

Heinz Butin¹, Thomas Brand², Wolfgang Maier³

Sirococcus tsugae – Erreger eines Triebsterbens an *Cedrus atlantica* in Deutschland

Sirococcus tsugae – Causal agent of a
shoot blight of *Cedrus atlantica* in Germany

124

Zusammenfassung

Im Sommer 2014 wurde an mehreren Orten nahe Oldenburg/Niedersachsen ein Triebsterben an älteren Bäumen von *Cedrus atlantica* beobachtet, charakterisiert durch hellbraune Verfärbung von Nadeln und Nadelbüscheln mit anschließendem Absterben der betroffenen Triebe. Auf Grund spezifischer, morphologischer Merkmale sowie vergleichender DNA-Sequenzanalysen konnte als Erreger der Pilz *Sirococcus tsugae* ermittelt werden. Bisher war der Coelomycet nur aus Nordamerika bekannt. Die phytosanitären Fragen, die sich aus dem Vorkommen eines neuen Krankheitserregers in Deutschland ergeben, werden diskutiert.

Stichwörter: *Cedrus atlantica*, *Sirococcus*-Triebkrankheit, *Sirococcus tsugae*

Abstract

In summer 2014 a shoot blight of mature trees of *Cedrus atlantica* was observed at several sites in private gardens and in public green spaces in the vicinity of Oldenburg, Lower Saxony. The disease is characterised by light brown discoloration of needles and fascicles, followed by dieback

of the affected shoots. Based on specific morphological features as well as DNA sequence comparisons the pathogen was determined as *Sirococcus tsugae*. So far, this coelomycete had only been known from North America. The phytosanitary aspects resulting from the occurrence of a new tree pathogen in Germany are discussed.

Key words: *Cedrus atlantica*, *Sirococcus* shoot blight, *Sirococcus tsugae*

Einleitung

Nachdem vor kurzem über das Erstauftreten einer Nadelkrankheit an *Cedrus*-Arten durch *Lophodermium cedrinum* berichtet worden ist (BRAND und BUTIN, 2014), soll in der vorliegenden Arbeit eine weitere, ebenfalls auf der Zeder vorkommende, pathogene Pilzart vorgestellt werden, die im Sommer 2014 erstmals in Deutschland und darüber hinaus in Europa aufgefunden wurde. Berichte über das Vorkommen dieses Pilzes stammen bisher ausschließlich aus Nordamerika (USA und Kanada), wo der Pilz als Erreger eines Triebsterbens vor allem auf der Hemlocktanne (*Tsuga*-Arten), aber auch auf *Cedrus atlantica* und *Cedrus deodara* aufgetreten ist (BRONSON et al., 2003; SMITH et al., 2003; STANOSZ und SMITH, 2011).

Institut

Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Oldenburg, Deutschland²

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Braunschweig, Deutschland³

Kontaktanschriften

Prof. Dr. Heinz Butin, Am Roten Amte 1H, 38302 Wolfenbüttel, Deutschland, E-Mail: bh.schoeber-butin@t-online.de¹

Dr. Thomas Brand, Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Pflanzenschutzamt, Sedanstraße 4, 26121 Oldenburg, Deutschland, E-Mail: thomas.brand@lwk-niedersachsen.de²

Dr. Wolfgang Maier, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, 38104 Braunschweig, Messeweg 11/12, Deutschland, E-Mail: wolfgang.maier@jki.bund.de³

Zur Veröffentlichung angenommen

10. Februar 2015

Lange Zeit ist man davon ausgegangen, dass diese auf Koniferen auftretenden Schäden durch nur einen Krankheitserreger, *Sirococcus conigenus* (DC.) P.F. Cannon & Minter, verursacht werden. Inzwischen hat sich herausgestellt – vor allem durch die Anwendung molekularphylogenetischer Methoden – dass sich unter diesem Namen mindestens drei ähnliche Arten verbergen, die auf Pinaceae und Cupressaceae parasitieren. Es handelt sich dabei um *S. conigenus* selbst, *S. piceicola* Rossman, Castlebury, D.F. Farr & Stanosz und *S. tsugae* Rossman, Castlebury, D.F. Farr & Stanosz, mit weitgehender Bindung an bestimmte Koniferengattungen (ROSSMAN et al., 2008). Keine der drei genannten *Sirococcus*-Arten ist bisher in Deutschland beziehungsweise Europa auf der Zeder beobachtet worden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zunächst, auf das typische Befallsbild des Zedern-Triebsterbens hinzuweisen und Unterlagen für eine eindeutige Diagnose des Erregers zu liefern. Das Auftreten eines neuen, in Europa noch nicht bekannten Pilzes dürfte aber auch noch aus anderen Gründen von Interesse sein. Denn wir können heute noch nicht abschätzen, wie sich der neue Krankheitserreger in einem für ihn neuen Klimagebiet entwickelt und ob damit weitere Schäden an den bei uns angepflanzten Zedern zu erwarten sind. In Verbindung damit sollte schließlich überlegt werden, ob und welche Pflanzenschutzmaßnahmen ergriffen werden müssen, um den Erreger ganz zu eliminieren oder zumindest in seiner Ausbreitung einzuschränken.

