

## Über eine Mykose der Latenzlarve von *Cephalcia abietis* L.

Von E. Donaubaue(r) (Wien)

### Einleitung

In der vorliegenden Abhandlung sind die Ergebnisse jener Beobachtungen und experimentellen Untersuchungen zusammengestellt, die ich in der Zeit zwischen Juli 1956 und Oktober 1958 im Rahmen einer Bearbeitung der Massenvermehrung der Fichtenspinnblattwespe (*Cephalcia abietis* L.) durchführen durfte. Die Arbeiten erstreckten sich sowohl auf das Freiland (Revier Obernberg der Forstverwaltung Karlsbach) als auch auf Untersuchungen im Laboratorium der Abteilung Forstschutz an der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Mariabrunn in Schönbrunn.

Dem Direktor der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Mariabrunn, Herrn w. Hofrat Dipl.-Ing. J. Pockberger, spreche ich meinen herzlichsten Dank dafür aus, dass mir die Durchführung dieser Arbeit im Rahmen der Abteilung Forstschutz ermöglicht wurde.

Meinen Lehrern, Herrn Professor Dr. Kurt Lohwag und Herrn Professor Dr. Franz Petrak, habe ich in steter Hochachtung zu danken, dass sie mich in das interessante Gebiet der Mykologie eingeführt haben.

Ich empfinde es auch als eine angenehme Pflicht, allen Damen und Herren der Abteilung Forstschutz für Rat und Unterstützung bestens zu danken.

Weiters gilt mein herzlicher Dank nicht zuletzt dem Gutsherrn der Forstverwaltung Karlsbach, Herrn Dipl.-Ing. Ruppert Hatschek, sowie seinem dortigen Forstmeister, Herrn Dipl.-Ing. Mauritz, die durch freundliches Entgegenkommen die Untersuchungen im Kalamitätsgebiet ermöglicht hatten.

Am 26. Juli 1956 wurde der Abteilung Forstschutz der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Mariabrunn Meldung von einer überaus starken Massenvermehrung der Fichtenspinnblattwespe, *Cephalcia abietis* L. (Syn.: *Lyda hypotrophica* Htg.), gemacht. 150 Hektar des Revieres Obernberg der Ruppert-Hatschek'schen Forstverwaltung Karlsbach/N.-Ö. waren von der Kalamität in verschiedener Intensität betroffen. Sofortige Probegrabungen der Forstverwaltung ergaben im Herdgebiet am Fuchsstein einen Belag von 1360 Afterraupen pro Quadratmeter. Seit dieser Zeit steht die Gradation unter Beobachtung der Abtlg. Forstschutz. Bis jetzt ist kein

nennenswerter, neuerlicher Frass beobachtet worden. Die Belagszahlen an überliegenden Afterraupen haben jedoch eine starke Verminderung erfahren:

Laut Schreiben der Forstverwaltung wurden Ende Juli 1956 folgende Zahlen ermittelt:

Abtlg. 10 e	_____	240 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .
Abtlg. 10 b	_____	445 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .
Abtlg. 21 b	_____	170 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .
Abtlg. 24 c	_____	843 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .
Abtlg. 24 e	_____	1360 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .

Zwischen 22. und 24. April 1958 wurden im Zuge der nunmehr laufenden Probegrabungen von mir folgende, durchschnittliche Belagszahlen erhoben:

Abtlg. 10 b	_____	232 Afterraupen pro m <sup>2</sup>
Abtlg. 21 b	_____	32 Afterraupen pro m <sup>2</sup>
Abtlg. 24 c	_____	494 Afterraupen pro m <sup>2</sup>
Abtlg. 24 e	_____	252 Afterraupen pro m <sup>2</sup> .

Da es in den letzten Jahren zu keinem beachtenswerten Flug gekommen ist, überliegt der überwiegende Teil der Afterraupen daher bereits seit dem Jahre 1956. Wie schon aus den wenigen angeführten Zahlenbeispielen ersichtlich ist, hat sich die Belagsdichte in dieser Zeit äusserst stark verändert. Gewiss führten verschiedene abiotische und biotische Faktoren diese empfindliche Reduktion der Population herbei. Von den abiotischen sind vor allem drei Faktoren am bedeutungsvollsten:

**Bodenfröste:** Es hat sich gezeigt, dass — bedingt durch die geringe winterliche Schneehöhe — die Böden im Befallsgebiet zeitweise bis in mind. 10 cm Tiefe gefroren vorgefunden wurden. Die zahlreichen Afterraupen, die in dieser Zone in den Erdhöhlen überlagen, wurden durch die Bodenfröste getötet. Altum, 1882, weist schon auf diesen Reduktionsfaktor im Zusammenhang mit der Fichtenspinstblattwespe hin.

