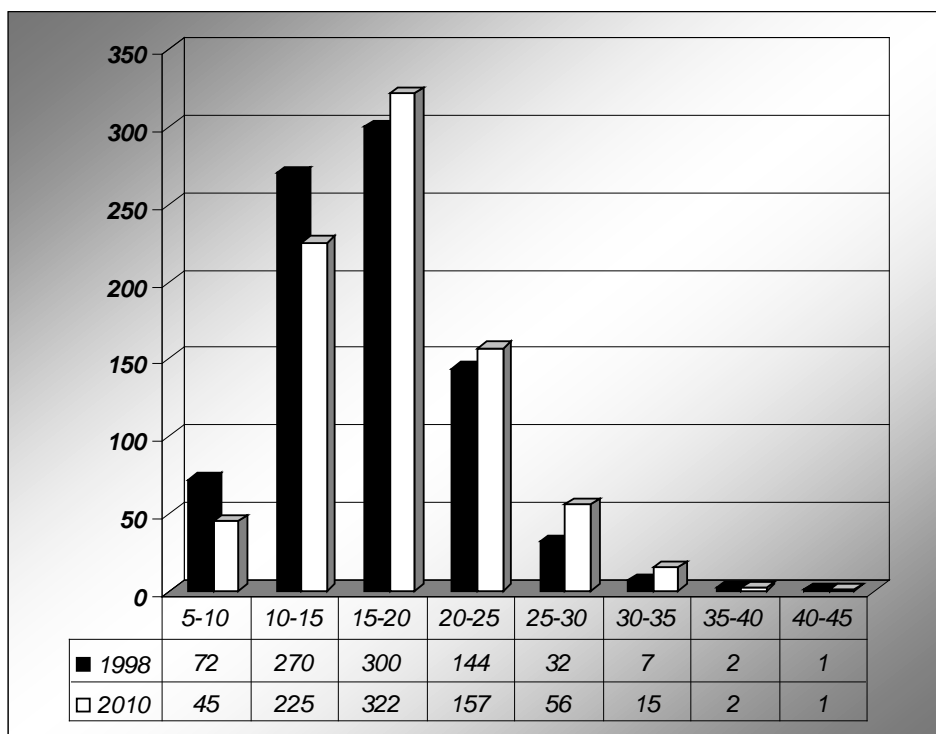


Abb 2: BHD-Verteilung der Eibe nach Stammzahl am Ort 1998 (linker Balken [n=828]) und 2010 (rechter Balken [n=823])

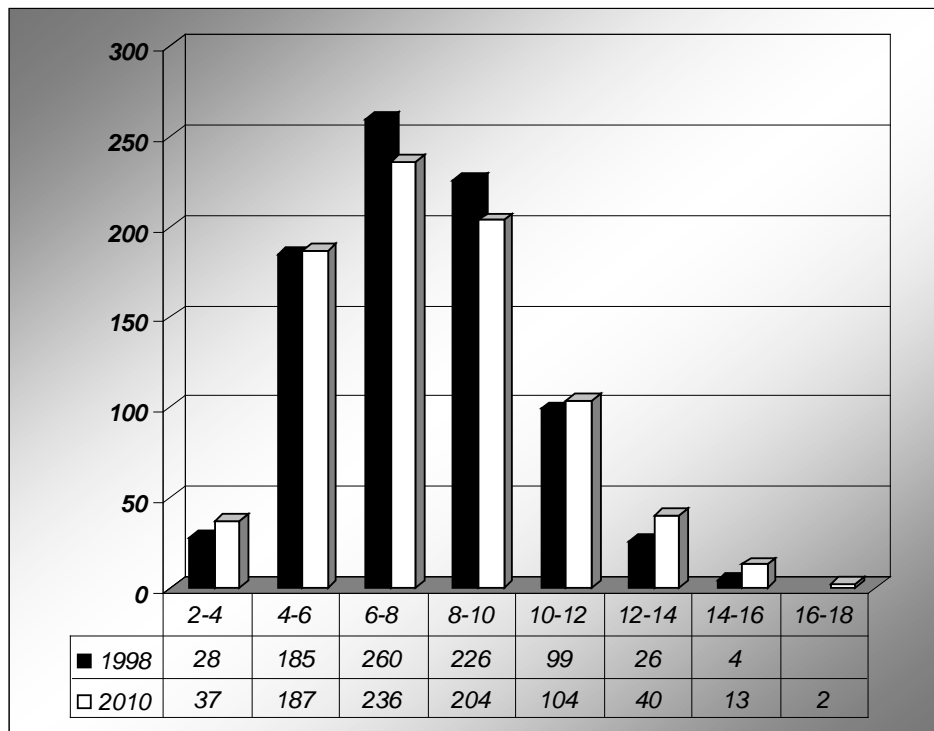


Abb 3: Baumhöhen-Verteilung der Eibe nach Stammzahl am Ort 1998 (linker Balken [n=828]) und 2010 (rechter Balken [n=823])

Neben der Verschiebung der Anteile der Eibenindividuen in die jeweils nächst höhere BHD Klasse (Abb 2) zeigt sich ein ähnliches Bild auch für die Höhenverteilung, allerdings nicht so stark ausgeprägt (Abb 3). Viele Baumkronen der Eiben sind infolge der großen Nassschneeereignisse gebrochen worden, was eine Verschiebung der Höhen zeigt. Die Vitalitätsklassenverteilung der Eibe getrennt nach dem Geschlecht im Jahr 1998 und 2010 hat gezeigt, dass der Anteil der Eiben in der sehr vitalen und vitalen Klasse sich erhöht hat, in den anderen beiden Klassen ist er gleich geblieben oder geringer geworden (Tab 5).

Tab 5: Vitalitätsklassenverteilung der Eibe getrennt nach Geschlecht 1998 (n=828) und 2010 (n=823)

Vitalitätsklassen	1998			2010		
	Männlich	Weiblich	Total	Männlich	Weiblich	Total
1 (sehr vital)	6.7%	4.6%	5.7%	8.7%	9.3%	9.0%
2 (vital)	38.7%	40.0%	39.2%	40.8%	39.0%	39.5%
3 (wenig vital)	37.0%	37.0%	37.1%	37.6%	38.3%	37.5%
4 (kümmernd)	17.6%	18.4%	18.0%	12.9%	13.4%	14.0%

Bezüglich der Durchmischung zeigte sich, dass die Eibe weitgehend einzelstammweise mit den anderen Baumarten des Bestandes vermengt ist. Der Anteil der Fälle (64,2%) wo die drei nächsten Nachbarn der Eibe einer anderen Art angehören ist jedoch gesunken, der Anteil der Fälle, wo einer oder mehr der nächsten Nachbarn eine Eibe ist gestiegen. Dies kann als ein Ausdruck von geringerer intraspezifischer Konkurrenz interpretiert werden. Der Baum-Baum Abstand charakterisiert die Individualverteilung der Eiben im Generhaltungswald. Niedere Werte weisen darauf hin, dass die

Eibe in eher engen Baumkollektiven anzutreffen ist, hohe Werte hingegen lassen auf aufgelockerte Bestandesstrukturen schließen. Aus der Veränderung der letzten zwölf Jahre lässt sich ableiten, dass durch die Entnahme oder das Absterben von unmittelbaren Konkurrenten der Eibe die sehr engen Baumkollektive aufgelöst worden sind, hingegen ist eine Zunahme in den mittleren und sehr weiten Baumabständen festzustellen.

Die Durchmesserdifferenzierung vergleicht die Differenzierung der Brusthöhendurchmesser zwischen den Eiben und ihren nächsten Nachbarn. Der Wert von TDi nimmt zu/oder ab, wenn die durchschnittliche Differenz zwischen den Durchmessern benachbarter Bäume zu/abnimmt. Betrachtet man die Durchmesserdifferenzierung zum ersten Nachbarn (TD1), so kommt die Eibe in Kollektiven mit positiver als auch negativer Durchmesserdifferenzierung vor (Abb 4). Es zeigt sich jedoch in der Veränderung zum Jahr 2010, dass im negativen Bereich eher eine Abnahme stattgefunden hat und im positiven Bereich die Veränderungen ausgeglichen waren.

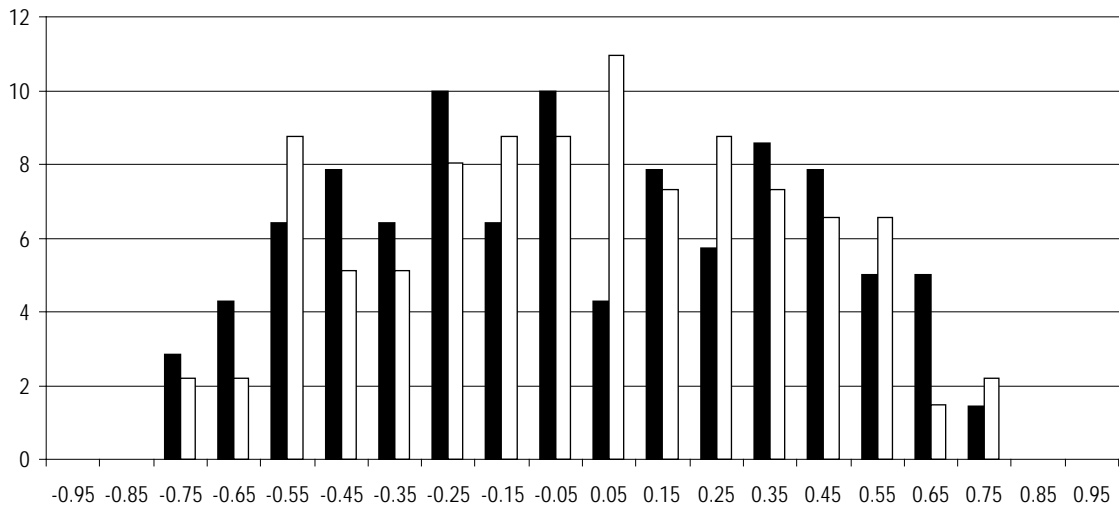


Abb 4: Verteilung der Durchmesserdifferenzierung der Eiben in Prozent im Jahr 1998 [n=140] und 2010 [n=137]

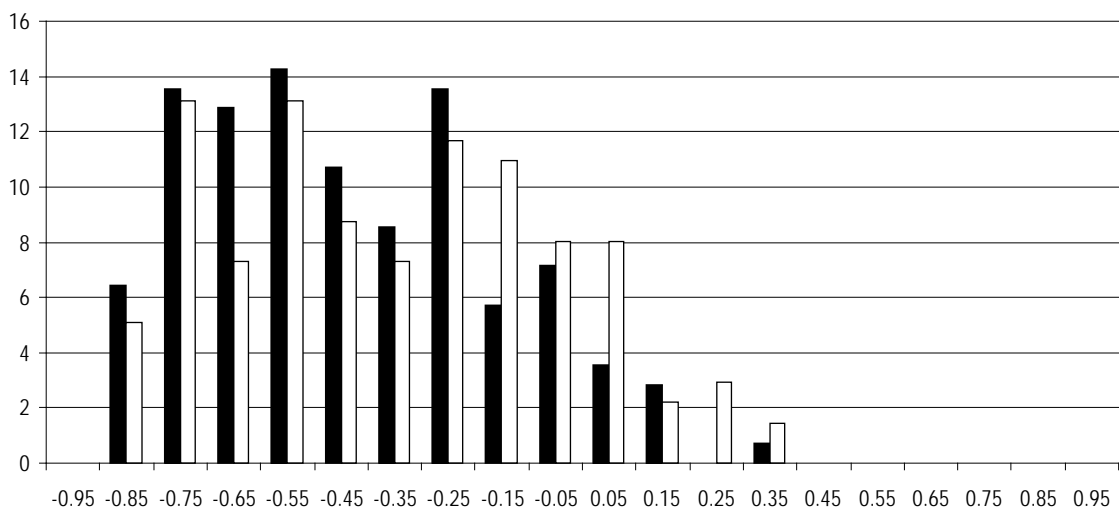


Abb 5: Verteilung der Baumhöhendifferenzierung der Eiben in Prozent im Jahr 1998 [n=140] und 2010 [n=137]

Die Baumhöhendifferenzierung liefert Informationen über die räumliche vertikale Strukturvielfalt. Auch hier wurde die Höhendifferenzierung getrennt nach den Eiben, die entweder höher (positiv) oder niedriger (negativ) als die unmittelbar nächsten Nachbarn sind, berechnet. Es zeigt sich, dass sich die Entfernung einiger unmittelbarer Konkurrenten der Eibe auf die Höhendifferenzierung ausgewirkt hat, insgesamt gesehen bleibt die Situation aber ähnlich (Abb 5).

5. Schlussfolgerungen

Oberstes Ziel für den Generhaltungswald ist die langfristige Erhaltung und Erneuerung des Eibenvorkommens. Totaler passiver Schutz ist dabei nicht zielführend, da die Konkurrenz der anderen Baumarten auf Grund der Langsamwüchsigkeit der Eibe und des geringen Höhenwachstums mit der Zeit zu stark wird (Gefahr des Ausdunkelns).

Um die Erhaltung des Vorkommens zu sichern, soll die Vitalität der Eibe durch Einzelstammentnahmen von Altbäumen (Buche, Fichte) und die punktuelle Entnahme von direkten Konkurrenten verbessert werden. Der aktuelle Zustand des Eiben - Generhaltungswaldes bei Bleiberg-Nötsch kann insgesamt betrachtet als befriedigend beurteilt werden. Die dem Generhaltungswald zukommende Bedeutung, im Rahmen des Projektes „Beiträge zur Erhaltung der genetischen Vielfalt“, kann der Bestand in seiner derzeitigen Situation jedoch noch nicht in vollem Ausmaß nachkommen.

Durch die Analyse hat sich herausgestellt, dass sich die Vitalität der Eiben offensichtlich gebessert hat, dort wo Maßnahmen zur Erhaltung der Eibe gesetzt worden sind. Durch die Wiederaufnahme konnte die positive Entwicklung der Eiben seit der Erstaufnahme im Jahr 1998 auch quantitativ dargestellt werden. Allerdings ist die Eibe in vielen Bestandesteilen noch immer einer starken Konkurrenz ihrer Nachbarn ausgesetzt, was die Möglichkeiten zur Fruktifikation und damit erfolgreicher Naturverjüngung einschränkt.

Die Pflegemaßnahmen zur Erhaltung der Eibe müssen daher konsequent weiterverfolgt werden, um die Naturverjüngung der Eibe nachhaltig zu sichern. Dabei muss die konkurrenzstarke Buche zugunsten der Eibe entnommen werden, um die Kronenentwicklung der adulten Eiben zu unterstützen. Durch diese Maßnahmen sollte es neben einer Verbesserung der Eibenvitalität auch zu einer Erhöhung der Fruktifikation und somit zur Förderung der Eibenverjüngung kommen.

Danksagung

Das Projektteam ist dem Kuratorium der Stiftung "120 Jahre Universität für Bodenkultur" dankbar für die Vergabe der Mittel der Stiftung zur Förderung und Durchführung dieses Forschungsvorhabens. Daneben sind wir der Österreichischen Bundesforste AG und dem Bundesforschungszentrum für Wald (BFW) dankbar für ihr Interesse an der Erhaltung des Eiben-Generhaltungswaldes in Bad Bleiberg.

Literaturverzeichnis

AIGNER B. (2007): Waldbauliche Analyse und Beschreibung von Kern- und Streuvorkommen einer Eibenpopulation am Mondsee, Diplomarbeit Institut für Waldbau, Universität für Bodenkultur, Wien.

DHAR, A. (2008): Biodiversität von Eibenpopulationen (*Taxus baccata* L.) in Österreich, Dissertation Institut für Waldbau, Universität für Bodenkultur, Wien.

HERZ, H.; BERNHARD, A.; NEBENFÜHR, W. et al. (2005): Das Eibenvorkommen in den österreichischen Generhaltungswälder. Poster bei der "12. int. Tagung der Eibenfreunde", 2005 Sept 29 –Oct 2; Kempten in Allgäu; 2005. Der Eibenfreund, 12/2005, 72-76.

MÜLLER, F.; SCHULTZE, U. (1998): Das österreichische Programm zur Erhaltung forstgenetischer Ressourcen. In: Erhaltung genetischer Ressourcen im Wald. Geburek Th., Heinze B. (eds.). Ecomed, pp. 120-135.

NIKLFIELD, H. (ed.) (2005): Rote Listen gefährdeter Pflanzen Österreichs. Grüne Reihe des Bundesministeriums für Umwelt, Jugend und Familie 2005, 10.

OITZINGER, G. (2000): Anwendung der qualitativen PVA (Population Viability Analysis) für die Evaluierung von Erhaltungsstrategien für ein Eibenvorkommen bei Bad Bleiberg/Ktn. Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien, 154 S.

RASCHKA, M. (2009): Waldbauliche Analyse und Beschreibung von *Taxus baccata* L. in Buchenmischwäldern des Eiben-Generhaltungswaldes Losenstein in Oberösterreich, Diplomarbeit Institut für Waldbau, Universität für Bodenkultur, Wien.

RUSS, W. (2005): Verbreitung seltener Holzgewächse nach der Österreichischen Waldinventur. BFW Praxis Information, 6, 3-5.

SCHADAUER, K.; HAUKE, E.; STARLINGER, F. (2003): Daten zur Eibe aus der Österreichischen Waldinventur. Der Eibenfreund, 10, 15-18.