Material und Methodik

Mikroskopische Untersuchungen

Als Ausgangsmaterial für diagnostische Untersuchungen wurden ca. 20 cm lange, mit braunen Nadeln besetzte Zweigspitzen von mehreren, älteren Bäumen der Atlaszeder aus der Nähe von Oldenburg/Niedersachsen verwendet. Von den auf Nadeln und auf der Rinde vorkommenden Fruchtkörpern wurden Querschnitte per Hand mittels Rasierklinge angefertigt, mit Anilinblau angefärbt und mikroskopisch bei 400facher Vergrößerung untersucht. Sowohl von den Fruchtkörpern als auch von den Sporen wurden Fotos angefertigt und vermessen (von 5 Proben je 100 Sporen). Schließlich wurden Sporen mittels Präpariernadel von reifen Fruchtkörpern aufgenommen und auf Agarplatten (2% Malzagar) zur Gewinnung von Reinkulturen übertragen.

Molekularsystematische Untersuchungen

DNA wurde aus einer repräsentativen Reinkultur mittels einer modifizierten CTAB-Methode (DOYLE and DOYLE, 1987) isoliert und die ITS-Region der ribosomalen Gene (Primer ITS1f und ITS4) amplifiziert. Das PCR-Produkt wurde mit einem Kit (DNA Clean and ConcentratorTM-5, Zymo Research, Irvine, California) aufgereinigt und mit den Amplifikationsprimern in beide Richtungen sequenziert. Contig-Erstellung und Qualitätskontrolle der Sequenz erfolgte mit Sequencher 4.8. (Gene Codes, Ann Arbor).

Die editierte 619 bp lange DNA-Sequenz wurde mittels BLAST N mit den in GenBank vorhandenen ITS-Sequenzen verglichen.

Das Krankheitsbild

Auffallendstes Symptom einer *Sirococcus*-Infektion sind braune Nadeln oder Nadelbüschel, die ab Frühsommer zu mehreren an den Zweigenden ausgebildet werden (Abb. 1). Weniger gut zu erkennen ist das Vorstadium eines Befalles, charakterisiert durch schlaff werdende Nadeln, die sich bald fahlgrün bis hellbraun verfärben. Typisch für einen Pilzbefall scheint auch das nebeneinander Vorkommen von braun benadelten und befallsfreien Kurztrieben zu sein. Im Laufe des Sommers fallen die meisten der verfärbten Nadeln ab, so dass die betroffenen Triebe verkahlen (Abb. 2). Zu diesem Zeitpunkt lassen sich in der Rinde der Langtriebe bereits mehr oder weniger ausgedehnte Nekrosen nachweisen. Das Resultat eines mehrjährigen Befalles ist das fortschreitende Absterben von Ästen, die keine Nadeln mehr bilden, so dass größere Kronenteile kahl werden. Schließlich kommt es zum Absterben des ganzen Baumes.

Die Symptome einer *Sirococcus*-Infektion könnten im Anfangsstadium mit Frostschäden verwechselt werden. Bei Schäden durch tiefe Temperaturen sind in der Regel zahlreiche Nadelbüschel oder auch nur die Nadelspitzen einheitlich braun verfärbt. Auch fehlen in solchen Fällen Rindennekrosen. Eine Differenzialdiagnose besteht in solchen Fällen im Auffinden von *Sirococcus*-Fruchtkörpern.

Der Erreger

Mikroskopische Untersuchungen

Fruchtkörper des Pilzes findet man sowohl auf den Nadeln der Kurztriebe (Abb. 3) als auch in der Rinde im oberen Bereich der jüngsten Langtriebe. Zu Diagnosezwecken lassen sich am besten die auf den gelben Nadeln gebildeten Fruchtkörper verwenden, wohingegen die Fruchtkörper in der Rinde wesentlich schwerer zu finden sind. In beiden Fällen wird man allerdings nur zwischen Juni und September Erfolg haben, da sonst die Pyknidien entweder noch nicht reif bzw. ab September schon durch saprobische Pilzarten verdrängt oder abgebaut worden sind. Von dem Erreger des Zederntriebsterbens kann folgende Beschreibung gegeben werden:

Conidiomata graugelblich bis dunkelgrau, auf Nadeln vereinzelt, in der Rinde meist zu mehreren gedrängt, wenig eingesenkt, subkutikulär, rundlich bis eiförmig, 150–200 µm groß, bei Reife apikal unregelmäßig aufplatzend; Fruchtkörperwand 18–24 µm dick, aus drei bis vier Lagen rundlicher Zellen bestehend (Abb. 4); Innenraum meist unilokulär, seltener multilokulär; auf der kleinzelligen Innenwand Bildung 20–30 × 3 µm großer, oft gabelig verzweigter, mehrzelliger Sporophoren, die an der Spitze eine flaschenförmig lang ausgezogene, sporenbildende Zelle (Phialide) tragen; die nacheinan-



Abb. 1. Beginnendes Triebsterben an *Cedrus atlantica* nach Infektion durch *Sirococcus tsugae*.



Abb. 2. Älterer *Sirococcus*-Befall mit abgestorbenen Langtrieben und entnadelten Ästen.



Abb. 3. Fruchtkörper von *Sirococcus tsugae* auf abgestorbener Nadel von *Cedrus atlantica*.

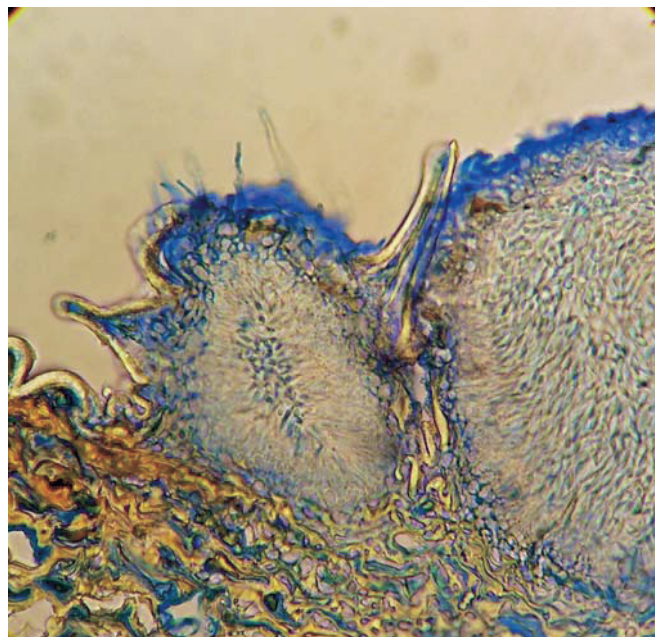


Abb. 4. Querschnitt durch zwei Fruchtkörper von *Sirococcus tsugae* in der Rinde von *Cedrus atlantica* (Anilinblau-Färbung).

der abgeschnürten Konidien sind farblos, zweizellig, $9\text{--}12 \times 2,5\text{--}3,5 \mu\text{m}$ groß und an beiden Enden schmal zulaufend (Abb. 5a). Damit ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit den Größenangaben ($10,6\text{--}15,1 \times 2,5\text{--}4,0 \mu\text{m}$) von ROSSMAN et al. (2008).

Nach Isolierung des Pilzes erhält man auf Malzagar ein anfangs weißliches bis mausgraues, flockiges Myzel mit dunkler werdendem Fleck in der Mitte; nach 3 Wochen erreicht die Kultur bei Zimmertemperatur einen Durchmesser von 7 cm; nach 4 Wochen liegt eine dunkelbraune Kultur mit hellbraunem, breiten Rand vor (Abb. 6). Zu diesem Zeitpunkt findet man bereits sowohl im Agar als auch auf der Oberfläche des Nährmediums zahlreiche, schwarze, $200\text{--}300 \mu\text{m}$ große, rundliche Pyknidien mit $8\text{--}11 \times 3\text{--}4 \mu\text{m}$ großen Konidien. Im Vergleich mit den auf natürlichem Substrat gebildeten Sporen ergeben sich geringfügige Abweichungen in Größe und Form der Konidien (Abb. 5b).

Molekularsystematische Untersuchungen

Eine BLASTn-Suche in GenBank ergab eine 100%ige Übereinstimmung der hier generierten ITS-Sequenz mit mehreren in der Datenbank hinterlegten Sequenzen (ROSSMAN

et al., 2008) von *S. tsugae* (EF512471-EF512479). Die Integration morphologischer Daten mit DNA-Sequenzvergleichen ermöglicht somit eine sichere Bestimmung des Erregers.