**Trockenheit:** Wie man dann später auch bei den Arbeiten im Laboratorium sehen konnte, sind die Erdlarven der Fichtenspinstblattwespe sehr empfindlich gegen geringe relative Luftfeuchtigkeit. Lediglich die oberen, wenige Zentimeter tiefen, Schichten besaßen in den Sommermonaten eine geringe rel. Dampfspannung in den Bodenhohlräumen. So ist es verständlich, dass nur wenige Individuen durch Austrocknung zugrunde gegangen sein werden. (Vgl. auch Lang, 1894.)



**Feuchtigkeit:** Am frischesten und agilsten verhalten sich die Afterraupen bei sehr hoher relativer Luftfeuchtigkeit. Es ist anzunehmen, dass die in den Boden eindringenden Schmelzwässer manche Erdhöhlen der Afterraupen auf längere Zeit erfüllen und so die eine oder andere abtöten. Grösser ist die indirekte Bedeutung hoher Luftfeuchtigkeit in bezug auf die Infektionskrankheiten. (Vgl. Kudela, 1955.)

Die grössere Bedeutung kommt im allgemeinen den biotischen Reduktionsfaktoren zu. Ausser den weniger auffallenden Wirbeltieren (— Altum, 1882, und Lang, 1897, berichten darüber —) sind hier vor allem zu nennen:

**Parasitische und räuberische Insekten:** Diese wurden im Zusammenhang mit Massenvermehrungen der Fichtengespinstblattwespe bereits oft und auch meist sehr ausführlich in wissenschaftlichen Abhandlungen erörtert. Als Beispiele seien die Autoren Lang, 1893; 1894; 1895 und 1897; Sihler, 1913; Escherrich, 1941; Kudela, 1955; Hequist, 1956, angeführt.

**Infektionskrankheiten:** Die meisten Abhandlungen, die sich mit der Dynamik von Insektenpopulationen befassen, behandeln oft nur oberflächlich die Wirkungen von Infektionskrankheiten. Ähnliche Verhältnisse liegen auch in bezug auf *Cephalcia abietis* L. vor. — In der Literatur findet man immer wieder die Ausdrücke „Parasit“, „Räuber“ und „Krankheit“, aber die anschliessende Besprechung bezieht sich dann meist nur auf die Parasiten und Räuber, während die Wirkungen der Krankheiten gewöhnlich nicht erwähnt oder nur gestreift werden. Es muss betont werden, dass dies keineswegs als Fehler der betreffenden Autoren zu werten ist, denn mit sehr wenigen Ausnahmen fehlen heute noch klare Tatsachen und sicheres Wissen über die Rolle der Infektionskrankheiten in der Ökologie des Insektenlebens. Bereits 1826 wurden mikrobielle Ursachen von Insektenkrankheiten von Kirby und Spence (aus Steinhaus, 1949) vermutet. Neun Jahre später wurden die Mykosen als erste Gruppe der insektenpathogenen Krankheitserreger genau in ihrer mikrobiellen Natur identifiziert. (Bassi di Lodi, 1835: nach Steinhaus, 1949).

In Ratzeburg's (1844) grossem Werk findet man noch keine Erwähnung über beobachtete Krankheiten. Erst Altum, 1882, macht sich Gedanken über die Reduktionsfaktoren und führt die Verminderung der Belagszahlen während des Überliegens vorwiegend auf den Frass verschiedener Säugetiere sowie auf Witterungseinflüsse zurück. Eckstein, 1889 und 1890, erwähnt in seiner Arbeit über die Gespinstblattwespen keine Krankheiten. Interessant ist hingegen die Mitteilung von Lang, 1893, der schreibt: „... dagegen durch fortgesetzte Probesuchen zu ermitteln gesucht, ob und in welcher Ausdehnung ein Abgang an den im Boden lagernden *Lyda*-Larven