Kontakt: Ao.Univ.Prof. DI Dr. Harald Vacik
harald.vacik@boku.ac.at

Untersuchungen zum Eschentriebsterben in Eschen-Samenplantagen in Österreich

Investigations on ash dieback in ash seed plantations in Austria

Untersuchungen zum Eschentriebsterben in Samenplantagen

Christian Freinschlag

Projektteam

Masterstudent: Dipl.-Ing. Christian Freinschlag

Betreuer: Priv.-Doz. Dipl.-Ing. Dr. Thomas Kirisits

Zusammenfassung

In dieser von der Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ geförder- ten Masterarbeit wurde die Resistenz von *F. excelsior*-Klonen gegenüber dem Eschentriebsterben in drei Samenplantagen in Österreich (Feldkirchen an der Donau, Bad Gleichenberg und Traföb) untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Symptome der Krankheit (Triebsterben und Blattsymptome) an insgesamt 171 Eschen-Klonen (622 Rameten) von 2009 bis 2011 zwei- oder dreimal pro Jahr quantifiziert. Die mittlere Intensität des Triebsterbens blieb in den drei Samenplantagen über die gesamte Erhebungsperiode auf einem ähnlichen Niveau und stieg nicht drastisch an. Im Mai 2011 betrug die mittlere Triebsterbensintensität in Traföb 31,3%, in Feldkirchen 14,2%, und in Bad Gleichenberg 13,5%. In jeder der Plantagen variierte die Krankheitsintensität beträchtlich zwischen verschiedenen Klonen und reichte von fast keinen Triebsterbenssymptomen (< 5%) bis zu sehr starken Triebsterben. Kein Klon war völlig frei von Symptomen des Eschentriebsterbens. Die Erhebungen zeigten auch, dass früher Blattfall ein Symptom des Eschentriebsterbens ist. In jedem Jahr war der mittlere Prozentsatz abgefallener Blätter, berechnet für alle Rameten in einer Plantage, im Hochsommer niedrig (0,2–7,5%), aber hoch im September (34,5–92,0%). So wie bei der Triebsterbensintensität variierte auch die Intensität des Blattfalls beträchtlich zwischen Klonen. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass es große Unterschiede im Resistenzniveau zwischen Eschen-Klonen gegenüber der Krankheit gibt. Um die Anpassung von Eschen-Populationen an das Eschentriebsterben zu ermöglichen, werden Handlungsempfehlungen für *in situ*- und *ex situ*-Erhaltungsmaßnahmen vorgeschlagen.

Abstract

*In this Master thesis, funded by the foundation “120 Jahre Universität für Bodenkultur”, the resistance of *F. excelsior* clones against ash dieback was investigated in three seed plantations in Austria (Feldkirchen an der Donau, Bad Gleichenberg and Traföb). From 2009 to 2011 symptoms of the dis-*

ease (dieback and leaf symptoms) were quantified on a total of 171 ash clones (622 ramets) two or three times per year. In each of the three seed plantations mean ash dieback intensity remained on a similar level and did not show a drastic increase during the entire observation period. In May 2011 mean dieback intensity was 31.3% in Traföb, 14.2% in Feldkirchen and 13.5% in Bad Gleichenberg. In each of the plantations disease intensity varied greatly among clones, ranging from almost no dieback (< 5%) to severe dieback. None of the clones was totally unaffected by the disease. The assessments also indicated that early leaf shedding is a symptom of ash dieback. In each year the mean percentage of shed leaves, calculated for all ramets in a plantation, was low in midsummer (0.2–7.5%), but high in September (34.5–92.0%). As it was observed for dieback, the intensity of leaf shedding varied greatly among clones. The results indicate that *F. excelsior* clones in the Austrian seed plantations differ greatly in their resistance levels to the disease. In order to facilitate the adaptation of ash populations to ash dieback, recommendations for *in situ* and *ex situ* preservation measures are suggested.

1. Einleitung

Seit einigen Jahren ist die Zukunft der Europäischen Esche (*Fraxinus excelsior*), einer in Europa heimischen, weit verbreiteten, ökologisch und wirtschaftlich wichtigen Laubbaumart, durch das Auftreten einer neuartigen Baumkrankheit ernsthaft in Frage gestellt. Es handelt sich dabei um das Eschentriebsterben, das vor allem durch das Zurücksterben von Trieben, Zweigen und Ästen, aber auch durch eine Vielzahl anderer Krankheits-symptome charakterisiert ist (HUSSON et al. 2012, KRÄUTLER und KIRISITS 2012, GROSS et al. 2014, KIRISITS und FREINSCHLAG 2014). Die Krankheit wird von dem aus Asien eingeschleppten Schlauchpilz *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (Falsches Weißes Stengelbecherchen) und dessen ungeschlechtlichem Stadium *Chalara fraxinea* hervorgerufen (GROSS et al. 2014). Das Eschentriebsterben wurde erstmals 1992 in Polen beobachtet und tritt mittlerweile in weiten Teilen Europas auf (MCKINNEY et al. 2014). In Österreich wurden eindeutige Symptome der Krankheit erstmals 2005 registriert, und spätestens seit 2010 kommt das Eschentriebsterben in allen politischen Bezirken vor (KIRISITS et al. 2012).

Bis vor Kurzem galt die Esche noch als stabile, betriebssichere und Wert steigernde Baumart, aufgrund des Triebsterbens ist sie aber zu einer risikoreichen Art geworden, und die Forstpraxis ist nun vielerorts mit schwer geschädigten Beständen konfrontiert. Allerdings gibt die Beobachtung von einzelnen gesunden und nur wenig geschädigten Eschen unmittelbar neben stark erkrankten Bäumen in Waldbeständen, in denen das Eschentriebsterben mit hoher Intensität auftritt, Anlass zur Hoffnung: Diese Bäume könnten eine hohe, vererbare Resistenz gegenüber der Krankheit aufweisen (MCKINNEY et al. 2014). Untersuchungen in Dänemark, Schweden, Litauen, Deutschland und Holland lassen ebenfalls darauf schließen, dass Klone, Halbgeschwisterfamilien (getrennt gehaltene Einzelbaumabsaaten), Herkünfte (Provenienzen) und Zierformen der Europäischen Esche im Resistenzniveau bzw. in der Anfälligkeit gegenüber dem Eschentriebsterben enorm variieren (PLIÛRA et al. 2011, KJÆR et al. 2012, METZLER et al. 2012, ENDERLE et al. 2013, KOPINGA und DE VRIES 2013, STENER 2013, MCKINNEY et al. 2014). Eschen mit befriedigend hohem Resistenzniveau dürften jedoch selten sein; KJÆR et al. (2012) und MCKINNEY et

al. (2014) schätzen deren Anteil lediglich auf ca. 1%. Die Perspektive, dass einzelne Bäume dauerhaft eine hohe, vererbare Resistenz gegenüber *H. pseudoalbidus* aufweisen könnten, gilt derzeit als der einzige Hoffnungsschimmer für eine „Lösung der Eschentriebsterben-Krise“ (MCKINNEY et al. 2014).

In Österreich gibt es drei zugelassene Regional-Samenplantagen der Europäischen Esche, deren ursprünglicher Zweck darin bestand, genetische Ressourcen der Baumart zu erhalten und die Forstwirtschaft mit genetisch vielfältigem und qualitativ hochwertigem Saatgut (Kategorie: qualifiziert) zu versorgen. Mit dem Auftreten des Eschentriebsterbens wurden diese Samenplantagen zu überaus wertvollen Studienobjekten, um Unterschiede im Resistenzniveau von *F. excelsior* gegenüber *H. pseudoalbidus* auch in Österreich zu untersuchen. Das war das Thema dieser von der Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ geförderten Masterarbeit, die vor Kurzem abgeschlossen wurde (FREINSCHLAG 2013) und deren Ergebnisse, Schlussfolgerungen und Handlungsempfehlungen hier zusammengefasst werden.

2. Projektziele

Die geförderte Masterarbeit verfolgte die generellen Ziele, das Wissen über das Resistenzniveau von Eschen-Klonen in Samenplantagen gegenüber dem Eschentriebsterben-Erreger, *H. pseudoalbidus*, und über den Krankheitszyklus des Eschentriebsterbens zu erweitern.

Die in diesem Bericht behandelten Teilziele der Masterarbeit lauteten wie folgt:

- Dokumentation von Unterschieden in der Befallsintensität des Eschentriebsterbens zwischen verschiedenen Eschen-Klonen in drei österreichischen Samenplantagen.
- Dokumentation der Dynamik der Befallsintensität innerhalb eines Jahres und über die gesamte dreijährige Erhebungsperiode.
- Analyse von Zusammenhängen zwischen der Intensität des Blattfalls und der Triebsterbensintensität von Eschen-Klonen.
- Verbesserung des Kenntnisstandes zur Symptomatik und zum Krankheitszyklus des Eschentriebsterbens.

3. Material und Methoden

3.1 Eschen-Samenplantagen in Österreich

Die Untersuchungen wurden in den drei österreichischen Regional-Samenplantagen der Europäischen Esche durchgeführt (Tabelle 1). Bei der Anlage der Plantagen wurden Plusbäume aus den jeweiligen Wuchsgebieten, welche im Hinblick auf die Holzproduktion erwünschte Merkmale (Wuchsleistung, Stammform, Gesundheitszustand) aufwiesen, ausgewählt, durch Pfropfung vermehrt und in mehrfacher Wiederholung (Rameten) pro Einzelbaum (Klon) zufällig verteilt gepflanzt. Die älteste der drei Samenplantagen liegt in Oberösterreich, in Feldkirchen an der Donau (48° 19' 12,5" N, 14° 04' 15,9" O, 51 Eschen-Klone aus dem Wuchsgebiet 7.1/sm, 2–4 Rameten pro Klon). Die beiden anderen Samenplantagen befinden sich in der Steiermark, in Bad Gleichenberg (46° 51' 44" N, 15° 53' 39" O,

70 Eschen-Klone aus dem Wuchsgebiet 5.3/mm, 2–4 Rameten pro Klon) und in Traföß bei Pernegg an der Mur (47° 20' 48" N, 15° 20' 30" O, 50 Eschen-Klone aus dem Wuchsgebiet 5.3/tm, 1–5 Rameten pro Klon). Aufgrund von Ausfällen standen nicht mehr alle Bäume für die Erhebungen und die späteren Auswertungen zur Verfügung (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die drei Eschen-Samenplantagen in Österreich

Ort	Zulassungszeichen	Jahr der Anlage	Seehöhe [m]	Fläche [ha]	Klone	Rameten (Summe)	Rameten (Erhebungen)
Feldkirchen	Es P1 (7.1/sm)	1993	264	1,36	51	4 (204)	187
Gleichenberg	Es P2 (5.3/mm)	1996	273	1,60	70	4 (280)	234
Traföß	Es P3 (5.3/tm)	2000	563	0,70	50	5 (250)	201

Abschätzung der Befallsintensität des Eschentriebsterbens in Samenplantagen

1. Schritt: Teilung der Krone in Drittel.

2. Schritt: Abschätzung des Triebsterbens in Klassen (siehe unten), separat für jedes Kronendrittel.

0	Kein Triebsterben	Klassenmittel 0%
1	> 0% bis ≤ 5%	Klassenmittel 2,5%
2	> 5% bis ≤ 20%	Klassenmittel 12,5%
3	> 20% bis ≤ 50%	Klassenmittel 35%
4	> 50% bis ≤ 80%	Klassenmittel 65%
5	> 80 bis < 100%	Klassenmittel 90%
6	100%	Klassenmittel 100%

3. Schritt: Die Ansprachen der Kronendrittel werden zusammengezählt; im konkreten Beispiel des Baumes rechts: 1 + 3 + 3 = 7.

4. Schritt: Berechnung eines mittleren Prozentwerts des Triebsterbens für einen Baum mithilfe der Klassenmittel (siehe oben); im konkreten Beispiel des Baumes rechts: $(2,5 + 35 + 35) / 3 = 24,2\%$.

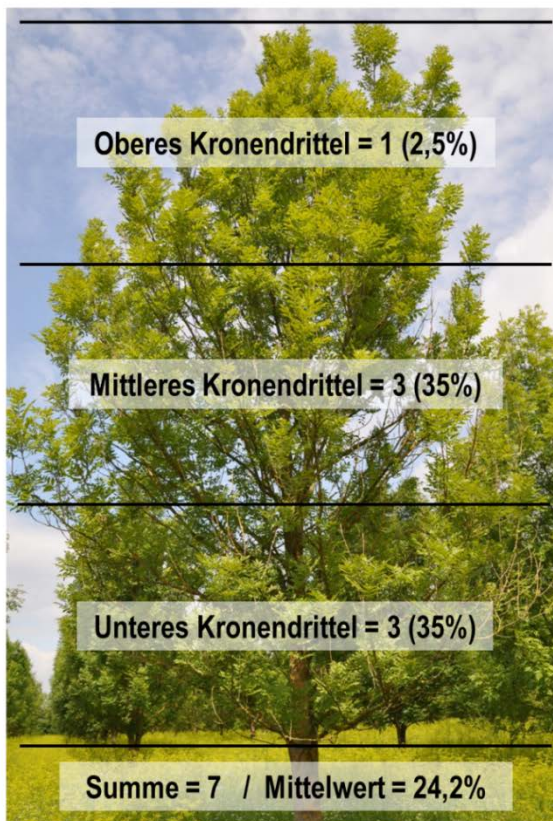


Abbildung 1: Schema zur Erhebung der Befallsintensität des Eschentriebsterbens an größeren Bäumen in den Samenplantagen (Ramet A12, Feldkirchen, siehe auch KIRISITS und FREINSCHLAG 2012). Die Triebsterbensintensität wird separat für jedes Kronendrittel in sieben Schädsklassen abgeschätzt. Mithilfe von Klassenmittelwerten kann für jeden Ramet ein Gesamtmittelwert der Triebsterbensintensität (in %) berechnet werden. Blattfall wurde nach dem gleichen Schema quantifiziert.

3.2 Erhebungen in den Samenplantagen

Mit den Erhebungsarbeiten wurde im Mai 2009 begonnen, wobei drei Aufnahmejahre (2009, 2010 und 2011) mit jeweils drei Terminen pro Jahr (Mai, Ende Juli/Anfang August und September) vorgesehen waren. Noch vor den ersten Erhebungen wurde angestrebt, *H. pseudoalbidus* in allen Samenplantagen nachzuweisen. Dazu wurden von ausgewählten Rameten Triebe und Zweige mit Frühsymptomen des Eschentriebsterbens (kleine Rindennekrosen) gesammelt. In Feldkirchen an der Donau wurden im August 2011 zusätzlich Blätter mit Nekrosen an den Blattspindeln zur Isolierung von *H. pseudoalbidus* gewonnen. Einzelheiten zur Methodik der Pilzisolierung und -bestimmung können FREINSCHLAG (2013) entnommen werden. Bei allen Erhebungsterminen wurde auch auf das Auftreten der schwarzen pseudosklerotischen Überzüge und der becherförmigen weißen Fruchtkörper (Apothecien) von *H. pseudoalbidus* an Stielen und Spindeln von im Vorjahr abgefallenen Blättern in der Bodenstreu geachtet (GROSS et al. 2013).

Mithilfe eines standardisierten Erhebungsbogens wurden an jedem lebenden Rameten in den Samenplantagen neben allgemeinen Baummerkmalen (Geschlecht, Fruktifikation und Austriebsstadium) vor allem die für das Eschentriebsterben charakteristischen Symptome (Triebsterben und Blattfall) erfasst. Bei größeren Bäumen erfolgten die Ansprachen der Krankheitsintensität nach dem in Abbildung 1 dargestellten Schema. Dabei wurde die Krone eines Baumes in einem ersten Schritt in Drittel unterteilt. Anschließend wurde die Intensität des Triebsterbens und des Blattfalls für jedes Kronendrittel separat beurteilt, wobei zur Quantifizierung sieben Schadklassen verwendet wurden (Schritt 2). Mithilfe von Klassenmittelwerten der einzelnen Schadklassen (0; 2,5; 12,5; 35; 65; 90; 100) und durch Mittelwertbildung über die Kronendrittel konnten für jeden Baum Gesamtwerte (in Prozent) des Triebsterbens und des Blattfalls berechnet werden (Abbildung 1, Schritte 3 und 4). Schadansprachen mit Unterteilung in Kronendrittel wurden bei allen Bäumen in Feldkirchen vorgenommen, da diese Samenplantage die älteste ist und die Bäume daher schon sehr hoch waren. In den beiden steirischen Samenplantagen wurde das Bewertungssystem adaptiert, da hier die Bäume um einige Jahre jünger und beträchtlich kleiner waren als jene in Feldkirchen. Hier wurde nur bei größeren Bäumen, bei denen es zweckmäßig erschien, eine Kronenunterteilung angewendet. Bei kleineren Bäumen, bei denen eine Unterteilung der Krone nicht zielführend erschien, wurde eine Gesamtansprache der ganzen Baumkrone durchgeführt, das heißt der gesamte Baum wurde einer Schadklasse zugeordnet.

3.3 Datenauswertung und statistische Analysen

Die Daten der Erhebungen in den Eschen-Samenplantagen wurden zunächst in den Erhebungsbögen händisch dokumentiert und später mit den Software-Programmen Microsoft® Excel (Version 2007) und IBM® SPSS Statistics (Version 18) elektronisch erfasst. Mit Hilfe der Klassenmittel und durch Mittelwertbildung über die drei Kronendrittel (siehe Abschnitt 3.2 und Abbildung 1) wurden für jeden Rameten Prozentwerte des Triebsterbens und des Blattfalls (in weiterer Folge vorwiegend als Triebsterbensintensität, Befallsintensität, Krankheitsintensität oder Intensität des Blattfalls bezeichnet) ermittelt. Für Rameten, deren gesamte Krone, ohne Unterteilung in

Drittel, beurteilt wurde, wurden ebenfalls Klassenmittelwerte für die Auswertungen verwendet. Für die statistischen Analysen wurden die Prozentwerte der Rameten (Triebsterben und Blattfall) als stetige Variablen behandelt. In die Datenauswertungen und statistischen Analysen (Varianzanalyse mit Messwertwiederholung nach der klassischen Methode nach Fisher, Welch-Test und Rangkorrelationsanalyse nach Spearman-Rho), die separat für jede der drei Samenplantagen durchgeführt wurden, wurden nur Rameten, die bis zum Ende der Erhebungen überlebt haben, einbezogen.

4. Ergebnisse

4.1 Nachweis des Eschentriebsterben-Erregers

Der Erreger des Eschentriebsterbens wurde in den drei Samenplantagen häufig von den gesammelten symptomatischen Eschentrieben isoliert (Tabelle 2). Die Gesamtisolierungsrate von *H. pseudoalbidus* betrug in Feldkirchen 81%, in Bad Gleichenberg 91% und in Traföb 94%, und von einem beträchtlichen Teil der Triebe (43–73%) wurde der Pilz in Reinkultur nachgewiesen. In Feldkirchen wurde *H. pseudoalbidus* auch von Blattspindel-Nekrosen häufig isoliert; die Gesamtisolierungsrate betrug 96% (Tabelle 2). Neben dem positiven Erregernachweis von Trieben und Blättern konnten schwarze pseudosklerotische Überzüge auf Blattstielen und Blattspindeln in der Bodenstreu bei allen 23 Erhebungsterminen häufig dokumentiert werden. Fruchtkörper von *H. pseudoalbidus* wurden dagegen bei den Sommer-Erhebungen häufig beobachtet, in deutlich geringerer Häufigkeit oder gar nicht bei den Erhebungen im September und bei keinem der Mai-Termine.