Beleg: *Sirococcus tsugae* Rossman, Castlebury, D.F. Farr & Stanosz, auf abgestorbenen Nadeln und Langtrieben von *Cedrus atlantica* Manetti ex Carrière, Fundort Bad Zwischenahn-Ofen/Niedersachsen, Deutschland, leg. T. BRAND, 6. Juli 2014, det. H. BUTIN und W. MAIER; dep. Naturhistorisches Museum Wien (W), Herbarium der Botanischen Abteilung, Acquisitions-Nr. W-2014-0004531.

Kultur: DSM 100233

Herkunft und Ausbreitungsverlauf

Über die Herkunft des in Deutschland aufgetretenen Krankheitserregers *S. tsugae* haben wir folgende Überlegungen angestellt, die sich aus einem Vergleich mit klassischen Beispielen der Verschleppung und Ausbrei-

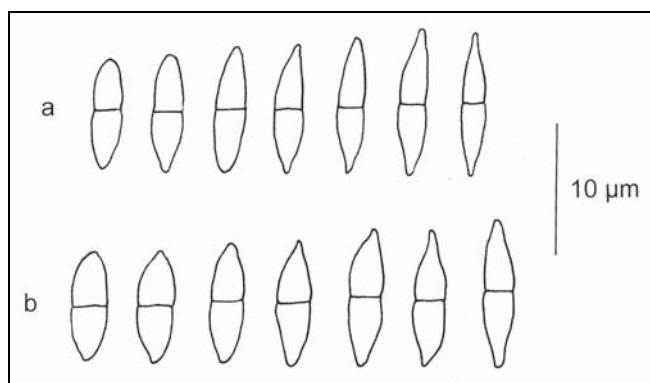


Abb. 5. *Sirococcus*-Konidien von natürlichem Substrat (a) und aus 6 Wochen alter Reinkultur (b).



Abb. 6. 21 Tage alte Kultur von *Sirococcus tsugae* auf Malzagar.

tung von Pflanzenkrankheiten bzw. ihren Erregern ergeben (GÄUMANN, 1951). – Zunächst gehen wir davon aus, dass der Pilz, der an 30 bis 50 Jahre alten Bäumen aufgetreten ist, schon längere Zeit im Befallsgebiet (latent oder wenig beachtet) vorhanden war. Woher aber kam der Erreger? Stellt man die Frage an die Heimatländer der Zedernarten, so liegen aus dem Atlasgebirge/Nordafrika, dem Hauptverbreitungsgebiet von *Cedrus atlantica*, keine Angaben über ein dortiges Vorkommen des Pilzes vor (ABOUROUH und MORELET, 1999). Ebenso wenig kennt man den Erreger im Wuchsgebiet der anfälligen Himalaya-Zeder (*Cedrus deodara*). Der Verdacht fällt damit auf Nordamerika, wo der Pilz schon seit längerem als Erreger eines Triebsterbens bei der Hemlocktanne bekannt ist. Als nun die Zeder in Nordamerika eingeführt wurde und Kontakt mit den dort heimischen *Tsuga*-Arten bekam, erweiterte sich das Wirtsspektrums des Pilzes, denn die Zeder erwies sich als hochanfälliger, neuer Wirt. Das Vorkommen des Pilzes blieb allerdings nicht lange auf sein ursprüngliches Verbreitungsgebiet, Nordamerika, beschränkt. Durch die Ausfuhr (latent) infizierter Zedern oder Hemlocktannen (möglicherweise auch von Saatgut) ist es in Europa zu einem neuen Infektionsherd gekommen, der den Pflanzenschutz jetzt in besonderer Weise herausfordert.

Pflanzenschutzmaßnahmen

Durch das Auftreten eines neuen, gebietsfremden Krankheitserregers stellt sich die Frage, welche Auswirkungen sich dadurch für die heimische Flora ergeben könnten. Hierbei ist nicht nur an die bei uns häufig als Zierbaum angepflanzte Zeder zu denken; auch kann die bei uns ebenfalls eingeführte Hemlocktanne gefährdet sein, die in Nordamerika sogar als Hauptwirt von *S. tsugae* angegeben wird.

Unter der Voraussetzung, dass sich *S. tsugae* in pathogener Hinsicht ähnlich verhält wie *S. conigenus*, könnte man auf die Erfahrungen zurückgreifen, die man bisher mit dem letztgenannten Pilz in Europa gemacht hat.