durch thierische Schmarotzer oder Pilzinfektion innerhalb gewisser Zeitperioden bemerkbar werde.“ ... „Ein nicht unbeträchtlicher Theil der Larven (8—10%) zeigte sich erschlaft, von grüngrauer Färbung, nachweislich mit Spaltpilzen durchsetzt und zur weiteren Entwicklung unfähig.“ Im weiteren Verlauf wird angeführt, dass von 10% der erkrankten *Lyda*-Larven 9,7% von Spaltpilzen (Bakterien), 0,1% von Fadenpilzen und 0,2% von Finnen besetzt gewesen waren. Lang, 1895, führt als Ursache für einen weiteren Rückgang der Belagzahl in erster Linie Infektionskrankheiten (Bakteriosen) und tierische Parasiten (Tachinen und Schlupfwespen) an. — Eckstein, 1897, erwähnt: „Alle von mir angelegten und verwandten Kulturen, auch die s. Z. nach Proskau abgegebenen, sind abgeleitet aus Sporen, die ich aus Paris von Fribourg und Hesse bezogen habe. (Anm.: Nämlich solche von *Botrytis tenella*). Sie wuchsen auf Kartoffeln, Brot, Gelatine, Agar, auf Engerlingen, sowie sehr schön auf den Larven der *Lyda hypotrophica* zu grossen weissen Flecken aus.“ Auf Grund eines Vergleiches seiner Ergebnisse mit jenen von Fries, 1893 (aus Eckstein, 1897) stellt sich heraus, dass es sich wohl nicht um *Botrytis tenella*, sondern um einen anderen, nicht identifizierten, Pilz handeln müsse. Baer, 1903 und 1916, gibt hingegen wieder keine Mitteilung über beobachtete Krankheiten. Ganz entgegen den erwähnten, früheren Erfahrungen stellt Friedrichs, 1927, fest: „Es gibt Insekten, deren zahlenmässiges Auftreten wenig durch natürliche Feinde beeinflusst wird, wie z. B. bei unseren Maikäfern und der Fichtenblattwespe (*Lyda hypotrophica*).“ Auch bei Wachtl findet man keine Beobachtungen über Infektionskrankheiten wiedergegeben. Boas, 1934, publiziert die ersten ausführlichen Determinationen von Mykosen aus Afterraupen der Gattung *Lyda* (= *Cephaleia*), allerdings auf der Species *L. arvensis* Pz. Er fand *Botrytis tenella*, *Spicaria* sp., sowie *Botrytis bassiana* und *Isaria farinosa*. Er wird deshalb in diesem Zusammenhang erwähnt, weil viele nachfolgende Autoren seither dieselben Pilze analog auch auf *Cephaleia abietis* vermuten. Escherich, 1942, erwähnt zwar allgemein die Krankheiten, behandelt aber in der Folge dann nur mehr die tierischen Parasiten. Schimitschek, 1950 und 1951, beschreibt erstmalig eine Polyederkrankheit der Fichtengespinstblattwespe. Im Freiland wurde das Eingehen von 10—20% der Afterraupen auf die beschriebene Kernpolyedrose zurückgeführt. Hequist, 1956, berichtet von einem Pilzbefall der Eier von *Cephaleia abietis* L. Der Pilz wurde nicht bestimmt, aber es wird die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass es sich um denselben Pilz handle, den bereits Boas (1932) auf *Cephaleia arvensis* beobachtet hatte.

Kudela, 1955, schreibt, dass im Laufe einer Fichtengespinstblattwespen-Kalamität in der CSR ein Grossteil der überliegenden Afterraupen hauptsächlich an einer Virose und Bakteriose eingegan-



gen sei. Weniger machte sich eine Mykose bemerkbar, durch welche im allgemeinen 1—3% der überliegenden Larven befallen worden seien. Lediglich in den Sommermonaten 1954 seien nach ausgiebigen Dauerregen herdweise 7—24% an der Mykose zugrunde gegangen. Auf die weiteren interessanten Beobachtungen Kudela's über die Einflüsse der Umwelt auf die Infektionskrankheiten sei später noch etwas ausführlicher eingegangen. Kudela hat den Erreger der Mykose nicht näher bestimmt.