Tabelle 2: Absolute (Anzahl) und relative (%; Isolierungsrate) Häufigkeit von *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in Reinkultur und in Mischkultur mit anderen Pilzen sowie von anderen, nicht näher bestimmten Pilzen in Isolierungen von symptomatischen Eschentrieben und von nekrotischen Blattspindeln

Samenplantage (Anzahl Triebe bzw. Blattspindeln)	Isolierungsrate von <i>H. pseudoalbidus</i>	<i>Hymenoscyphus pseudoalbidus</i>		Andere Pilze
		in Reinkultur	in Mischkultur	
Feldkirchen, Triebe (n = 21)	17 (81%)	9 (43%)	8 (38%)	4 (19%)
Feldkirchen, Blattspindeln (n = 78) ¹	75 (96%)	48 (61%)	27 (35%)	2 (3%)
Bad Gleichenberg, Triebe (n = 11)	10 (91%)	8 (73%)	2 (18%)	1 (9%)
Traföb, Triebe (n = 18)	17 (94%)	13 (72%)	4 (22%)	1 (6%)

¹Von einer der 78 Blattspindeln (1%) sind keine Pilze ausgewachsen.

4.2 Baummortalität

Während in der Samenplantage in Feldkirchen keine Bäume ausfielen, starben im Untersuchungszeitraum fünf Rameten in Bad Gleichenberg und 18 in Traföß aufgrund des Eschentriebsterbens ab. Diese Bäume wurden bei den Berechnungen der Triebsterbensintensität insgesamt und für einzelne Klone nicht berücksichtigt, sondern es wurden nur Eschen einbezogen, welche die gesamte Erhebungsperiode überlebt haben.

4.3 Intensität des Eschentriebsterbens

In Tabelle 3 ist die mittlere Befallsintensität des Eschentriebsterbens (\pm Standardabweichung) in den drei Samenplantagen über die gesamte Erhebungsperiode (Mai- und Sommer-Ansprachen) dargestellt. In jeder der drei Plantagen variierte die Triebsterbensintensität weder sonderlich zwischen den einzelnen Erhebungsterminen noch über die gesamte dreijährige Erhebungsperiode. Die beiden Samenplantagen in Feldkirchen und Bad Gleichenberg wiesen, unter Berücksichtigung aller überlebender Rameten, eine etwa nur halb so hohe mittlere Befallsintensität des Eschentriebsterbens auf, als jene in Traföß, wo die Triebsterbensintensität bei der Mai-Erhebung 2011 31,3% betrug (Tabelle 3).

Tabelle 3: Mittlere Befallsintensität (\pm Standardabweichung, STABW) des Eschentriebsterbens über die gesamte Erhebungsperiode (Mai- und Sommer-Ansprachen) in Feldkirchen, Bad Gleichenberg und Traföß

Erhebungstermin		Feldkirchen (n = 187)		Bad Gleichenberg (n = 234)		Traföß (n = 201)	
		Intensität	STABW	Intensität	STABW	Intensität	STABW
2009	Mai	14,6%	\pm 18,3%	keine Erhebung		keine Erhebung	
	Sommer	18,1%	\pm 22,4%	10,9%	\pm 18,9%	30,3%	\pm 22,2%
2010	Mai	14,2%	\pm 17,0%	15,3%	\pm 19,8%	36,5%	\pm 24,5%
	Sommer	17,6%	\pm 18,0%	15,6%	\pm 17,8%	29,6%	\pm 19,7%
2011	Mai	14,2%	\pm 17,5%	13,5%	\pm 22,1%	31,3%	\pm 27,2%
	Sommer	11,3%	\pm 17,0%	keine Erhebung		keine Erhebung	

4.4 Intensität des Blattfalls

Frühzeitiger Laubfall bei der Esche, welcher auf direkte Blattinfektionen durch Ascosporen von *H. pseudoalbidus* zurückzuführen ist, wurde bei den Sommer- und September-Erhebungen angesprochen. In allen drei Samenplantagen trat frühzeitiger Blattfall regelmäßig in großem Ausmaß auf, vor allem im September (Tabelle 4). Bei jedem der Sommer-Erhebungstermine war die mittlere Intensität des Blattfalls gering (0,6–7,5% in Feldkirchen, 0,2–4,5% in Bad Gleichenberg und 1,0–1,6% in Traföß). Bei den Erhebungen Anfang bis Ende September war der Blattfall dagegen weit fortgeschritten (46,4–67,2% in Feldkirchen, 64,2–92,0% in Bad Gleichenberg und 34,5–74,3% in Traföß), vor allem im Jahr 2009.

Tabelle 4: Mittlere Intensität des Blattfalls (\pm Standardabweichung, STABW) über die gesamte Erhebungsperiode (Sommer- und September-Ansprachen) in Feldkirchen, Bad Gleichenberg und Traföß

Erhebungstermin		Feldkirchen (n = 187)		Bad Gleichenberg (n = 234)		Traföß (n = 201)	
		Intensität	STABW	Intensität	STABW	Intensität	STABW
2009	Sommer	7,5%	$\pm 13,1\%$	4,5%	$\pm 13,1\%$	1,6%	$\pm 3,9\%$
	September	67,2%	$\pm 35,9\%$	89,6%	$\pm 24,5\%$	74,3%	$\pm 31,9\%$
2010	Sommer	0,6%	$\pm 2,0\%$	0,2%	$\pm 1,2\%$	1,0%	$\pm 3,4\%$
	September	46,4%	$\pm 39,4\%$	64,2%	$\pm 40,4\%$	34,5%	$\pm 36,9\%$
2011	Sommer	0,6%	$\pm 1,6\%$	keine Erhebung		keine Erhebung	
	September	64,0%	$\pm 33,6\%$	92,0%	$\pm 19,9\%$	45,0%	$\pm 36,5\%$

4.5 Triebsterbensintensität je Klon

In jeder der drei Samenplantagen variierte die mittlere Intensität des Eschentriebsterbens über die gesamte Erhebungsperiode beträchtlich zwischen verschiedenen Klonen. Das Spektrum reichte von Klonen, die fast keine Krankheitsanzeichen aufwiesen bis zu Klonen mit starkem Triebsterben (Abbildungen 2 bis 4). In keiner der Plantagen und zu keinem Erhebungstermin war ein Eschen-Klon völlig frei von Krankheitssymptomen. Die Verteilung der Klone auf verschiedene Schadstufen (10%-Klassen der mittleren Triebsterbensintensität) bei den Mai-Erhebungen im Jahr 2011 ist in Abbildung 2 separat für die drei Samenplantagen dargestellt. Die unterschiedlich hohe Gesamt-Triebsterbensintensität in den drei Plantagen (siehe Abschnitt 4.3 und Tabelle 3) spiegelt sich auch in der Verteilung der mittleren Triebsterbensintensität der Klone wider: Während der Anteil gering geschädigter Klone in Feldkirchen und Bad Gleichenberg hoch war, gab es in Traföß eine viel größere Anzahl stärker geschädigter Klone (Abbildung 2).

In Feldkirchen schwankte die mittlere Triebsterbensintensität der Klone bei der Mai-Erhebung im Jahr 2011 zwischen 1% (Klon-Nr. 14) und 90% (Klon-Nr. 8) (Abbildung 3). Über die Hälfte (59,8%) der 51 Klone wies eine Triebsterbensintensität $\leq 10\%$ auf (Abbildungen 2 und 4). In Abbildung 3 sind ein Ramet eines der am geringsten geschädigten Klone (Nr. 48) und ein Ramet des am stärksten geschädigten Klons (Nr. 8) in dieser Samenplantage abgebildet. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung zeigte, dass sich die mittlere, über alle Rameten berechnete Triebsterbensintensität in Feldkirchen über die Erhebungsperiode (Tabelle 3) statistisch signifikant ($p < 0,001$) verändert hat und dass zwischen Eschen-Klonen statistisch signifikante Unterschiede ($p = 0,001$) in der Triebsterbensintensität bestehen.

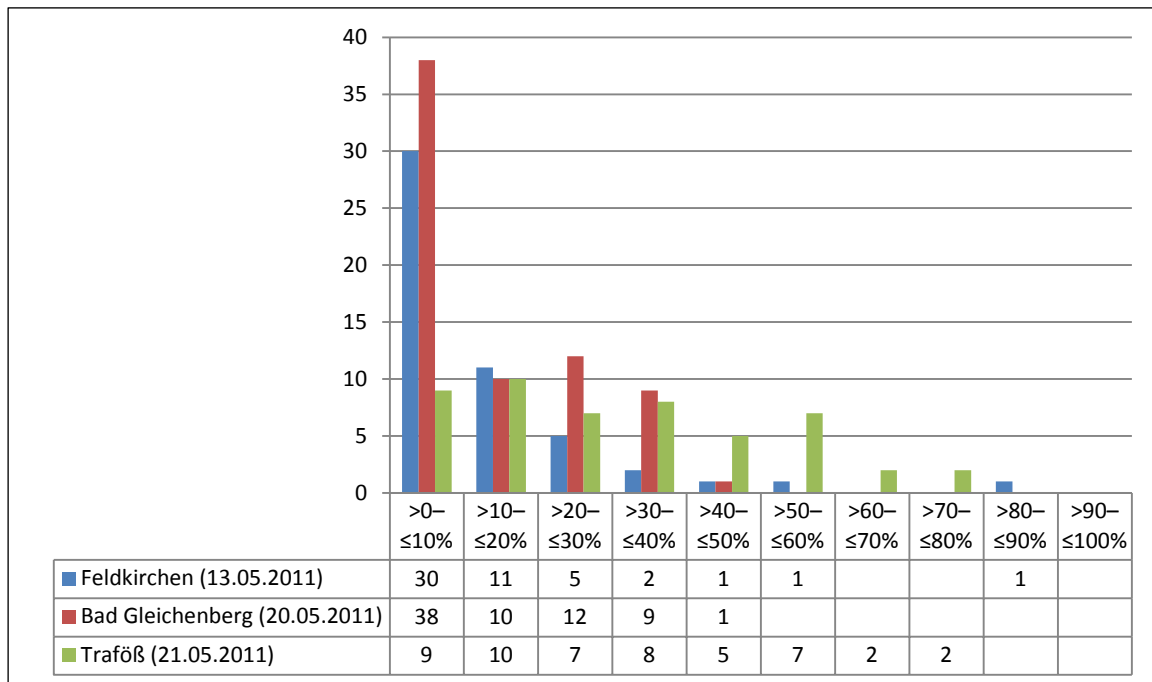


Abbildung 2: Verteilung der Klone aller drei Samenplantagen auf in 10%-Klassen unterteilte Schadstufen der mittleren Triebsterbensintensität (Mai-Erhebungen 2011)



Abbildung 3: Extreme Unterschiede in der Befallsintensität des Eschentriebsterbens zwischen *F. excelsior*-Klonen in Feldkirchen am 13.05.2011. Links: Ramet D8, ein Ramet des am stärksten geschädigten Klons (Nr. 8); rechts: Ramet C48, ein Exemplar eines der am geringsten geschädigten Klone (Nr. 48).

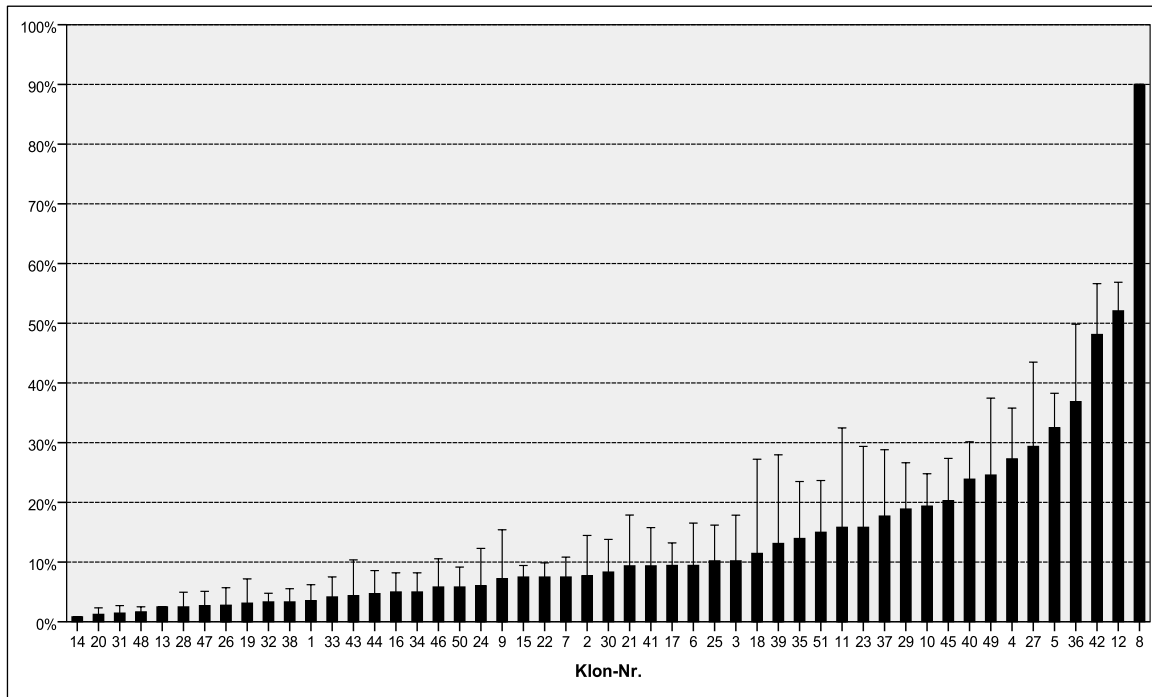


Abbildung 4: Mittlere Befallsintensität (± Standardabweichung) des Eschentriebsterbens an den 51 Klonen in Feldkirchen am 13.05.2011

In Bad Gleichenberg lag die mittlere Intensität des Triebsterbens bei der Erhebung im Mai 2011 bei 38 von 70 Klonen (54,3%) bei $\leq 10\%$, bei 10 Klonen (14,3%) zwischen > 10 und $\leq 20\%$, bei 12 Klonen (17,1%) zwischen > 20 und $\leq 30\%$ und bei 9 Klonen (12,9%) zwischen > 30 und $\leq 40\%$ (Abbildung 2). Nur ein Klon (1,4%) wies eine Schädigung $> 40\%$ auf. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwertwiederholung zeigte einen signifikanten Einfluss des Erhebungstermins auf die Triebsterbensintensität ($p = 0,005$, Tabelle 3); die Unterschiede in der Triebsterbensintensität zwischen Eschen-Klonen waren dagegen statistisch nicht signifikant ($p = 0,081$), wobei die Signifikanzschwelle nur geringfügig überschritten wurde.

In Traföß waren bei der Mai-Erhebung 2011 (Abbildung 2) nur 9 der 50 Klone (18,0%) gering geschädigt (Triebsterbensintensität $< 10\%$); 10 Klone (20,0%) hatten eine Befallsintensität zwischen > 10 und $\leq 20\%$, 7 Klone (14,0%) eine zwischen > 20 und $\leq 30\%$, und 8 Klone (16,0%) wiesen eine Triebsterbensintensität zwischen > 30 und $\leq 40\%$ auf. Die restlichen 16 Klone (32,0%) hatten eine Triebsterbensintensität $> 40\%$, bei einem Maximalwert von knapp unter 80% des am stärksten geschädigten Klons. Eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwertwiederholung belegte einen statistisch hoch signifikanten Einfluss des Erhebungstermins ($p < 0,001$, Tabelle 3) und des Klons ($p < 0,001$) auf die Triebsterbensintensität.

4.6 Intensität des Blattfalls je Klon

So wie bei der Triebsterbensintensität konnten in jeder der drei Samenplantagen auch bei der Intensität des Blattfalls und dessen zeitlichem Verlauf große Unterschiede zwischen verschiedenen Eschen-Klonen beobachtet werden. Dies traf vor allem für die September-Erhebungen, teilweise aber auch für die Sommer-Erhebungen, zu. Bei den Sommer-Erhebungen wurde nur bei einem Teil der Klone Blattfall, insgesamt in einem geringen Ausmaß

(Tabelle 4), beobachtet. Dies änderte sich aber bis zu den September-Erhebungen, bei welchen der Laubfall bei der überwiegenden Mehrzahl der Bäume bereits weit fortgeschritten war (Tabelle 4). Viele Klone hatten zu diesem Zeitpunkt ihr Laub vollständig oder fast vollständig abgeworfen, während andere, häufig in unmittelbarer Nachbarschaft, zum gleichen Zeitpunkt noch üppig belaubt waren.

Durch die statistischen Analysen mittels Welch-Tests wurden in den drei Samenplantagen signifikante Unterschiede (p mindestens $< 0,05$) in der Intensität des Blattfalls zwischen Eschen-Klonen bei allen September-Erhebungen und teilweise auch bei den Sommer-Erhebungen (Feldkirchen: 2009 und 2011, Traföb: 2009) nachgewiesen. Ferner waren in allen Plantagen die Daten der Intensität des Blattfalls bei den September-Erhebungen in verschiedenen Jahren (2009–2011) stark und statistisch höchst signifikant miteinander korreliert (Spearman-Rho-Rangkorrelationsanalysen, $p < 0,001$). Dies traf sowohl für Berechnungen mit einzelnen Rameten (Feldkirchen: r zwischen 0,795 und 0,830, $n = 187$; Bad Gleichenberg: r zwischen 0,610 und 0,678, $n = 234$; Traföb: r zwischen 0,644 und 0,686, $n = 201$) als auch mit Klonen (Feldkirchen: r zwischen 0,861 und 0,880, $n = 51$; Bad Gleichenberg: r zwischen 0,626 und 0,761, $n = 70$; Traföb: r zwischen 0,702 und 0,810, $n = 50$) zu, wobei die Zusammenhänge bei der Verwendung von Klon-Mittelwerten noch straffer waren als jene bei den Berechnungen mit den Daten der Rameten.