Denn *S. conigenus* ist seit über 200 Jahren bei uns heimisch. Der Krankheitserreger spielt vor allem im forstlichen Bereich eine Rolle, wo er „verderblich in Saat und Pflanzbeeten auftreten kann“ (HARTIG, 1890). An älteren Fichten ist er den Forstleuten als Erreger eines „Fichtenriebsterbens“ bekannt (BUTIN, 2011). Basierend auf den Erfahrungen, die man bei der Bekämpfung von *S. conigenus* gemacht hat, ergeben sich für das „Zederntriebsterben“ folgende Empfehlungen:

Zunächst sollten hygienische bzw. mechanische Maßnahmen dazu dienen, das Infektionspotential des Erregers möglichst klein zu halten. Dazu gehören bei Einzelbäumen z.B. das Ausschneiden und die Beseitigung befallener Äste oder das Entfernen des gesamten Baumes. Als weitere Maßnahme sollte man den Gesundheitszustand gefährdeter Bäume durch Wässerung in Trockenzeiten optimieren. Auch empfiehlt sich eine Düngung mit Calcium- und Magnesium-Präparaten, da mit diesem Verfahren z.B. in Fichtenbeständen eine deutliche Befallsminderung erzielt werden konnte (ANGLBERGER et al., 2003; BLASCHKE et al., 2009). Wo die Aufzucht von Sämlingen in Gefahr ist, könnte auch die Anwendung chemischer Pflanzenschutzmittel zum Erfolg führen (BRONSON et al., 2003). In Deutschland ist ein Auftreten von *S. tsugae* in Baumschulen oder Saatkämpen allerdings noch nicht beobachtet worden. Schließlich gilt für derartige „neue Krankheiten“ allgemein die Strategie der Überwachung befallsverdächtiger Bäume in Privatgärten wie im öffentlichen Grün. Auch sollten Baumschulen über das Auftreten auffälliger Nadel- oder Triebsschäden an Zedern und Hemlocktanne befragt sowie über die neuartige Krankheit informiert werden, damit eine weitere Ausbreitung des Krankheitserregers frühzeitig erkannt und gegebenenfalls verhindert werden kann.

Danksagung

Wir danken Frau Katrin BALKE für die kompetente Unterstützung bei der Durchführung molekularbiologischer Arbeiten und bei der Anzucht des Pilzes.

Literatur

- ABOUROUH, M., M. MORELET, 1999: Les champignons parasites du cedre de l'Atlas en Afrique du Nord et en France. *Forêt méditerranéenne* **XX**, (4), dec., 198-202.
- ANGLBERGER, H., M. SIEGHARDT, K. KATZENSTEINER, E. HALMSCHLAGER, 2003: Needle nutrient status of *Sirococcus* shoot blight-diseased and healthy Norway spruces. *Forest Pathology* **33**, 21-29.
- BLASCHKE, M., A. SIEMONSMEIER, A. NANNIG, 2009: Waldbauliche Maßnahmen zur Eindämmung des *Sirococcus*-Befalls im Bayerischen Wald. *Forstschutz Aktuell* **74**, 15-18.
- BRAND, T., H. BUTIN, 2014: Erstnachweis von *Lophodermium cedrinum* in Deutschland – Erreger einer Nadelschütte an *Cedrus* spp. *Journal für Kulturpflanzen* **66**, 307-311.
- BRONSON, J.J., G.R. STANOSZ, M.L. PUTNAM, 2003: First report of *Sirococcus conigenus* on Deodar cedar in Oregon. *Plant Disease* **87**, 1006.
- BUTIN, H., 2011: Krankheiten der Wald- und Parkbäume: Diagnose, Biologie, Bekämpfung. 4., neubearb. Aufl., Stuttgart, Eugen Ulmer Verlag, 319 S.
- DOYLE, J.J., J.L. DOYLE, 1987: A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* **19**, 11-15.
- GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel, Verlag Birkhäuser, 681 S.
- HARTIG, R., 1890: Eine Krankheit der Fichtentriebe. *Zeitschr. Forst- und Jagdwesen* **22**, 667-670.
- ROSSMAN, A.Y., L.A. CASTLEBURY, D.F. FARR, G.R. STANOSZ, 2008: *Sirococcus conigenus*, *Sirococcus piceicola* sp. nov. and *Sirococcus tsugae* sp. nov. on conifers: anamorphic fungi in the Gnomoniaceae, Diaporthales. *Forest Pathology* **38**, 47-60.
- SMITH, D.R., J.J. BRONSON, G.R. STANOSZ, 2003: Host-related variation among isolates of the *Sirococcus* shoot blight pathogen from conifers. *Forest Pathology* **33**, 141-156.
- STANOSZ, G.R., D.R. SMITH, 2011: Shoot blight caused by *Sirococcus tsugae* on Eastern Hemlock (*Tsuga canadensis*) in Georgia. *Plant Disease* **95**, 612.