Überblickt man das bisher Bekannte über Infektionskrankheiten der Fichtenspinstblattwespe zusammenfassend, so ergibt sich folgendes Bild: Es wurden bisher Bakteriosen, Virosen und Mykosen von verschiedenen Autoren beobachtet. Lediglich die Virose wurde etwas genauer untersucht und beschrieben. Der Erreger der Bakteriosen wurde weder isoliert noch bestimmt. Auch die Mykosen sind nicht bestimmt worden. Ein experimenteller Nachweis der Pathogenität und Untersuchungen über die näheren Beziehungen zwischen pathogenem Agens und Wirt wurde bisher — soweit dies aus der erreichbaren Literatur hervorgeht — in keinem Falle angestrebt.

Bei den Probegrabungen im Rahmen der Bearbeitung der Fichtenspinstblattwespen-Kalamität konnten immer wieder in abwechselnder Häufigkeit verpilzte Kadaver von Afterraupen gefunden werden. Es soll nun die Aufgabe vorliegender Untersuchung sein, diese Mykose näher zu untersuchen und somit einen kleinen Beitrag zur Pathologie der Afterraupe von *Cephalcia abietis* L. zu liefern.

## **Eigene Untersuchungen.**

### **I. Versuchsmethodik:**

#### **1. Die Entnahme der Afterraupen aus dem Boden:**

Es wurde darauf besonders geachtet, dass die Latenzlarven möglichst in dem Gesundheitszustand, in dem sie aufgefunden wurden, zur weiteren Untersuchung kamen. Das Einsammeln der Individuen ging so vor sich, dass an einer bestimmten Stelle des Waldbodens im Befallsgebiet die Streu vorsichtig entfernt wurde. Dann wurde mit einer kleinen Handschaufel der Auflagehumus und die Erde sorgfältig umgeschaufelt. Die hierbei zum Vorschein kommenden, lebenden oder toten Afterraupen wurden mit einer Stahlpinzette erfasst und jede Afterraupe für sich in einer Glasphiole untergebracht. Die Glasphiolen wurden mit Korken verschlossen und sofort für die weitere Untersuchung in das Laboratorium transportiert.

#### **2. Die Haltung der Afterraupen im Laboratorium:**

Aus verschiedenen, später beschriebenen Gründen wurden die

Afterraupen oft monatelang im Laboratorium gehalten. Die Aufbewahrung erfolgte auf verschiedene Weise:

a) In Eprouvetten: Diese Art der Aufbewahrung musste einmal gewählt werden, als 941 Afterraupen unterzubringen waren. Jede Larve war in einer Epruvette isoliert. Die Reagenzgläser blieben unverschlossen und wurden stehend in einem Zuchtschrank angeordnet. Mit Hilfe von feuchten Filterpapierfahnen wurde die relative Luftfeuchtigkeit auf ca. 70% ( $\pm 5$ ) gebracht und gehalten. Die Feuchtigkeit wurde ständig mit einem einfachen Dosenhygrometer kontrolliert. Die Temperatur schwankte — beeinflusst von der Zimmertemperatur — zwischen 17 und 20° C.

b) In Petrischalen: Es wurden 1 cm hohe Petrischalen von 10 cm Durchmesser verwendet. Diese wurden mit einer Filterpapierscheibe ausgelegt, die von Zeit zu Zeit mit destilliertem Wasser angefeuchtet wurde. In jede Petrischale kam eine Afterraupe. Die relative Luftfeuchtigkeit hatte bei dieser Anordnung immer nahezu Wasserdampfsättigung. Die Temperatur schwankte bei der Aufstellung im Labor zwischen 17 und 22° C, bei Aufstellung im Thermostaten um 14° C ( $\pm 1$ ).

c) In Erde: Für einen speziellen Versuch wurde diese Form der Haltung der Larven gewählt. Es wurde Erde aus dem Befallsgebiet in Petrischalen (14 cm  $\phi$  und 3 cm hoch) gefüllt. In diese Schalen wurden dann je drei Afterraupen übertragen. Diese bohrten sich meist ein und verfertigten wieder eine Erdhöhle, womit weitgehend natürliche Bedingungen gewährleistet waren. Durch Zugabe von dest. Wasser wurde die Erde immer leicht bindig gehalten.

Sämtliche Glasgefäße wurden vor Gebrauch im Autoklaven sterilisiert.