4.7 Zusammenhang zwischen Blattfall und Triebsterben

Mithilfe der Spearman-Rho-Rangkorrelationsanalyse wurden in den drei Samenplantagen für verschiedene Jahre Zusammenhänge zwischen der mittleren Intensität des Blattfalls der Klone im September und der mittleren Intensität des Triebsterbens bei der darauf folgenden Erhebung im Mai untersucht. Während bei vier der sechs möglichen Werte-Paare [Blattfall September (2009 bzw. 2010) / Triebsterben Mai (2010 bzw. 2011), je zwei Analysen pro Samenplantage] kein statistisch signifikanter Zusammenhang ($p > 0,05$) festgestellt wurde, ergab sich bei zwei Analysen eine statistisch signifikante und schwach positive lineare Korrelation zwischen den beiden Merkmalen (jeweils für Blattfall September 2010 / Triebsterben Mai 2011), nämlich in Feldkirchen ($r = 0,341$, $p = 0,014$, $n = 51$ Klone) und in Traföb ($r = 0,349$, $p = 0,013$, $n = 50$ Klone). Für die Analysetermine September 2010 / Mai 2011 war somit in Feldkirchen und Traföb ein Trend erkennbar, dass Klone mit starkem Blattfall im September 2010 stärkere Triebsterbenssymptome im Mai 2011 zeigten als Klone mit schwachem Blattfall im September 2010.

5. Diskussion

5.1 Assoziierung von *H. pseudoalbidus* mit den Krankheitssymptomen

H. pseudoalbidus konnte in allen drei Samenplantagen insgesamt häufig, und oft auch in Reinkultur, von Trieben und Zweigen, welche Frühsymptome des Eschentriebsterbens aufwiesen, und von nekrotischen Blattspindeln isoliert werden. Die hohen Isolierungsraten und das häufige Auftreten von pseudosklerotischen Überzügen an Blattstielen und Blattspindeln so-

wie von Apothezien von *H. pseudoalbidus* zeigten, dass der Eschentriebsterben-Erreger massiv in den drei Samenplantagen auftritt und mit den beobachteten Krankheitssymptomen assoziiert ist.

5.2 Intensität des Eschentriebsterbens in den Samenplantagen

Die drei in dieser Masterarbeit untersuchten Samenplantagen zählen zu den wenigen Monitoring-Flächen in Österreich, auf denen die Entwicklung der Befallsintensität des Eschentriebsterbens in den letzten Jahren genau verfolgt wurde. Die höchste, über alle Bäume berechnete mittlere Triebsterbensintensität wurde in der Samenplantage in Traföb festgestellt (29,6–36,5%), während die Befallsintensität in den Plantagen in Feldkirchen (11,3–18,1%) und in Bad Gleichenberg (10,9–15,6%) auf einem ähnlichen und insgesamt relativ niedrigen Niveau lag (Tabelle 3). Die etwa doppelt so hohe Intensität des Eschentriebsterbens in der Plantage in Traföb im Vergleich zur Krankheitsintensität in Feldkirchen und Bad Gleichenberg kann vermutlich auf das geringere Alter und die geringere Größe der Bäume auf dieser Fläche und die geringe Entfernung (20 m) der Plantage zu natürlichen Infektionsquellen und dem damit verbunden höheren Infektionsdruck durch *H. pseudoalbidus* zurückgeführt werden.

Insgesamt kann aufgrund der Untersuchungsergebnisse von einer langsamen Entwicklung bzw. Stagnation des Eschentriebsterbens (Bad Gleichenberg, Traföb) oder sogar von einem leichten Rückgang der Krankheit (Feldkirchen) im Untersuchungszeitraum (2009–2011) gesprochen werden. Aufgrund der Befunde von Untersuchungen auf Versuchsfeldern und in Waldbeständen in anderen europäischen Ländern (HUSSON et al. 2012, MCKINNEY et al. 2014) ist es aber wahrscheinlich, dass die Krankheitsentwicklung in den drei österreichischen Samenplantagen nicht zum Stillstand gekommen ist. Es wäre daher wichtig, die weitere Entwicklung der Triebsterbensintensität auch in den nächsten Jahren zu überwachen, da verlässliche Rückschlüsse über die Entwicklung der Krankheit in den Samenplantagen wahrscheinlich erst nach einem längeren Beobachtungszeitraum möglich sind.

5.3 Unterschiede in der Krankheitsintensität zwischen Eschen-Klonen

In allen drei österreichischen Samenplantagen wurden deutliche Unterschiede im Ausmaß des Triebsterbens und in der Intensität des Blattfalls aufgrund von natürlichen Infektionen durch *H. pseudoalbidus* zwischen *F. excelsior*-Klonen festgestellt. Diese Unterschiede deuten darauf hin, dass die 171 untersuchten Genotypen (insgesamt 622 Rameten) in ihrer Anfälligkeit bzw. Resistenz gegenüber dem Krankheitserreger beträchtlich variieren. Bei keinem Erhebungstermin war ein Klon vollkommen frei von Krankheitssymptomen, und die Verteilung der Krankheitsintensität von unterschiedlich geschädigten Klonen zeigte, bei unterschiedlich hohem mittleren Schädigungsniveau, einen kontinuierlichen Verlauf (z. B. Feldkirchen: Abbildung 4).

Die deutlichen Unterschiede in der Krankheitsintensität von Eschen-Klonen in den österreichischen Samenplantagen stehen im Einklang mit Untersuchungen in Eschen-Klonarchiven und Samenplantagen in Dänemark (MCKINNEY et al. 2014), Schweden (STENER 2013) und Holland (KOPINGA und DE VRIES 2013), welche belegten, dass die Anfälligkeit bzw.

Resistenz von Genotypen der Esche gegenüber *H. pseudoalbidus* genetisch verankert ist. In anderen Untersuchungen wurden auch beträchtliche Unterschiede in der Anfälligkeit von Halbgeschwisterfamilien und Herkunftsorten von *F. excelsior* für das Eschentriebsterben und eine hohe Vererbbarkeit dieses Merkmals nachgewiesen (PLIÜRA et al. 2011, KJÆR et al. 2012, METZLER et al. 2012, ENDERLE et al. 2013, MCKINNEY et al. 2014).

5.4 Vorzeitiger Blattfall – ein Symptom des Eschentriebsterbens

Seit dem Auftreten des Eschentriebsterbens wird in Österreich vorzeitiger Blattfall der Esche, der regional, lokal und in verschiedenen Jahren unterschiedlich ausgeprägt auftritt, beobachtet (KIRISITS et al. 2012). In den Samenplantagen wurde jeweils bei den Sommer-Erhebungen beginnender Blattfall festgestellt, der bis zu den September-Aufnahmen weit fortgeschritten war, sodass ein großer Teil der Eschen zu diesem Zeitpunkt bereits nahezu vollständig oder ganz entlaubt war. Da an den Blättern die typischen Symptome des Eschentriebsterbens (Nekrosen an Blattspindeln und Blättchenadern sowie Blattwelke) häufig und jedes Jahr wiederkehrend beobachtet wurden und aufgrund der häufigen Isolierung von *H. pseudoalbidus* von nekrotischen Blattspindeln in Feldkirchen (siehe Abschnitt 4.1 und Tabelle 2), kann davon ausgegangen werden, dass der frühe Laubfall in den Plantagen tatsächlich vom Eschentriebsterben-Erreger hervorgerufen wurde. Die Ergebnisse in den Samenplantagen bestätigen damit frühere Befunde, dass *H. pseudoalbidus* auch Blattsymptome verursacht und dass vorzeitiger Blattfall ein Symptom des Eschentriebsterbens ist (KIRISITS et al. 2012, KRÄUTLER und KIRISITS 2012). Durch die Krankheit hat sich die Phänologie des Blattfalls von *F. excelsior* grundsätzlich verändert, denn früher waren Eschen bis in den Frühherbst hinein dicht belaubt.

5.5 Zusammenhang zwischen Blattfall und Triebsterben

Hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Blattfall und Triebsterben gibt es zwei alternative Annahmen, die sich nicht unbedingt gänzlich ausschließen müssen (KIRISITS und FREINSCHLAG 2012). Einerseits wäre ein positiver Zusammenhang zwischen Blattfall und Triebsterben zu vermuten: Je stärker Eschenblätter von *H. pseudoalbidus* infiziert werden, desto stärker ist der vorzeitige Blattfall und desto wahrscheinlicher ist es, dass der Erreger in verholzte Teile der Esche eindringt und starkes Triebsterben verursacht. Andererseits könnte vorzeitiger Blattfall ein Abwehrmechanismus sein: Das vorzeitige Abwerfen von infizierten Blättern könnte teilweise verhindern, dass *H. pseudoalbidus* in Triebe und Zweige einwächst und dort Rindennekrosen und Holzverfärbungen verursacht.

Die in Feldkirchen und Traföb festgestellte schwach positive Korrelation zwischen der Intensität des Blattfalls im September 2010 und der Triebsterbensintensität im Mai 2011 (mit der Tendenz je mehr Blattfall, desto mehr Triebsterben) lässt eher darauf schließen, dass Blattfall und Triebsterben miteinander gekoppelt sind und beide Symptome gleichermaßen die Anfälligkeit von Eschen widerspiegeln. Ferner gab es in jeder der drei Samenplantagen einzelne Klone, die im September noch immer stark belaubt waren und im gesamten Erhebungszeitraum kaum von Triebsterben betroffen waren. Eschen mit geringer Triebsterbensintensität und dichter

Belaubung bis in den Spätsommer und Frühherbst hinein werden auch in Waldbeständen gelegentlich beobachtet, und solche Genotypen dürften für *in situ*- und *ex situ*-Erhaltungsmaßnahmen (siehe Abschnitt 6) besonders interessant sein (KIRISITS und FREINSCHLAG 2012, 2014). In Bad Gleichenberg und bei einer anderen Terminkombination (Blattfall September 2009 und Triebsterben Mai 2010) in Feldkirchen und Traföb konnte allerdings kein Zusammenhang zwischen der Intensität der beiden Symptome festgestellt werden, was zeigt, dass Eschen mit starkem Blattfall nicht unbedingt auch stark von Triebsterben betroffen sein müssen (und umgekehrt). Die definitive Klärung des Verhältnisses der beiden Krankheitssymptome bedarf weiterer Untersuchungen.

6. Schlussfolgerungen und Handlungsempfehlungen

Beobachtungen und Untersuchungen in Waldbeständen und auf Versuchsfeldern in verschiedenen europäischen Ländern zeigen, dass die Populationen von *F. excelsior* durch Blatt- und Triebsterbenssymptome, Stammfuß- und Wurzelhalsnekrosen und die dadurch bedingte Mortalität schwer in Mitleidenschaft gezogen sind (HUSSON et al. 2012, MCKINNEY et al. 2014). Wie sich die Eschentriebsterben-Epidemie weiter entwickeln wird, ist schwer vorherzusagen, Prognosen gehen aber davon aus, dass die Populationsdichte der Esche zurückgehen und ihre Bedeutung im Wald, in der Kulturlandschaft sowie im städtischen Grün stark abnehmen wird (MCKINNEY et al. 2014). Befriedigende, kurzfristige Waldschutzmaßnahmen gegen die Krankheit oder gar „Lösungen“ des Problems stehen zurzeit nicht zur Verfügung (KIRISITS und FREINSCHLAG 2014). Der „Hoffnungsschimmer“ schlechthin ist aber die durch zahlreiche Untersuchungen begründete Möglichkeit, dass es Genotypen der Esche gibt, die eine ausreichend hohe Resistenz gegenüber *H. pseudoalbidus* aufweisen.

Die Untersuchungen in den drei Eschen-Samenplantagen in Österreich von 2009 bis 2011 haben gezeigt, dass es erhebliche Unterschiede in der Intensität des Triebsterbens und des Blattfalls zwischen Klonen von *F. excelsior* gibt. Dabei zeigte sich in jeder Samenplantage ein ähnliches Bild: Das Spektrum reichte von gering bis zu stark geschädigten Klonen. Die Unterschiede im Schädigungsniveau von Eschen-Klonen durch das Eschentriebsterben lassen auf eine entsprechend große Variation in der Resistenz bzw. Anfälligkeit von Genotypen der Europäischen Esche gegenüber *H. pseudoalbidus* schließen. Übereinstimmende Befunde über Resistenzunterschiede in Populationen von *F. excelsior* liegen jetzt aus verschiedenen Teilen des Verbreitungsgebiets der Baumart vor: Dänemark (KJÆR et al. 2012, MCKINNEY et al. 2014), Schweden (STENER 2013), Deutschland (METZLER et al. 2012, ENDERLE et al. 2013), Litauen (PLIŪRA et al. 2011), Holland (KOPINGA und DE VRIES 2013) und Österreich (KIRISITS und FREINSCHLAG 2012, FREINSCHLAG 2013 und der hier vorliegende Bericht). Dies nährt die Hoffnung, dass es zumindest eine kleine Anzahl von Genotypen der Esche gibt, die ein genügend hohes Resistenzniveau haben, um dem Eschentriebsterben dauerhaft widerstehen zu können. Partiiell resistente Eschen und die hohe Vererbbarkeit des Merkmals der Triebsterbensresistenz könnten der Ausgangspunkt für natürliche Anpassungsprozesse der Populationen von *F. excelsior* an den neuen Selektionsfaktor *H. pseudoalbidus* sein (STENER 2013, MCKINNEY et al. 2014). Diese Anpassungsprozesse könnten durch die nachfolgend vorgestellten Erhaltungsmaßnahmen unterstützt bzw. beschleunigt werden.

6.1 *In situ*-Erhaltung und Förderung der Esche

Unter *in situ*-Erhaltung wird die Bewahrung in der natürlichen Umwelt und am natürlichen Standort verstanden, die darauf abzielt, das Anpassungspotential einer Art oder speziell einer Baumart mittels natürlicher Verjüngung sicherzustellen (GEBUREK und MÜLLER 2006). In Bezug auf die Esche und das Eschentriebsterben bedeutet das, dass weitgehend gesunde und lediglich gering erkrankte Eschen jeden Alters in stark betroffenen Beständen in allen Phasen der Waldpflege markiert, erhalten und gefördert und deren natürliche Verjüngung ermöglicht werden sollten. Bei der undifferenzierten Räumung von Eschen ohne Rücksicht auf ihren Gesundheitszustand besteht das Risiko, dass möglicherweise resistente Individuen unwiederbringlich aus den Populationen eliminiert werden.

In situ-Maßnahmen zur Erhaltung und Förderung gering erkrankter Eschen werden vorwiegend auf Freiwilligkeit basieren, und Waldbesitzer, Forstleute und andere Praktiker sind aufgerufen, sich an solchen Maßnahmen zu beteiligen. Der forstlichen Beratung durch Landesforstdienste, Bezirksforstinspektionen und Forstabteilungen der Landwirtschafts- und Bezirksbauernkammern sowie durch andere Institutionen kommt, in enger Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Institutionen (BOKU, BFW), die wichtige Aufgabe zu, die Zielsetzungen und die Sinnhaftigkeit der vorgeschlagenen *in situ*-Maßnahmen zu kommunizieren und Kenntnisse, wie konkret vorgegangen werden sollte, weiterzugeben.

6.2 *Ex situ*-Erhaltung und Resistenzzüchtung

Unter *ex situ*-Erhaltung werden Maßnahmen außerhalb des natürlichen Standortes zusammengefasst, dazu zählen insbesondere die Langzeitlagerung von Saatgut sowie die Anlage von Klon-Archiven und Erhaltungs-Samenplantagen (GEBUREK und MÜLLER 2006). Die vorliegende Masterarbeit wurde durch frühere *ex situ*-Maßnahmen bei der Baumart Esche, die Anlage der drei untersuchten Samenplantagen, ermöglicht. Die Tatsache, dass die Esche eine der wichtigsten und am weitesten verbreiteten einheimischen Laubbaumarten ist, und die fundierten Hinweise auf das Vorkommen von resistenten Individuen würden die Einleitung weiterer *ex situ*-Maßnahmen bei *F. excelsior*, welche ein erster Schritt in Richtung Resistenzzüchtung wären, sicherlich rechtfertigen.

Konkret könnten neue Eschen-Samenplantagen angelegt werden, die sich aus einer möglichst großen Anzahl weiblicher bzw. zwittriger und männlicher Individuen zusammensetzen, welche eine hohe Resistenz gegenüber *H. pseudoalbidus* aufweisen (STENER 2013, MCKINNEY et al. 2014). Diese Samenplantagen sollten getrennt für verschiedene Hauptwuchsgebiete eingerichtet werden, wobei man vor allem solche auswählen wird, in denen die Esche besonders häufig vorkommt und eine relativ große ökologische und wirtschaftliche Bedeutung besitzt. Die Schritte zur Anlage solcher Eschen-Samenplantagen umfassen die Auswahl von gering geschädigten Eschen in stark betroffenen Waldbeständen, deren Veredelung und Beobachtung, die endgültige Auswahl von Klonen für die Plantagen, deren Vermehrung in ausreichender Wiederholung sowie die Anlage und weitere Betreuung der Plantagen (MCKINNEY et al. 2014). Für diese neuen Plantagen könnten die am geringsten geschädigten Klone der bereits bestehenden Eschen-Plantagen herangezogen werden, und diese könnten mit neuen, noch auszuwählenden Triebsterben-resistenten Genotypen in

Waldbeständen ergänzt werden. Diese neuen Klone könnten in Zusammenarbeit mit der Forstpraxis im Zuge von *in situ*-Erhaltungsmaßnahmen (siehe Abschnitt 6.1) aufgefunden und ausgewählt werden.

Bei der Auswahl von Genotypen für *ex situ*-Erhaltungsmaßnahmen und Resistenz-züchtungsprogramme ist unbedingt darauf zu achten, dass es zu keiner großen Einengung der genetischen Vielfalt der Populationen und damit verbunden zu keiner dramatischen Einschränkung ihres Anpassungspotentials an sich ändernde Umweltbedingungen kommt (MCKINNEY et al. 2014). Auch die Anfälligkeit von Genotypen gegenüber anderen Schadfaktoren muss berücksichtigt werden (MCKINNEY et al. 2014). Es wäre daher wichtig, dass neu angelegte Plantagen, in Übereinstimmung mit dem bisherigen Samenplantagenprogramm in Österreich (GEBUREK und MÜLLER 2006), eine ausreichend große Anzahl von Eschen-Klonen umfassen, mindestens 50, aber besser noch mehr. Die genetische Vielfalt der Plantagen-Populationen könnte mithilfe molekularer Marker, vor allem mit Mikrosatelliten, untersucht werden, wodurch eine mögliche Einengung des Gen-Pools im Vergleich zu Eschenpopulationen im Wald (genetische Drift) beurteilt werden könnte. Bei einer zu hohen Einengung könnten zusätzliche Genotypen in die zukünftigen Plantagen-Populationen aufgenommen werden.