### 3. Die Bestimmung des Pilzes:

Da die meisten der gesammelten, verpilzten Afterraupen keine Fruktifikationsorgane aufwiesen, mussten diese im Laboratorium gezüchtet werden. Die verpilzten Individuen wurden in einer geschlossenen Petrischale auf feuchtes Filterpapier gelegt. Die mit dem Filterpapier versehenen Schalen waren vorher autoklaviert worden. Nach 2 bis 14 Tagen — je nach dem Entwicklungszustand der vorgefundenen Mykose — konnten auf diese Weise mit Sicherheit die Fruktifikationsorgane erhalten werden. Schon makroskopisch war dies an der mehligten Bestäubung oder an den rein weissen Koremien-Köpfchen erkennbar. Nun wurden zur Determination gewöhnliche Zupfpräparate hergestellt.

Die von Schaerffenberg, 1955, erstmals beschriebene Hauptfruchtform von *Beauveria bassiana* wurde zwar ebenfalls — allerdings weit später als die Nebenfruchtform — auf dem Wirtstier und in der künstlichen Kultur erhalten, doch erwies sich die Deter-



mination des Pilzes nach der Nebenfruchtform als weitaus zeit-sparender und auch insofern sicherer, weil Schaeffenberg keine genaue Differenzierung zwischen zwei Arten derselben Gattung angeben konnte.

#### 4. Der Nachweis der Pathogenität:

a) Die Kultur des Pilzes: Um die Pathogenität des Erregers der Mykose genau prüfen zu können, müssen Impfversuche durchgeführt werden. Zu diesem Zweck musste vorerst das pathogene Agens in künstlicher Kultur gezüchtet werden.

Als Kulturgefäße wurden Kolleschalen und Erlenmayerkolben verwendet. Auch Petrischalen verschiedener Grösse kamen zur Anwendung. Der Prozentsatz an Reinkulturen war bei Verwendung von Kolleschalen und Erlenmayerkolben grösser als bei Petrischalen. Die Gefäße hatten auf die Fruktifikationsfreudigkeit keinen Einfluss. Die Koremienbildung war jedoch zumeist in den Erlenmayerkolben zahlenmässig überlegen.

Als Nährsubstrat kamen folgende drei Zusammensetzungen in Anwendung:

Biomalz	25 g	Haferflockenmark	10 g
Pepton	20 g	Ovomaltine	10 g
Agar-Agar	20 g	Diastase	4 g
Aqua dest.	1000 ccm	Agar-Agar	20 g
		Aqua dest.	1000 ccm
	Biomalz	25 g	
	Pepton	20 g	
	Diastase	5 g	
	Agar-Agar	20 g	
	Aqua dest.	1000 ccm	

Der gekochte Nährboden wurde im Autoklaven zweimal sterilisiert. Alle Nährböden vertrugen diese Behandlung sehr gut und wurden bei Erkalten sofort fest.

Die Überimpfungen erfolgten mit Impfnadeln oder mit einem Haarpinsel unter sterilen Bedingungen (UV-Licht, Ausglühen). Es wurden sowohl Myzelübertragungen, wie auch Sporenimpfungen durchgeführt, beide mit sehr gutem Erfolg.

b) Die Impfung der Afterraupen mit dem infektiösen Agens: Die Konidien des Pilzes wurden unter Einhaltung steriler Bedingungen mit einem Haarpinsel von den fruktifizierenden Kulturen abgestreift und in steriles destilliertes Wasser gebracht. Von dieser Sporensuspension wurde bei kutaner Impfung mit einem Glasstab jeweils ein Tropfen auf das zu impfende Tier gebracht. Nach jeder ausgeführten Impfung wurde das Übertragungsgerät entkeimt. — Bei einigen Versuchen wurde die Übertragung des infektiösen Agens

(Sporensuspension) mit Hilfe einer Injektionsspritze (Inaltera-Tbc-Spritze mit Nadelgrösse Nr. 18) vorgenommen. Die Injektion der Sporensuspension erfolgte dorsal knapp unter das Integument. Pro Versuchstier wurden 0,02 bis 0,05 ccm eingespritzt.

Bevor die eingesammelten Erdlarven der Fichtengespinstblattwespe zu Impfversuchen herangezogen wurden, wurden sie ein bis zwei Wochen lang beobachtet, ob sich irgendwelche Veränderungen bemerkbar machten, die darauf schliessen liessen, dass bereits in der natürlichen Umgebung eine Infektion oder ein Befall durch tierische Parasiten erfolgt sei. Dadurch sollte das Versuchsergebnis möglichst nur von der jeweiligen Versuchsanordnung beeinflusst sein.

Ausser den schon erwähnten Impfmethode, wurde in einigen Versuchen zuerst der Erdboden mit dem Pilz beimpft, um so einermassen die natürlichen Verhältnisse nachzuahmen, doch soll die dabei angewandte Methodik besser im Zusammenhang mit den Versuchsergebnissen erörtert werden.

Um feststellen zu können, ob der Tod des Wirtstieres tatsächlich durch die künstliche Infektion mit dem Pilz hervorgerufen worden sei, wurde der Kadaver in der ‚Feuchten Kammer‘ bis zum Ausbruch und bis zur Fruktifikation des Myzels belassen.

Zu besseren Vergleichszwecken wurde bei jedem Versuch eine bestimmte Anzahl von Kontrolltieren ungeimpft gelassen. Diese wurden aber derselben übrigen Versuchsanordnung (Temperatur, Feuchtigkeit usw.) unterworfen wie die geimpften Individuen.

##### 5. Die mikroskopische Technik:

Zum genaueren Studium der pathologischen Veränderungen, die der Pilz in den inneren Organen und Geweben der Afterraupe von *Cephalcia abietis* L. hervorruft, war es notwendig, mikroskopische Präparate herzustellen. Mit Hilfe eines Schlittenmikrotomes wurden sowohl Längs- als auch Querschnitte durch die Erdlarven verfertigt und insgesamt etwa 600 Dauerpräparate hergestellt. Um den zeitlichen Ablauf der Krankheit histopathologisch verfolgen zu können, wurden die Tiere zu den verschiedensten Zeitpunkten nach erfolgter künstlicher Infektion geschnitten. Besonderes Augenmerk wurde auf die ersten pathologischen Veränderungen und auf den Zeitpunkt des Todes gelenkt. Zum Vergleich wurden auch Schnitte von gesunden Individuen angefertigt.

a) Die Präparation der Objekte: Zuerst sei die Methodik geschildert, die bei den meisten Schnittpräparaten angewandt wurde; über spezielle Methoden, z. B. beim Fettnachweis, wird gesondert berichtet.

Für die Fixierung wurde das säurefreie, 40%ige Formalin nach Schering-Kahlbaum verwendet. (Romeis, 1948). Bei den ersten Fixierungen wurde das Formol mit 4 Teilen Wasser ver-



dünnt, wobei aber besonders im Muskelgewebe starke Schrumpfung-  
en erzeugt wurden. Um diese Schrumpfungerscheinungen zu ver-  
ringern, wurde daher eine Verdünnung mit 9 Teilen Wasser vorge-  
zogen. In beiden Fällen wurde die Afterraupe ca. 24 Stunden in der  
Fixierflüssigkeit gelassen. Die anschliessende W ä s s e r u n g wurde  
ebenfalls 24 Stunden lang in fliessendem Wasser vorgenommen. Die  
E n t w ä s s e r u n g erfolgte beim Formol-Wassergemisch 1 : 4 in  
folgender Reihenfolge: 70%iger — 90%iger — 96%iger und schliess-  
lich absoluter Alkohol. In jeder Stufe verblieb das Objekt 24 Stunden  
lang. Beim Gemisch 1 : 9 wurde die Reihe mit 50%igem Alkohol be-  
gonnen und dann wie oben fortgesetzt. Zeit: 24 Stunden.

Nach der Alkoholreihe folgte die Einbettung in Paraf-  
fin. Die Entfernung des absoluten Alkohols geschah nach der  
Empfehlung von Romeis, 1948, mit Methylbenzoat (rein). Da-  
durch wird nicht nur der Alkohol, sondern auch ein etwaiger Wasser-  
rest entfernt. Das Methylbenzoat wurde dreimal gewechselt, jedesmal  
blieb das Präparat 2—3 Stunden darin. Dann wurde in Benzol über-  
tragen, 2—3 Stunden. Darauf folgte die Übertragung in eine mit  
Paraffin gesättigte Benzollösung (bei 30° C), wo das Präparat 12 bis  
15 Stunden belassen wurde. Die folgende Durchtränkung mit Paraf-  
fin dauerte 3 Tage, wobei das Präparat nach jeweils 24 Stunden in  
eine frische Lösung übertragen wurde. Schliesslich wurde dann die  
präparierte Afterraupe mit Hilfe von Einbettungsrahmen einge-  
bettet.