Die oben beschriebene Anlage von neuen Eschen-Samenplantagen könnte bereits in 15 bis 20 Jahren erste Erfolge zeigen (MCKINNEY et al. 2014). Möglicherweise würden die Plantagen bereits zu diesem Zeitpunkt erstes Saatgut liefern, von dem Sämlinge mit einem befriedigend hohen Resistenzniveau gegenüber dem Eschentriebsterben herangezogen werden könnten. Dies wäre im Interesse vieler Akteure in der Forstwirtschaft, im Naturschutz und in der Landschaftspflege sowie im allgemeinen Interesse, und der mittel- und langfristige Nutzen einer solchen Initiative würde die Aufwendungen vermutlich um ein Vielfaches übersteigen. Im Vergleich zu *in situ*-Maßnahmen (Abschnitt 6.1) ist bei den oben skizzierten *ex situ*-Maßnahmen mit einer Verkürzung des Zeitraums der Anpassung der Eschenpopulationen an den neuen Selektionsfaktor Eschentriebsterben zu rechnen, wobei sich diese beiden Erhaltungsstrategien ergänzen. Ähnlich wie in anderen europäischen Ländern (PLIÛRA et al. 2011, STENER 2013, MCKINNEY et al. 2014) wären *ex situ*-Maßnahmen der vielversprechendste und kosteneffizienteste Ansatz, der Esche wieder ein wenig jene wirtschaftliche, naturschutzfachliche und ökologische Bedeutung zukommen zu lassen, die sie vor dem Auftreten des Eschentriebsterbens in Österreich hatte.

Danksagung

Die Untersuchungen über das Eschentriebsterben in den österreichischen Samenplantagen wurden durch einen Förderpreis der Stiftung „120 Jahre Universität für Bodenkultur“ an Christian Freinschlag finanziell unterstützt, wofür der Vergabekommission und dem Preisstifter, Ehrensator Dipl.-Ing. Rupert Hatschek aufrichtiger Dank ausgesprochen wird. Die hier zusammengefasste Masterarbeit wurde ferner durch die Forschungsarbeiten über das Eschentriebsterben in Österreich am IFFF-BOKU unterstützt, welche vom Lebensministerium (Forschungsprojekt Nr. 100343, BMLFUW-LE.3.2.3/0001-IV/2/2008), von den Landesregierungen von Niederösterreich, der Steiermark, von Oberösterreich, Kärnten, Salzburg, Vorarlberg

und des Burgenlandes, vom Forstamt der Stadt Wien (MA 49), von den Österreichischen Bundesforsten (ÖBf AG) sowie vom 7. Forschungsrahmenprogramm der Europäischen Union (FP7/2007–2013, KBBE 2009-3), Vertragsnummer 245268 (ISEFOR) finanziert wurden und werden. Den Geldgebern wird für die Unterstützung der Forschungsarbeiten großer Dank ausgesprochen.

Literaturverzeichnis

ENDERLE, R.; PETERS, F.; NAKOU, A.; METZLER, B. (2013): Temporal development of ash dieback symptoms and spatial distribution of collar rots in a provenance trial of *Fraxinus excelsior*. European Journal of Forest Research 132: 865–876.

GEBUREK, T.; MÜLLER, F. (2006): Nachhaltige Nutzung von genetischen Waldressourcen in Österreich – Evaluierung bisheriger Maßnahmen und Perspektiven für zukünftiges Handeln. BFW-Berichte, Schriftenreihe des Bundesforschungs- und Ausbildungszentrums für Wald, Naturgefahren und Landschaft, Wien, Österreich, ISSN 1013-0713, 134: 1–36.

FREINSCHLAG, C. (2013): Untersuchungen zum Eschentriebsterben in Eschen-Samenplantagen in Österreich. Masterarbeit, Universität für Bodenkultur Wien.

GROSS, A.; HOLDENRIEDER, O.; PAUTASSO, M.; QUELOZ V.; SIEBER, T. N. (2014): *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. Molecular Plant Pathology 15: 5–21.

HUSSON, C.; GRANDJEAN, J. P.; CAËL, O.; NAGELEISEN, L. M.; MARÇAIS, B. (2012): Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. Plant Pathology 61: 889–895.

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(9): 184–191.

KIRISITS, T.; FREINSCHLAG, C. (2014): Eschentriebsterben: Wissensstand und Praxisempfehlungen. Kärntner Forstverein Information 73/Jänner 2014: 18–20.

KIRISITS, T.; CECH, T. L.; FREINSCHLAG, C.; HEINZE, B.; KONRAD, H.; KRÄUTLER, K.; KRITSCH, P.; STEINBÖCK, S.; VAN LOO, M. (2012): Ash and ash dieback in Austria: Occurrence and importance of ash, situation of the disease, past and ongoing work and research needs. In: VASAITIS, R. (ed.), Meeting program and abstracts of country presentations, COST Action FP1103 FRAXBACK 1st management committee / working group meeting, Vilnius, Lithuania, 13–14 November 2012, 5–9.

KJÆR, E.; MCKINNEY, L. V.; NIELSEN, L.; HANSEN, L.; HANSEN, J. (2012): Adaptive potential of ash (*Fraxinus excelsior*) populations against the novel emerging pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. Evolutionary Applications 5: 219–228.

KOPINGA, J.; DE VRIES, S. (2013): [Differences in susceptibility to *Chalara fraxinea* (twig dieback of ash) of selections of common ash (*Fraxinus excelsior*) in The Netherlands – report of the observations and results of 2012]. Wageningen: Centrum voor Genetische Bronnen Nederland (CGN), Wageningen University and Research Centre, CGN Rapport 26: 1–32. (In Holländisch).

KRÄUTLER, K.; KIRISITS, T. (2012): The ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* is associated with leaf symptoms on ash species (*Fraxinus* spp.). Journal of Agricultural Extension and Rural Development 4(9): 261–265.

MCKINNEY, L. V.; NIELSEN, L. R.; COLLINGE, D. B.; THOMSEN, I. M.; HANSEN, J. K.; KJÆR, E. D. (2014): The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long term solution. Plant Pathology, in press.

METZLER, B.; ENDERLE, R.; KAROPKA, M.; TÖPFNER, K.; ALDINGER, E. (2012): Entwicklung des Eschentriebsterbens in einem Herkunftsversuch an verschiedenen Standorten in Süddeutschland. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung 183: 168–179.

PLIŪRA, A.; LYGIS, V.; SUCHOCKAS, V.; BARTKEVIČIUS, 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: 17–34.

STENER, L. G. (2013): Clonal differences in susceptibility to the dieback of *Fraxinus excelsior* in southern Sweden. Scandinavian Journal of Forest Research 28: 205–216.

Kontakt: Christian Freinschlag
Christian.Freinschlag@gmx.at

Immunabwehr von Nonnenraupen (*Lymantria monacha* L.) nach Parasitierung durch Schlupfwespen

Immune reaction of nun moth (Lymantria monacha L.) larvae induced by parasitic wasps

Immunabwehr von Nonnenraupen

Christa SCHAFELLNER

Projektteam

Christa Schafellner, Wolfgang Arthofer, Susanne Krumböck, Gabriele Motlik, Andrea Stradner, Alix Yvon

Zusammenfassung

Um sich erfolgreich in einer Wirtsraupe entwickeln zu können, setzen bestimmte parasitische Wespen spezielle Viren, sog. Polydnaviren (PDV) ein, die gemeinsam mit den Parasiteneiern in den Wirt injiziert werden. Die Infektion führt aber nicht zur Vermehrung des Virus, sondern beeinflusst Immunsystem und Stoffwechsel der Raupe. Die PDV-tragende Wespe *Glyptapanteles liparidis* (Hym., Braconidae) parasitiert erfolgreich Raupen des Schwammspinners (*Lymantria dispar*), die nah verwandten Raupen der Nonne (*Lymantria monacha*) sind dagegen keine geeigneten Wirte. Obwohl Virus-DNA in die Immunabwehrzellen der Nonnen-Raupen eindringt, werden die für die Immununterdrückung verantwortlichen Gene entweder nicht oder nicht in ausreichender Menge exprimiert. Die Parasitierung ruft eine starke Immunabwehr in diesen ungeeigneten Wirtsraupen hervor, die Parasiteneier werden eingekapselt und eliminiert. Mit hohen Missbildungs- und Mortalitätsraten hat die Virusinfektion aber auch dramatische Auswirkungen auf das Überleben der parasitierten Wirtsraupen. Aus den Datensets von Transkriptomanalysen beider Wirtsarten (Schwammspinner, Nonne) können wir nun gezielt nach Genen suchen, die eine Schlüsselrolle in der Immunantwort und Physiologie der infizierten Wirte spielen. Diese Gene bzw. ihre Produkte besitzen ein enormes Potenzial für die Entwicklung neuartiger Biopestizide, für pharmazeutische Zwecke bis hin zur gezielten Genplazierung im medizinischen Anwendungsbereich.

Abstract

In many species of endoparasitic wasps, the survival of the wasps is enhanced by an endosymbiotic virus, called polydnavirus (PDV) that is injected along with the wasp eggs into the host larva. The physiology of the insect host is drastically altered during parasitism, including major alterations in host development and immune functioning. The PDV-carrying endoparasitic wasp *Glyptapanteles liparidis* (Hym., Braconidae) uses gypsy moth (*Lymantria dispar*) larvae as its main host for successful development of its progeny. In contrast, the closely related nun moth (*Lymantria monacha*) is not a suitable host. The wasps readily oviposit into young nun moth larvae, but the parasitized hosts mount strong immune reactions and eliminate the injected parasitoid eggs. Although PDV genes infect host immune cells, they are either not or not sufficiently expressed. Nevertheless, PDV infections of nun moth larvae have severe effects on host viability and survival. The data set derived from the transcriptome analyses of both host species allows us to search for candidate genes that play important roles in the immune reactions and physiological responses of permissive and nonpermissive hosts to parasitization. Since PDVs harbour a vast array of unique and acquired virulence genes, they hold great potential for development as or incorporation into novel biopesticides, or as pharmaceutical agents with a multiplicity of potential applications (e.g., gene delivery).

1. Introduction

Parasitic wasps are very widespread (approximately 100 000 species known, 225 000 species estimated) and play an important role in regulating the population of their hosts. They develop as larvae by feeding on other insects, ultimately kill their host and are free-living as adults. Wasps that parasitize pest insects are beneficial and may be used as biocontrol agents (see QUICKE 1997).

Endoparasitic wasps have evolved a variety of strategies in avoiding host-mediated immune responses. To develop successfully in the body cavity (hemocoel) of their hosts, unique attributes of maternally derived secretions such as ovarian fluids, venoms, or endosymbiotic viruses (e.g., polydnaviruses PDVs), are injected by female wasps during oviposition (reviewed in BECKAGE 2008). In several wasps of the family Braconidae PDVs are required for the successful parasitization of their lepidopteran insect hosts (see review GUNDERSEN-RINDAL et al. 2013). PDVs act as mutualistic viruses where the wasp does not show any symptoms of infection. The virus DNA is integrated in the wasp's genome; virions are formed only in specialized cells of the wasp ovary (the calyx cells) and are injected into the host at oviposition along with the parasitoid eggs. In the parasitized host virus DNA enters the host blood cells (hemocytes), fat body, and nervous system and viral genes are expressed. The parasitized host becomes immunosuppressed, thereby allowing the parasitoid eggs and larvae to develop without being encapsulated. Because PDVs do not replicate within the parasitized host insect, these pathogenic effects can be directly attributed to expression of their gene products (SHELBY and WEBB 1999).

The gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae), and the nun moth, *Lymantria monacha*, are closely related lepidopteran species (Lep., Lymantriidae), co-seasonal and economically important forest pests on broadleaf and coniferous trees, respectively. In Central Europe, gypsy moth larvae are frequently parasitized by the gregarious, endoparasitic wasp

Glyptapanteles liparidis (Hym., Braconidae). At oviposition, the PDV-carrying wasp injects between 10 and 100 eggs into the hemocoel of a single host larva, together with venom, calyx fluid and virus particles that subsequently play a critical role in suppressing the host immune response so that successful development of the parasitoid can proceed (SCHOPF 2007). In *L. dispar* larvae parasitized by *G. liparidis*, the host hemocytes alter their behavior, fail to spread properly (thereby inhibiting the encapsulation response) and partly undergo programmed cell death (apoptosis), resulting in a dramatic drop of the total hemocyte numbers (SCHAFELLNER and SCHLÄGER 2009). In addition to hemocyte-mediated immune reactions, plasma-borne defense molecules (e.g., phenoloxidase) and other enzymes (e.g., juvenile hormone esterase) are suppressed, which benefits the parasitoid by inhibiting melanization of the egg or larva and inducing developmental disruption of the host due to endocrine imbalances (SCHAFELLNER et al. 2004, 2007, 2008). In experiments with gamma sterilized female wasps that lay infertile eggs while PDV/venom activity remains unaffected, development of the 'pseudoparasitized' *L. dispar* larvae is heavily impaired and metamorphosis remains incomplete (TILLINGER et al. 2004).

The conifer-feeding nun moth, *L. monacha*, is a nonpermissive host for *G. liparidis*. In the laboratory, the wasps readily oviposit into young nun moth larvae, but the injected eggs are encapsulated and no parasitoids emerge indicating that the immune system of *L. monacha* is not regulated by the PDV of *G. liparidis*. This project focuses on the cellular, physiological, and genetic aspects in *L. monacha* larvae when parasitized by *G. liparidis* wasps. The purpose of the study is to record developmental and cell-mediated immunological changes as well as differential gene expression early and late after parasitization. The results will increase our knowledge of the function of PDV genes of *G. liparidis* and their expression relative to their role in endoparasitoid survival/killing and may provide additional insights for cell biology of insect cellular immune processes.

2. Material and Methods

2.1 Insects

Larvae of *L. dispar* and *L. monacha* served as permissive and nonpermissive host insects, respectively. Egg masses of *L. dispar* (New Jersey Standard Strain) were obtained from the USDA/APHIS Otis Method Development Center (Cape Cod, MA, USA) to establish a laboratory culture. Egg masses of *L. monacha* came from a stock colony (originating from field collections in Predin, Czech Republic) of the Northern Research Station, Northeastern Center for Forest Health Research, USDA Forest Service (Hamden, CT, USA). Larvae were kept in groups in growth chambers at $20\pm 1^\circ\text{C}$ under long-day photoperiod (16 hours light, 8 hours dark) and 65 % relative humidity on wheat-germ based diets (BELL et al. 1981, KEENA et al. 2010). A stock colony of *G. liparidis* wasps (originating from field captures in Burgenland, Austria) is maintained at our laboratory on gypsy moth larvae, reared under the same environmental conditions as above. Adult wasps are held at $15\pm 1^\circ\text{C}$ and a photoperiod of 14 hours light and 10 hours dark, and fed with honey and water. Parasitization was accomplished by presenting host larvae individually with a tweezers to a female wasp until a single sting was observed. Parasitized larvae were kept in Petri dishes in

rearing chambers under the same environmental conditions as above and supplied with diet *ad libitum*.

2.2 Host development

Groups of *L. monacha* were either parasitized in premolt to the second, third and fourth instar or remained unparasitized controls. The insects were kept in small groups in Petri dishes in climate chambers. Developmental parameters (e.g., larval and pupal weights, instar lengths, dates of molting/pupating/moth eclosion, malformation, mortality) were recorded. Individual larvae were dissected and examined for parasitoid condition.

2.3 Host cell-mediated immune response

Groups of *L. monacha* were either parasitized in premolt to the fourth instar or remained untreated (controls). The insects were kept in small groups in Petri dishes in climate chambers. Total hemocyte counts were conducted using the method of GILLESPIE et al. (2000). Hemolymph was collected from parasitized and unparasitized larvae at 2-day-intervals post parasitism (from day 2 to 16) in ice-cold anticoagulant solution, transferred immediately to an improved Neubauer hemacytometer and the cells were counted under the microscope. Cell viability was determined by staining hemocytes with 0.2 % trypan blue, a dye which is taken up by dying or dead cells.

The encapsulation capacity of unseparated hemocytes were tested with pre-stained (Congo Red) Dowex beads that were either injected into *L. monacha* larvae at 24 hours post parasitism and dissected 24 hours later (*in vivo* tests) or by adding beads to cultured hemocytes (*in vitro* tests). Beads were removed and microscopically inspected at different time points and scored according to the number of hemocytes attached to the bead's surface.

To evaluate the spreading ability of hemocytes from unparasitized and parasitized *L. monacha* larvae, cells were collected at three time points after parasitization (24, 72, and 144 hours). For monolayer preparation, cells were fixed in formalin, permeabilized and then incubated with the primary (monoclonal antibody IgG from *Manduca sexta* Ms30) followed by the secondary antibody (Cy3) and then examined with a fluorescent microscope. Cell areas were determined with Adobe Photoshop software.

2.4 Host gene expression

Larvae of *L. dispar* and *L. monacha* were split into control and parasitized groups, collected 24 and 192 hours after treatment, shock frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until RNA extraction. cDNA synthesis of the resulting eight cohorts (2 species, 2 treatments, 2 collection times) followed the broken-chain protocol of MEYER et al. (2009). Normalization of cDNA was performed following SHANGINA et al. (2011). Eight MID barcoded libraries were constructed at McGill University and Génome Québec Innovation Centre and sequenced on two partitioned Roche 454 GS-FLX Titanium plates. Trimmed 454 reads were provided by the sequencing center in sff format. `sff_extract` (http://bioinf.comav.upv.es/sff_extract/) was used to convert the 454 data into a total of ten fastq files: each one for the eight experimental cohorts, one containing all reads originating from *L. dispar* regardless of treatment and sampling time, and one containing all reads of *L. monacha*. For contig assembly, Mira3 (CHEVREUX et al. 1999) was used

with the settings 'de novo, est, accurate' and all other parameters in default. The reference databases SilkEST and SilkProt (GLEAN assembly) were downloaded from <http://silikdb.org>, the UniRef50 protein reference cluster was downloaded from <http://www.uniprot.org>. blastn and blastx were used to align the pooled assemblies of both species against the three databases. Using makeblastdb, searchable BLAST databases were created from the pooled assemblies, and the treatment-specific contigs were aligned against these databases. To identify contigs with similarity to other genes, we also performed a BLAST search of all contigs of the pooled assemblies against the NCBI nt collection (e-value threshold $e < 1$).

Primers were developed specific to three identified PDV segment sequences (P325, P494, PTP2) of two other *Glyptapanteles* species (*G. indiensis*, *G. flavicoxis*) (GUNDERSEN-RINDAL and PEDRONI 2006) and used in PCR to identify PDV genes present in *G. liparidis* wasp ovaries and in the hemolymph of parasitized host larvae.

3. Results and Discussion

3.1 Host development

Second, third and fourth instars of *L. monacha* larvae that were used as hosts for *G. liparidis* did not support parasitoid development (i.e., no parasitoids emerged). Up to 60 % of the parasitized *L. monacha* larvae died during the first or second ecdysis that followed the parasitization and only 40 % completed their development from larva to pupa, however, many showed serious malformations (e.g., unsclerotized areas of thoracic or abdominal segments) and only some individuals were able to metamorphose and eclose as perfect adult moths. Nevertheless, development times and pupal weights of the surviving parasitized insects were not significantly different from those of the controls. Surprisingly, when first-instar nun moths were parasitized, the wasp progeny developed and emerged successfully from 25 % of the host larvae. This result corroborates previous findings demonstrating that insect larvae become more immunocompetent with age.

The temporal pattern of the parasitoid elimination process in parasitized *L. monacha* larvae was recorded at various time intervals post parasitism. By 24 and 48 hours, *G. liparidis* eggs showed various stages of capsule formation. The earliest stages of hemocyte adherence to the egg surface were evident at 12 hours and the intensity of hemocyte attachment increased as time progressed up to 72 and 96 hours (Figure 1). By 120 hours, the parasitoid eggs were usually completely encapsulated; in most cases the capsules turned dark brown and then black within 72-96 hours. Surprisingly, we also found parasitoid eggs dying in the hemocoel during early embryogenesis in the absence of any capsule formation. Whether these observations reflect activity of unknown humoral defence molecules or physiological conditions unrelated to the immune system remains to be elucidated.

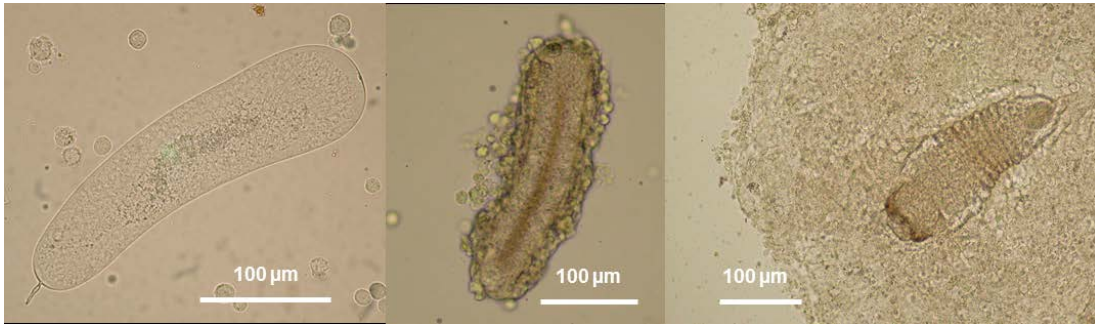


Figure 1: Parasitoid eggs dissected from *L. monacha* larvae 24 hours (left), 72 hours (medium) and 216 hours (right) after parasitization by *G. liparidis*. The pictures show different stages of hemocyte attachment and encapsulation.

3.2 Cell-mediated immune response

In the nonpermissive host *L. monacha*, cellular host immune responses were up-regulated in parasitized larvae; parasitism resulted in a significant increase in the number of host hemocytes (Figure 2), a stronger spreading ability (Figure 3) and higher activity of the specific hemocytes (plasmatocytes, granular cells) involved in the attachment and spreading to foreign surfaces (Figure 4).

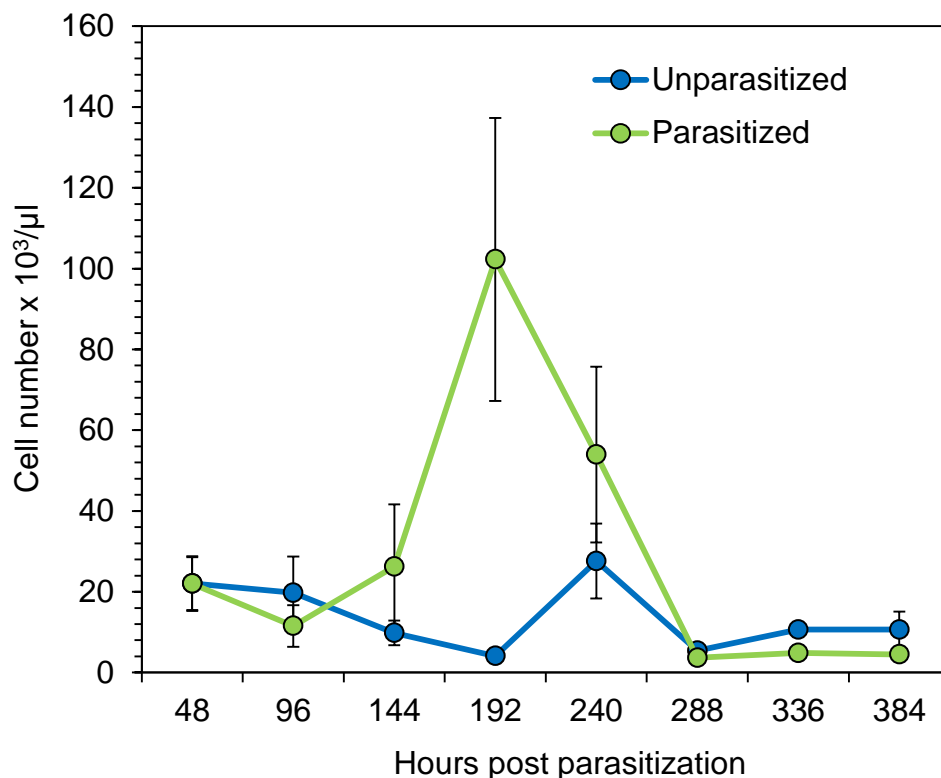


Figure 2: Total hemocyte counts (means \pm SE) of *L. monacha* larvae in the course of parasitization. The cells were isolated from the hemolymph at 2-day-intervals after parasitization by *G. liparidis*. Blue: Unparasitized control larvae (n=6). Green: Parasitized larvae (n=6).

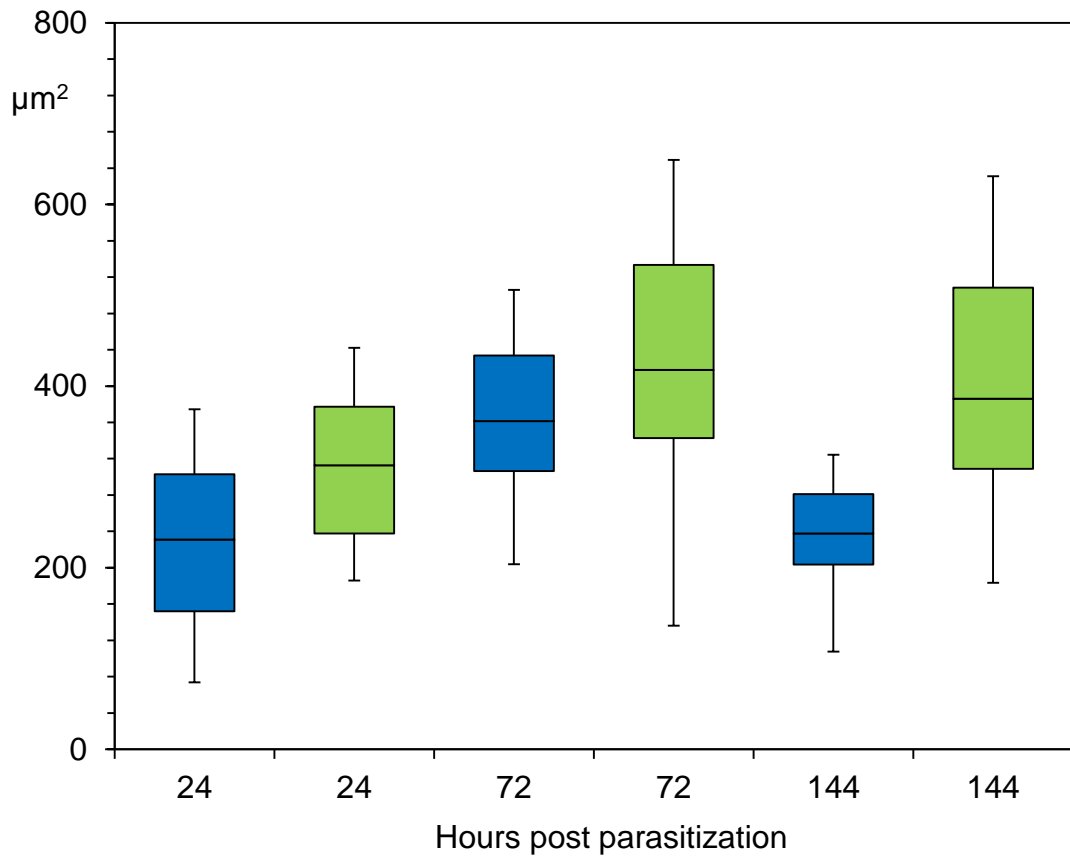


Figure 3: Cell area (boxplot, μm^2) of *L. monacha* hemocytes. The cells were isolated from the hemolymph of larvae 24, 72, and 144 hours after parasitization by *G. liparidis* and allowed to spread on glass microscope slides for 30 min in a humid chamber. Blue: Unparasitized control larvae (n=6). Green: Parasitized larvae (n=6). Cell numbers evaluated per time point varied between 22 and 214.

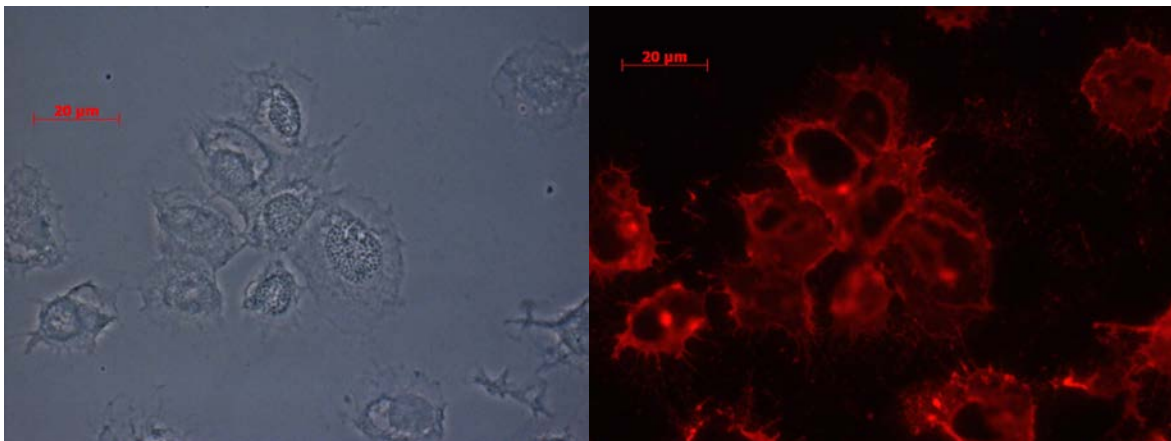


Figure 4: Morphology of adherent hemocytes from *L. monacha* larvae isolated 48 hours after parasitization by *G. liparidis*. Left: Phase contrast image. Right: Fluorescent image. Cells labelled with monoclonal antibody Ms30 and stained with Cy3.

Cell viability was not significantly different between unparasitized and parasitized larvae. *In vitro* and *in vivo* tests with pre-stained beads exposed to hemocytes from unparasitized and parasitized hosts resulted in a strong

encapsulation response between 24 and 48 hours (Figure 5), indicating that the cell-mediated encapsulation process of the nonpermissive host was not significantly altered by parasitism. These findings contrast with those of parasitized *L. dispar* larvae where a drop in cell numbers and viability and changes in hemocyte morphology and behaviour clearly demonstrated the inhibition of host immune defences.



Figure 5: *In vitro* encapsulation of Sephadex beads by hemocytes isolated from *L. monacha* larvae parasitized by *G. liparidis*. The hemocytes were isolated from parasitized larvae 24 hours post parasitization and cultured *in vitro* in tissue-culture medium (TC 100) in microplates. Beads were prestained with CongoRed for better identification; magnification 100x.

3.3 Gene expression pattern

The effects of *G. liparidis* PDV in suppressing the immune response and altering growth and development of their host larvae have prompted us to select individual PDV genes from adult wasps and follow their fate in the parasitized hosts. PCR analyses with primers developed from three PDV genes of *G. indiensis* and *G. flavicoxis* resulted in products that were detected in the wasp ovary as well as in parasitized *L. dispar* and *L. monacha* larvae at 24 and 48 hours post parasitization. All sequences were detected in the wasp ovaries and both host species (*L. dispar* and *L. monacha*). BLAST analyses of sequenced PCR products revealed a high similarity with a putative tyrosine phosphatase (PTP) gene from the *G. flavicoxis* PDV genomic segment 24 (max. identity 96 %) and with *G. indiensis* PDV segments F and 25 (94 %). Two other viral sequences corresponded to genes P325 (segments 3, 4, and 5) and P494 (segment 2) from *G. indiensis* PDV and *G. flavicoxis* PDV; similarities were between 88 and 97 % (Figure 6). PTPs represent the most diversified gene family among all PDVs known to date and are highly conserved; PTPs play key roles in the control of signal transduction by controlling the levels of cellular protein phosphorylation (ANDERSEN et al. 2001) and are, therefore, likely to target

signal transduction involved in alteration of host physiology, host immunity and development.

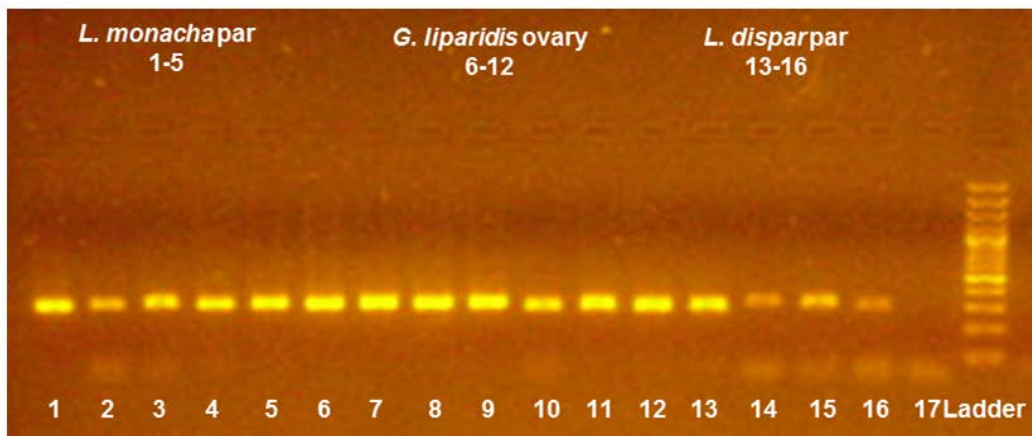


Figure 6: PCR for detection of P325 gene in *L. monacha* and *L. dispar* larvae parasitized by *G. liparidis* and in *G. liparidis* ovary. Representative agarose gel electrophoresis of PCR products obtained after PCR with primers of the P325 gene. Positive PCR product is indicated by the presence of 325 bp amplicons. Lane 17: negative control; Lane 18: 1400 bp DNA molecular weight size marker. Hemolymph samples from parasitized larvae were drawn 24 hours after parasitization.

A major goal of the study was to identify genes that are differentially expressed in both host species due to parasitization. Our approach to use 454 transcriptome sequencing is very promising, since the annotated EST libraries cover a major proportion of the species' transcriptome and disclose numerous candidate genes for further investigations to elucidate differences in host gene expression in the course of parasitism in permissive (*L. dispar*) versus nonpermissive (*L. monacha*) host larvae (ARTHOFER et al. 2014). Moreover, expression analysis of two time points allows comparison of gene expression during early (24 hours) and later stages (192 hours) of parasitization. The current GLEAN consensus annotation of the silkworm *Bombyx mori*, the only lepidopteran species whose whole genome sequence has become available to date, contains 14,623 genes; we were able to identify homologs of 11,559 (i.e., 79 %) silkworm genes in *L. dispar* and 9,398 (i.e., 64 %) in *L. monacha*, indicating a comprehensive coverage of the *Lymantria* transcriptomes. For identification of differentially expressed genes, the assemblies of the four experimental cohorts per species (unparasitized and parasitized at 24 and 192 hours post parasitism)

were mapped against the complete species assembly with blastn. Differences in the species' transcriptomes were assessed by mapping the two species assemblies against each other. 8,865 contigs of *L. dispar* matched to the *L. monacha* assembly; the reciprocal BLAST analysis matched 8,139 *L. monacha* contigs to the *L. dispar* assembly. These shared transcripts are unlikely to play a significant role in the different responses of the species to parasitization by *G. liparidis*. A substantial proportion of genes, however, were exclusively expressed in distinct experimental variants (Table 1).

Table 1: Contiguous consensus sequences (contigs) with differential expressions in *L. dispar* and *L. monacha* larvae parasitized in premolt to third instars by *G. liparidis* wasps and untreated controls. Numbers represent contigs that have no match with the cohort of the other *Lymantria* species. Whole body samples of parasitized and control larvae were taken 24 and 192 hours (h) post treatment.

Cohort	Sampling time (h)	<i>L. dispar</i>	<i>L. monacha</i>
Control	24	2205	4144
Parasitized	24	2911	6137
Control	192	7007	3396
Parasitized	192	8218	2600
Control	24, 192	632	917
Parasitized	24, 192	617	430
Control, Parasitized	24	568	1753
Control, Parasitized	192	2738	343
Control, Parasitized	24, 192	48674	40196

4. Conclusions

Parasitic wasps have potential to control insect pests of agricultural crops and forests. PDV-encoded virulence factors that inhibit insect feeding, arrest growth and development or enhance host susceptibility to pathogen infections are of special interest. The key challenge remains to find suitable candidate genes and link their expression and products to particular alterations that occur in the parasitized host at the physiological, cellular, and molecular level. Thus, much more work is needed that characterizes the function of individual and combined PDV gene products and how they interact with specific host immune molecules and pathways, specifically in closely related permissive and nonpermissive host species. In addition to enhancing our knowledge of parasitoid strategies to survive and develop in the host, PDVs constitute a source of new biomolecules to control insect pests. This might be a revolutionary outcome of research of PDVs, since the application of chemical pesticides targets a wide array of species and has detrimental impacts on both humans and the environment.

Literature

ANDERSEN, J.N.; MORTENSEN, O.H.; PETERS, G.H. et al. (2001): Structural and evolutionary relationships among protein tyrosine phosphatase domains. *Molecular and Cellular Biology* 21: 7117-7136.

ARTHOFER, W.; SCHLICK-STEINER B.C.; STEINER, F.M.; SCHAFELLNER, C. (2014): NGS based generation of expressed sequence tags for *Lymantria dispar* and *Lymantria monacha*, two closely related lepidopteran species with different responses to parasitism by *Glyptapanteles liparidis*. *Molecular Ecology Resources* (accepted).

BECKAGE, N.E. (2008): *Insect Immunology*. Boston: Academic Press, 348 pp.

BELL, R.A.; OWENS, C.D.; SHAPIRO, M.; TARDIFF, J.R. (1981): Development of mass rearing technology. In: DOANE, C.C.; McMANUS, M.L. (eds.): *The gypsy moth: research toward integrated pest management*. US Department of Agriculture and Forest Service, Technical Bulletin 1584: 599-633.

CHEVREUX, B.; WETTER, T.; SUHAI, S. (1999): Genome sequence assembly using trace signals and additional sequence information. *Computer Science and Biology: Proceedings of the German Conference on Bioinformatics (GCB)* 99: 45-56.

GILLESPIE, J.P.; BURNETT, C.; CHARNLEY, A.K. (2000): The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. *Journal of Insect Physiology* 46: 429-437.

GUNDERSEN-RINDAL, D.; DUPUY, C.; HUGUET, E.; DREZEN, J.M. (2013): Parasitoid polydnviruses: evolution, pathology and applications. *Biocontrol Science and Technology*, 23: 1-61.

GUNDERSEN-RINDAL, D.E.; PEDRONI, M.J. 2006. Characterization and transcriptional analysis of protein tyrosine phosphatase genes and an ankyrin repeat gene of the parasitoid *Glyptapanteles indiensis* polydnvirus in the parasitized host. *Journal of General Virology* 87: 311-322.

KEENA, M.A.; VANDEL, A.; PULTAR, O. (2010): Phenology of *Lymantria monacha* (Lepidoptera: Lymantriidae) laboratory reared on spruce foliage or a newly developed artificial diet. *Annals of the Entomological Society of America* 103: 949-955.

MEYER, E.; AGLYAMOVA, G.; WANG, S. et al. (2009): Sequencing and de novo analysis of a coral larval transcriptome using 454 GSFlx. *BMC Genomics* 10: 219.

QUICKE, D.L. (1997): *Parasitic wasps*. London: Chapman & Hall, 492 pp.

SCHAFELLNER, C.; MARKTL, R.C.; NUSSBAUMER, C.; SCHOPF, A. (2004): Parasitism-induced effects of *Glyptapanteles liparidis* (Hym., Braconidae) on the juvenile hormone titer of its host, *Lymantria dispar*: the role of the parasitoid larvae. *Journal of Insect Physiology* 50: 1181-1189.

SCHAFELLNER, C.; MARKTL, R.C.; SCHOPF, A. (2007): Inhibition of juvenile hormone esterase activity in *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) larvae parasitized by *Glyptapanteles liparidis* (Hymenoptera, Braconidae). *Journal of Insect Physiology* 53: 858-868.

SCHAFELLNER, C.; NUSSBAUMER, C.; SCHOPF, A. (2008): Juvenile hormone esterase – a key enzyme for host-parasitoid interactions. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 16: 401-404.

SCHAFELLNER, C.; SCHLÄGER, S. (2009): Physiological and immunological aspects in the host-parasitoid system *Lymantria dispar*-*Glyptapanteles liparidis*. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 17: 299-306.

SCHOPF, A. (2007): Parasitoide – halb Parasit, halb Räuber. Wie kleine Schlupfwespen große Schwammspinner-Raupen gefügig machen. *Biologie in unserer Zeit* 37: 290-298.

SHAGINA, I.; BOGDANOVA, E.; MAMEDOV, I. et al. (2010): Normalization of genomic DNA using duplex-specific nuclease. *BioTechniques* 48: 455-459.

SHELBY, K.S.; WEBB B.A. (1999): Polydnavirus-mediated suppression of insect immunity. *Journal of Insect Physiology* 45: 507-514.

TILLINGER, N.A.; HOCH, G.; SCHOPF, A. (2004): Effects of parasitoid associated factors of the endoparasitoid *Glyptapanteles liparidis* (Hymenoptera: Braconidae). *European Journal of Entomology* 101: 243-249.

Kontakt: Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Christa Schafellner
christa.schafellner@boku.ac.at

Phylogeography of the eight spined larch bark beetle, *Ips cembrae* (Coleoptera, Scolytinae), in the Palearctic and consequences for bark beetle control

Phylogeographie des achtzähligen Lärchenborkenkäfers, Ips cembrae (Coleoptera, Scolytinae), in der Paläarktis

Genetik des Lärchenborkenkäfers

Raffaella Schaidreiter¹

Co-Authors: Ferenc Lakatos², Hisashi Kajimura³, Qing-He Zhang⁴, Liwen Song⁵, Christian Stauffer, Coralie Bertheau⁶

Department of Forest and Soil Sciences, BOKU, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria

¹Current position: Österreichischer Rundfunk, ORF, Landesstudio Salzburg, Austria

² Institute of Silviculture and Forest Protection, University of West Hungary, Sopron, Hungary

³ Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Nagoya, Japan

⁴ Sterling International Inc., Spokane WA, USA

⁵ Jilin Provincial Academy of Forestry Sciences, Changchun, P.R.China

⁶ Current position: UMR CNRS-UFC 6249 Chrono-Environnement, Université de Franche Comté, Montbéliard, France

Zusammenfassung

Der Große Lärchenborkenkäfer *Ips cembrae* ist als Forstschädling an der Lärche im paläarktischen Raum zu finden. Neun europäische und zwei asiatische Populationen wurden mittels mitochondrialer (COI) als auch nuklearer (ITS2) DNA Marker analysiert. Basierend auf den COI Daten teilte die phylogenetische Rekonstruktion die Haplotypen in zwei Kladen, wobei eine Klade die europäischen und die andere Klade die asiatischen Populationen gruppierete. *I. cembrae* aus Europa und Asien teilte keinen gemeinsamen Haplotypen. Innerhalb europäischer Populationen wurde eine geringe genetische Variabilität gefunden, während die Daten auf eine deutlich höhere

Diversität innerhalb asiatischer Populationen hinwiesen. Auch die Analyse der ITS2 Marker bestätigte eine klare Differenzierung zwischen europäischen und asiatischen Populationen, da zwei spezifische Allele ausschließlich in europäischen und zwei weitere Allele nur in asiatischen Populationen gefunden wurden. Die Ergebnisse der Studie stützen die Annahme, dass es sich bei dem asiatischen Lärchenborkenkäfer um eine eigenständige Art handelt, nämlich *Ips subelongatus*.

Abstract

The larch bark beetle, Ips cembrae, is an economically important pest on larch throughout the Palearctic. Nine European and two Asian larch bark beetle populations were investigated for both the mitochondrial (COI) and the nuclear (ITS2) DNA marker. Using the COI data, phylogenetic reconstruction clustered the haplotypes in two distinct clades, one clade grouping the European populations and the second clade grouping the Asian ones. European and Asian populations did not share any haplotype. Moreover, analyses revealed a high mitochondrial sequence divergence between these two geographically separated entities. Whereas a low intraspecific variation was found in European populations, results indicated a much higher genetic subdivision in Asian populations. Analyses of the ITS2 markers are in agreement with the mitochondrial results, showing two alleles exclusively present in European populations and two alleles specific for Asian populations. As the taxonomic status between European and Asian beetles has been debated for years, these data support the recognition of Ips subelongatus as a valid species designation for Asian larch bark beetles.

1. Introduction

1.1 Phylogeography, phylogenetics and molecular ecology

Reconstructing the evolutionary history of organisms and expressing it in form of a phylogenetic tree has always challenged scientists ever since the time of Charles Darwin (HÄCKEL 1866). As changes of morphological and physiological traits cannot draw a clear picture of evolutionary events, molecular analyses are expected to clarify many branching patterns of the tree of life that have been hard to solve by the classical approach. In this sense phylogenetics plays an important role in developing a scientific basis of systematics, though it may not answer all the questions of the latter discipline (NEI and KUMAR 2000).

Phylogeography deals with the spatial and temporal dimensions of genealogy (AVISE 2009) and emphasizes the principles and processes that shaped the contemporary geographic distribution of genealogical lineages, especially within and among closely related species (BEEBEE and ROWE 2008). For that molecular techniques provide tools to study the historical events that established the present-day distribution of gene-based organismal traits, to trace kinship and to reconstruct migration patterns of populations and species.

Analyses of molecular processes regulating the evolution of the genome have been used to shed light on the history of given taxa (CARAPELLI et al. 2008). However, as different regions of the genome can have different modes of evolution and transmission, they are affected differently by evolu-

tionary forces in natural populations. Hence investigations on various marker regions could translate into different consequences of mutation, drift, migration and selection on patterns of geographical variation and molecular divergence (NAVAJAS et al. 1998). As its name giver Avise observed in 2009 phylogeography as a discipline, has grown fantastically during the last 30 years and shows no signs of slowing down (AVISE 2009). Thus even this current study makes use of phylogeographical principles and tools so as to unravel the interaction of genes in space and time. With this in mind phylogeography is meant to explore the evolutionary relationship and structure of larch bark beetle populations, which are distributed throughout the world's largest ecozone, the Palearctic.

The postglacial migration patterns in the Palearctic had great impact on the contemporary genetic structure of species. Each time when species spread after warming they colonized new territory, facing new environments and meeting new neighbors. These challenges would cause species genomes to diverge, both through selection and chance, and ultimately speciate (HEWITT 2000). As some species would colonize from just one refugium and others from several their genomes may mix to various degrees (HEWITT 2004). Reconstructing these demographic events is important for understanding the ecology and evolution of species as e.g. extensive gene flow will constrain evolution by preventing local genetic differentiation, whereas reduced dispersal is expected to lead to spatial genetic subdivisions (SLATKIN 1987).

Recolonization in Europe was vastly impeded by mountains and seas running east-west, which acted as major barriers to dispersal for many species and thus played a significant role in the historical subdivisions of populations. Those species surviving the ice age in refugia in southern European countries would have had the Pyrenees, Alps, Balkans and Caucasus to overcome when moving northward, those in North Africa had the Mediterranean Sea as barrier to cross (HEWITT 2004). Further, an increasing number of phylogeographic studies in the Sino-Japanese Floristic Region of mainland China and adjacent areas including the Qinghai-Tibetan-Plateau and Sino-Himalayan region has documented the population histories of temperate plant species in these regions (QUI et al. 2011).

1.2 Biology and ecology of *Ips cembrae*

Ips cembrae is a blackish brown, 4-6 mm sized insect belonging to the coleopteran subfamily Scolytinae. *I. cembrae* cannot be easily distinguished from its close spruce relatives *Ips typographus* and *Ips amitinus* by morphological traits as each of them has four equally spaced spines on each side of the elytral declivity (PFEFFER 1995). *I. cembrae* is an oligophagous secondary pest in various larch species (*Larix* spp.) throughout Europe and Asia (NOBUCHI 1974, PFEFFER 1995). Trees of the genera *Abies*, *Pinus* and *Picea* may occasionally serve as hosts, too. In larch forests of the Alps and Carpathians in central and south-east Europe the beetle is an indigenous species with *Larix decidua* as its main host. In general, *I. cembrae* does not present a particular risk and is an economically less important forest pest than e.g. *I. typographus*. However, *I. cembrae* has also spread to northern *Larix* forests and non-native *Larix* plantations e.g. *L. leptolepis* such as to the Netherlands, to parts of the United Kingdom and Scandinavia (EPPO 2005), probably as a result of larch lumber trade. In terms of

phytosanitary control it is desirable to maintain allochthonous zones free from other European and non-European bark beetles (EPPO 2005). At high populations densities *I. cembrae* may also attack healthy trees and cause long-lasting and destructive outbreaks (ZHANG and NIEMEYER 1992). The taxonomy of *Ips* species attacking *Larix* ssp. in Europe and Asia is still unclear. Separated on basis of their host plants, geographical distribution or morphological similarities several authors (e.g. PFEFFER 1995) have considered *I. subelongatus*, *I. fallax*, *I. shinanonensis* and *I. cembrae* var. *engadinensis* as synonyms of *I. cembrae*. However, the data of phylogenetic studies suggest that the *I. cembrae* complex includes at least two taxa i.e. *I. cembrae* in Europe and *I. subelongatus* in Asia (COGANTO and SUN 2007, STAUFFER et al. 2001).

2. Aims

This study was designed to perform a phylogeographic and phylogenetic investigation on European and Asian *Ips cembrae* populations. As inter- and intraspecific analyses can provide novel indications of divergence between and among populations, the aims of this study can be summarized as followed:

1. Phylogeography of European and Asian larch bark beetle populations:
 - What does the genetic structure of European and Asian populations look like and is there any gene flow among these two geographic entities?
 - Do examinations of both mitochondrial and nuclear markers show the same outcome or do they differ in phylogeographic results?
 - Due to the results of the genetic structure, what conclusions can be drawn on the postglacial history of *I. cembrae* populations?
2. The genetic relationship between European and Asian larch bark beetles:
 - Is *Ips subelongatus* an appropriate and justified designation for Asian populations?

3. Materials and Methods

Ips cembrae specimens were from the collection of the Institute of Forest Entomology, Forest Pathology and Forest Protection, Boku, Vienna. The European and Asian populations were collected in 1996/1997 and 2001, respectively. Asian populations were located in North-Eastern China and Inner Mongolia, respectively. As mitochondria are inherited matrilineal, only one individual per mother gallery was collected in order to avoid biased haplotype diversity. All specimens were stored in 96% ethanol at -20°C. Overall, eleven populations were investigated with 152 individuals used for mitochondrial DNA analyses and 55 individuals for nuclear DNA analyses. Total insect DNA was extracted using the GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich, USA). Eluted DNA was stored at 4°C. A 710 bp region of the *COI* gene was amplified for six to 15 individuals per population using ItCOIF (JUAN et al., 1995) and UEA10 (LUNT et al, 1996). The full ITS2 region of five individuals per population was using ITS2F and ITS2R (CAMPBELL et al. 1993). Agarose gel electrophoresis was performed to make sure the PCR succeeded. Purifying and sequencing of PCR products were accomplished externally by the commercial provider Eurofins MWG Operon (Ebersberg, Germany). Sequence chromatograms and sequence listings were supplied electronically.

Nucleotide sequences of COI and ITS2 were aligned and edited. Phylogenetic analyses were performed applying maximum-parsimony (MP) and Neighbour Joining (NJ) tree reconstructions with MEGA5 (TAMURA et al. 2011). The robustness of trees was assessed by 500 bootstrap replicates. In order to compare with the former study by STAUFFER et al. (2001) the five mitochondrial haplotypes coded HTI to HTV were included

4. Results and Discussion

The alignment of 573 bp COI sequences derived from 152 individuals from eleven *Ips cembrae* populations (122 from nine European populations and 30 from two Asian populations) revealed 22 haplotypes with 33 polymorphic sites (30 transitions and 3 transversions). Mitochondrial analyses yielded much higher haplotypic richness than the former study by STAUFFER et al. (2001). Two European haplotypes were identical to the former study, namely HTI and HTII. Moreover, HT3 to HT22 were new haplotypes exposed. HTI, HTII and HT3 were the most commonly detected haplotypes shared by 91, 14 and 17 individuals, respectively. In addition, six haplotypes, i.e. HT4, HT5, HT6, HT7, HT8 and HT12, were detected in two to five individuals. Thirteen haplotypes were found only once and were affirmed by a second PCR performance. The European HTIII derived STAUFFER et al. (2001) was not detected even though the authors suggested a higher sample size in order to reveal this haplotype in central Europe. The Asian HTIV and HTV derived by the authors were also not detected. The 22 haplotypes were joined in a single haplotype network with 95% probability. European and Asian haplotypes were clearly separated and did not share any haplotype (Figure 1). Ten European haplotypes differed in just one nucleotide position from the most frequent HTI. HT20 differed in two and HT12 in three nucleotide positions from HTI. Two out of seven haplotypes differed in just one nucleotide position from the most frequent Asian HT3. Five haplotypes differed in two or more nucleotide positions. HTIV and HTV exposed as former Asian haplotypes by STAUFFER et al. (2001) were located closer to current European haplotypes than to current Asian haplotypes, as they differed in one and four nucleotide positions, respectively, from the second most frequent European HTII.

The separation time between the two lineages was estimated by using the general molecular clock estimate for Coleopteran mitochondrial genes, calibrated from long horned beetles (1,5% per million years) (FARRELL 2001). Considering the genetic distances observed between the two lineages our analysis implied an average divergence time of 1,5 to 3 million years ago – thus the geological epoch of late Pliocene origin and beginning of the Pleistocene.

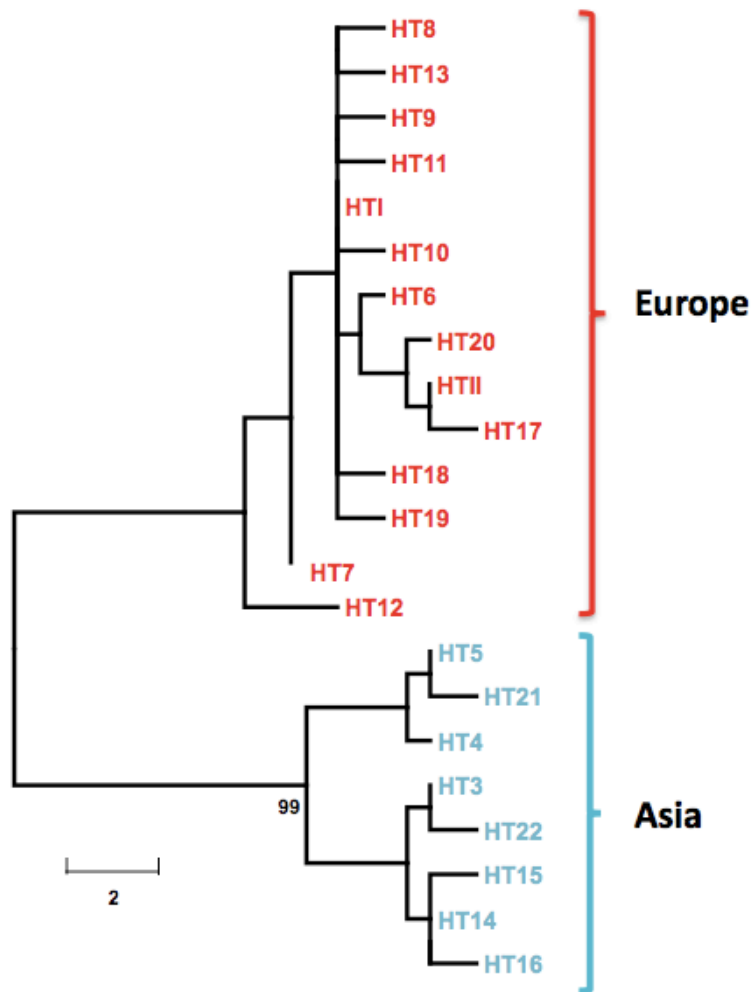


Figure 1 Maximum Parsimony tree of the 22 haplotypes found in *Ips cembrae*. Bootstrap values over 95% are given above nodes. Red clade exclusively clustered haplotypes from Europe, whereas blue clade contained haplotypes from Asia.

The alignment of 629 bp nuclear ITS2 sequences of 55 individuals from eleven populations (45 individuals from nine European populations and ten individuals from two Asian populations) revealed four different alleles coded allele-1 to allele-4. Alleles were exposed due to two polymorphic sites (one transition at position 208, one transversion at position 249) and to two ambiguous positions (184 and 324). Allele-1 and allele-2 exclusively occurred in European populations, whereby allele-3 and allele-4 were only found in Asian samples and thus conveyed complementary information to mitochondrial outcomes.

Phylogenetic tree constructions yielded congruent trees with two lineages which were supported by high bootstrap values. One lineage grouped the two European alleles while the other lineage included the two Asian ones. Moreover, the distribution and abundance of alleles confirmed the results of mtDNA. Beetles belonging to the mitochondrial European clade consistently shared allele-1 and allele-2, while beetles belonging to the Asian one shared allele-3 and allele-4. Results of mitochondrial as well as nuclear DNA analyses indicated that there is no gene flow between European and Asian *I. cembrae* populations.

However, the results did not draw a clear-cut picture of phylogeographic patterns, i.e. glacial refugia or postglacial migrations routes of Palearctic larch bark beetles. Analyses showed that European HTI and HTII correlated with the most frequent haplotypes described by STAUFFER et al. (2001). HTI was exposed in each European population whereas HTII was mainly found in populations north of the Alps. It can be assumed that HTI survived glaciation next or close to its host in refugial areas in Poland and in the south-west Alps from where it dominantly recolonized Europe. Due to haplotypes distribution it might be tempting to expect that HTII survived glaciation in refugia near Poland or the Tatra region from where recolonization expanded only westwards and north of the Alps. Although, the lack of HTII in populations of the central and south Alps could indicate a bottleneck effect as that the Alpine barrier impeded its spread southwards. Further investigations of populations in the Carpathian and Tatra region might reveal more information on this consideration, especially as the scattered distribution of the host *L. decidua* and its subspecies *L. decidua* ssp. *polonica*, respectively, hypothesized a higher intraspecific differentiation of beetles throughout these regions.

Indeed, the highly diverse genetic constitution of Asian populations stands in contrast to less differentiation in European populations. The results could rely on the general principles of European phylogeography, namely that just a few glacial refugia together with a high number of bottleneck events during postglacial recolonization resulted in a low differentiated gene pool of species, particularly compared to Asia. Regarding the phylogeography of *Ips subelongatus* it was also very likely that numerous small-scale refugia existed during glacial periods in Asia where *Larix* ssp. And the beetle survived, diverged and started to recolonize. Thus the post-glacial genesis of the beetle and its host might have occurred through expansion in the size and density of isolated tree population patches rather than through a broad-scale frontwards and thus central European like movement. However, more specimens from crucial regions as the Carpathian and Tatra mountains as well as many more populations from Russia, Mongolia and China have to be analysed in order to reveal novel insights in phylogeographic events of *I. cembrae* and *I. subelongatus*.

Additionally, it is important to note that *Larix* ssp. are not the only host plants associated with *I. cembrae* and *I. subelongatus*. Hence it could be hypothesized that the phylogeography of the larch bark beetle was less dependent on its main host *Larix* ssp. Investigations on interactions between larch bark beetles and potential host tree species as *Pinus* ssp., *Picea* or *Abies* ssp. could open up new evidences on migration patterns and evolutionary modifications. Crucially, the role of host tree species should also be taken into account when referring to the genetic diversity found in Asian larch bark beetles populations. The high gene diversity and relatively high output of single haplotypes could be favored by numerous potential host tree species as Asian flora features a much higher number of *Larix* taxa than the European. However, in forest ecosystems very few studies exist concerning the role of host plants in the genetic structure of associated insects (KERDELHUÉ et al. 2002). For instance, a study about the European larch budmoth (*Zeiraphera diniana*) indicated that the larch and pine-forms are strongly genetically differentiated (EMELIANOV et al. 1995). This result was contrary to the structure of the bark beetle *Dendroctonus brevicornis* in

the USA, which is mainly due to geographical isolation and with very weak host effect (KELLEY et al. 1999). In contrast, two studies found some evidence of host effects on the genetic structure of pine beetle *Dendroctonus ponderosae* by investigating allozyme data (KELLEY et al. 2000). Even though most of the studies investigating the interactions of bark beetles and host trees pointed out that host trees could not affect the structure of beetles populations e.g. HORN et al. (2009) with *Tomicus* species.

Although the mitochondrial sequence divergence within each clade was low, the sequence divergence between the European and Asian clade ranged up to 4,5%. According to COGNATO and SUN (2007) the sequence divergence ranged up to 11,2% between the two most related *Ips* species *I. typographus* and *I. cembrae*, 15% between *I. cembrae* and *I. amitinus* and 17,2% between *I. typographus* and *I. acuminatus*. Compared to the taxonomic entities of these species the sequence divergence between European and Asian larch bark beetles could be taken as too low for identifying them as discrete taxons. However, there is ample evidence to suggest *I. subelongatus* as valid designation for Asian larch bark beetles as according to BROWER (1994) a sequence divergence higher than 2,5% indicates speciation between two arthropod entities. Thus the sequence divergence of 4,5% suggested that the Asian and European larch bark beetle populations have been separated for a long time, and that they now represent distinct gene pools. Moreover, the recognition of *I. cembrae* and *I. subelongatus* as two taxonomic units was also supported by the clear distribution of nuclear alleles derived by analyses of ITS2 marker.

However, delimiting new species should not only rely on molecular investigations. Even if molecular techniques e.g. barcoding provide simple and fast possibilities for identifying species (MORITZ and CICERO 2004), investigations on morphological traits should not be omitted. Besides, it might be helpful to detect geographic boundaries by surveying an East-West transect throughout Eurasia. Examinations of hybrid zones where beetles but also *Larix* hosts from Europe and Asia intermix could deliver novel insights in the phylogeography as well as phylogenetics of *I. cembrae*. Further research might also focus on biological approaches as for instance examining if the European and Asian beetle are able to reproduce. Crossing experiments might be appropriate for revealing pre- or postzygotic barriers and thus for explicitly testing the species status between *I. cembrae* and *I. subelongatus*.

Results of the genetic structure or geographical disparity of larch bark beetles may facilitate the decision making in sustainable forest management and forest protection as particularly in Europe *Larix decidua* is meant to replace vulnerable secondary spruce forests (ENGLISCH et al. 2011). Prognoses concerning climate change include for instance an increase in the frequency of drought periods or wind throws and may challenge forest protection services for observing and monitoring secondary pests as bark beetles.

As compared with *I. cembrae* in Europe the Asian larch bark beetles have greater economic impact in silviculture and is reported to be more damaging to the Asian local *Larix* species and more in need of control (EPPO 2005). Concerning central European larch forests and other areas of Europe where *Larix* spp. is afforested and *I. cembrae* can be found, *I. sub-*

elongatus might constitute an additional risk (EPPO 2005). Questions of quarantine are substantiated by a considerable increase in export of conifer wood from Russia and Asia to Western Europe. Moreover, *I. subelongatus* also poses a risk to other continents where Asian lumber trade is forced and *Larix* plantations are exploited, particularly in North America (EPPO 2005). The introduction of *I. cembrae* into Asia or *I. subelongatus* into Europe as a result of the international trade could have serious consequences. The threat would be caused not only by the beetle, but also its fungal associates. For instance, *Ophiostoma ulmi* and *Ophiostoma novo-ulmi*, fungal associates of the elm bark beetles belonging to the genus *Scolytus*, were the causal agents of two tremendous pandemics of Dutch Elm Disease in the last century (BRASIER 1991). Pathogen/host tree interactions could be favored in new environments as the hosts could be more susceptible (BRASIER 2000). It is highly recommended that great care should be taken to avoid the introduction of *I. cembrae* and *I. subelongatus* and their associated fungi into areas outside their natural range (STAUFFER et al. 2001). Therefore, information about the genetic structure of the insect, its associated pathogens and its host might support biological and chemical control mechanisms in phytosanitary measures.

References

- AVISE, J.C. (2009): Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3-15.
- BEEBEE, T.J.C.; ROWE, G. (2008): *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford University Press, New York.
- BRASIER, C.M. (1991): *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia* 115: 151-161.
- BRASIER, C.M. (2000): The rise of the hybrid fungi. *Nature* 405, 134pp.
- BROWER, A.V.Z. (1994): Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, US* 91: 6491-6495.
- CAMPBELL, J.C.; STEFFEN-CAMPBELL, J.D.; WERREN, J.H. (1993): Phylogeny of the *Nasonia* species complex (Hymenoptera: Pteromalidae) inferred from internal transcribed spacer (ITS2) and 28rDNA sequences. *Insect Molecular Biology* 2: 225-237.
- CARAPPELLI, A.; COMANDI, S.; CONVEY, P.; NARDI, F.; FRATI, F. (2008): The complete mitochondrial genome of the Antarctic springtail *Cryptopygus antarcticus* (Hexapoda: Collembola). *BMC Genomics* 9: 315.
- COGNATO, A.I.; SUN, J.H. (2007): DNA based cladograms augment the discovery of a new *Ips* species from China (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) *Cladistics* 23: 539-551.
- EMELIANOV, I.; MALLET, J.; BALTENSWEILER, W. (1995): Genetic differentiation in *Zeraphera diniana* (Lepidoptera: Tortricidae): polymorphism, host races or sibling species? *Heredity* 75: 416-424
- ENGLISCH, M.; STARLINGER, F.; LIN, H. (2011): Die Lärche – ein Baum für alle Fälle? *BFW-Praxisinformation* 25: 3-4.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (2005): *Ips cembrae* and *Ips subelongatus*. Data sheet on quarantine pests. *EPPO Bulletin* 35, 445-449.

- FARRELL, B.D. (2001): Evolutionary Assembly of the Milkweed Fauna: *Cytochrome Oxidase I* and the Age of *Tetraopes* Beetles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18: 467-478.
- HÄCKEL, E. (1866): *Generelle Morphologie der Organismen*. Georg Rierner, Berlin.
- HEWITT, G.M. (2000): The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405: 907-913.
- HEWITT, G.M. (2004): Genetic consequences of climate oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences* 359: 183–195.
- HORN, A.; STAUFFER, C.; LIEUTIER, F.; KERDELHUÉ, C. (2009): Complex postglacial history of the temperate bark beetle *Tomicus piniperda* L. (Coleoptera, Scolytinae). *Heredity* 103: 238-247.
- JUAN, C.; OROMI, P.; HEWITT, G.M. (1995): Mitochondrial DNA phylogeny and sequential colonization of Canary Islands by darkling beetles of the genus *Pimelia* (Tenebrionidae). *Proceedings of the Royal Society of London B* 261: 173–180.
- KELLEY, S.T.; MITTON, J.B.; PAIRE, T.D. (1999): Strong differentiation in mitochondrial DNA of *Dendroctonus brevicomis* (Coleoptera: Scolytidae) on different subspecies of ponderosa pine. *Annals of the Entomological Society of America* 92: 194–197.
- KELLEY, S.T.; FARRELL, B.D.; MITTON, J.B. (2000): Effect of specialization on genetic differentiation in sister species of bark beetles. *Heredity* 84: 218–227.
- KERDELHUÉ, C.; ROUX-MORABITO, G.; FORICHON, J.; CHAMBON, J.M.; ROBERT, A.; LIEUTIER, F. (2002): Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (Curculionidae: Scolytinae) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll.) *Molecular Ecology* 11: 483-494.
- LUNT, D.; ZHANG, D.X.; SZYMURA, J.M.; HEWITT, G.M. (1996): The insect COI gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetics studies. *Insect Molecular Biology* 5: 153-165.
- MORITZ, C.; CICERO, C. (2004): DNA Barcoding: Promise and Pitfalls. *PloS Biology* 2: 1529-1531.
- NAVAJAS, M.; LAGNEL, J.; GUTIERREZ, J.; BOURSOT, P. (1998): Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity* 80: 742-752.
- NEI, M.; KUMAR, S. (2000): *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- NOBUCHI, A. (1974): Studies on Scolytidae XII: The bark beetles of the tribe Ipini in Japan (Coleoptera), *Bulletin Vol. 266*. Government Forest Experiment Station, Japan, 33-66.
- PFEFFER, A. (1995): *Zentral- und Westpaläarktische Borken- und Kernkäfer*. c/o Naturhistorisches Museum Basel, 310 pp.
- QUI, Y.X.; FU, C.X.; COMES, H.P. (2011): Plant molecular phylogeography in China and adjacent regions: tracing the genetic imprints of climate and environmental change in the world's most diverse temperate flora. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 225-244.
- SLATKIN, M. (1987): Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787–792.
- STAUFFER, C.; KRISITS, T.; NUSSBAUMER, C.; PAVLIN, R.; WINGFIELD, M.J. (2001): Phylogenetic relationships between the European and Asian eight spined larch bark beetle populations (Coleoptera, Scolytidae) inferred from DNA sequences and fungal associates. *European Journal of Entomology* 98: 99-105.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. (2011): MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.

ZHANG, Q.H.; NIEMEYER, H. (1992): Morphological characteristics for sexing living adults of *Ips cembrae* (Heer) (Col., Scolytidae). *Journal of Applied Entomology* 114: 403-409.

Kontakt: Mag.^a DIⁱⁿ Raffaella Schaidreiter
Österreichischer Rundfunk, ORF,
Landesstudio Salzburg, Austria
E-Mail: raffaella.schaidreiter@orf.at



Ausschreibung 2013 der Stiftung 120 Jahre Universität für Bodenkultur

Das Kuratorium der Stiftung "120 Jahre Universität für Bodenkultur" vergibt aus Mitteln der Stiftung Förderungen für die Durchführung von Forschungsvorhaben.

Stiftungszweck:

Zweck der Stiftung ist die Förderung der Belange der wissenschaftlichen Grundlagenforschung und der angewandten Forschung auf dem Gebiete des Forstwesens, insbesondere auf den Gebieten Waldbau, Bodenkunde, Forstentomologie, forstliche Ertragslehre, Forsttechnik und Holzforschung.

Die Aufgaben der Stiftung sind:

- a) Forschungsaufträge und damit verbundene wissenschaftliche Publikationen und Dokumentationen durchzuführen.
Zu diesem Zweck vergibt die Stiftung Forschungsaufträge an vom Kuratorium zu bestimmende ProfessorInnen, AssistentInnen, WissenschaftlerInnen, StudentInnen und AbsolventInnen der Universität für Bodenkultur Wien;
- b) das alljährliche Aussetzen von Preisen für hervorragende wissenschaftliche Arbeiten auf den vorgenannten Gebieten (u.a. Masterarbeiten, Diplomarbeiten, Dissertationen und Habilitationen).
Hievon stellt Punkt a) die wesentliche Aufgabe der Stiftung dar.

Gemäß einem Beschluss des Kuratoriums soll die Förderung vor allem der Ermöglichung von anwendungsorientierten Forschungsprojekten dienen, die dem Profil der Universität für Bodenkultur Wien entsprechen und deren Praxisbezug von hoher Relevanz ist.

Abhängig von aktuellen Zinserträgen ist eine Ausschüttung von 8.000,- Euro vorgesehen.
Die Aufteilung der Förderbeträge obliegt dem Kuratorium.

Die vollständigen on-line-Bewerbungen sind 2. April 2014 abzuschließen, Zugang zur Datenbank über BOKU-Login: <http://www.boku.ac.at/zid-app-grantsdb.html>

Die Bewerbung umfasst eine ausführliche Darstellung des Forschungsvorhabens bzw. der wissenschaftlichen Arbeit, eine Kurzfassung und allfällige Nachweise der einschlägigen wissenschaftlichen Qualifikation - ein ausführlicher Lebenslauf, sowie eine allfällige Kostenaufstellung und Publikationsliste sind als 'uploads' anzuschließen.

Das abgeschlossene, prämierte Projekt ist bei einer Vortragsveranstaltung der Stiftung '120 Jahre Universität für Bodenkultur' zu präsentieren.

Information:

Mag.^a Marion Mitter
Universität für Bodenkultur Wien
Forschungsservice
Gregor-Mendel-Straße 33
1180 Wien
marion.mitter@boku.ac.at
Tel.: +43 1 47654-1032

Die Preise werden im Rahmen einer Akademischen Feier verliehen.

Univ.Prof. DI Dr. Dr.h.c.mult. Martin H. Gerzabek
Rektor der Universität für Bodenkultur Wien