Das S c h n e i d e n der eingebetteten Afterraupen wurde mit Hilfe  
eines Reichert-Schlittenmikrotomes (OM) bewerkstelligt. Die Schnitt-  
dicke betrug ca. 4  $\mu$ . Das Aufkleben der Schnitte erfolgte mit Wasser.

Nach dem Trocknen der aufgeklebten Schnitte im Thermostaten  
kamen diese zur Entfernung des Paraffins für 3—4 Minuten in Xylol.  
Sodann wurde für 3—4 Minuten in absolutem Alkohol, für 1—2 Mi-  
nuten in 96%igem, für 1—2 Minuten in 80%igem und dann ebenfalls  
1—2 Minuten in 60%igem Alkohol eingetaucht und schliesslich in  
destilliertes Wasser (5 Minuten) übertragen.

Nun folgte die F ä r b u n g, bei welcher das Hauptaugenmerk  
darauf gerichtet war, die Pilzhypen deutlich sichtbar zu machen  
und zugleich das Gewebe soweit zu differenzieren, dass es leicht  
agnostiziert werden kann. Bei den vorliegenden Untersuchungen wur-  
den für diese Übersichtspräparate folgende Farben auf ihre Eignung  
geprüft: Bismarkbraun, Kongorot, Baumwollblau, Hämalaun und  
Schiff'sches Reagens. Am besten haben sich für unsere Zwecke die  
beiden letzteren bewährt.

F ä r b u n g mit saurem Hämalaun nach P. Mayer  
(Romeis, 1948): Aus dem dest. Wasser wurde das Präparat für  
5 bis 6 Minuten in die Farblösung gebracht. Das Umfärben erfolgte  
unter fliessendem Wasser (15 Min.). Manchmal wurde das Umfär-

ben auch mit Lithiumkarbonat (kalt gesättigt) hervorgerufen. Die Kernfärbung mit Hämalaun wurde dann durch eine Nachfärbung (Gegenfärbung) mit Eosin — 30—40 Sekunden in der Farblösung — ergänzt.

Die gefärbten Präparate wurden nun wieder in der aufsteigenden Alkoholreihe (60—80—96—abs. Alk.; jeweils eine Minute) entwässert und dann mit Xylol durchtränkt (1 Min.). Zuletzt wurden die Präparate in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die Kerne wurden bei dieser Färbung violett, das Muskelgewebe rot, die Pilzhyphen bläulich gefärbt.

Färbung mit dem Schiff'schen Reagens:

Die Vorbehandlung erfolgte so wie oben bereits geschildert wurde. Aus dem destillierten Wasser wurde das Präparat in 1%ige Perjodsäure für 10 Minuten übertragen, dann 10 Minuten im fließenden Wasser ausgewaschen. Anschliessend folgt die Färbung im Schiff'schen Reagens etwa 20 Minuten lang (der Fortschritt der Färbung ist visuell kontrollierbar und muss demnach variiert werden, wie es die jeweiligen Objekte erfordern). Es folgt wieder das Auswaschen im fließenden Wasser (mit Hilfe von Wässerungsbädern mit geringer und gleichmässiger Strömung) 5 Min. lang. Dann kam das Präparat für 1 Min. in Hämalaun, welches wiederum im fließenden Wasser umgefärbt wurde (15 Min.). Darauf folgt die aufsteigende Alkoholreihe wie oben.

Diese Färbung zeichnet sich durch äusserst kräftige Farben aus, was besonders für die Mikrophotographie dankbare Objekte liefert. Die Kerne erhalten eine dunkelblaue Farbe, auch die Pilzhyphen werden kräftig blau gefärbt, während die Gewebe in verschiedenen Nuancierungen intensiv rot erscheinen.

Die Uratfärbung:

Zur besseren Deutung und Kenntnis der internen Vorgänge und Zustände in der Erdlarve der Fichtenspinnblattwespe wurden einige Serien von Präparaten auf Urate untersucht.

Färbung der kristallischen Harnsäure:

Für diesen Nachweis musste auch eine andere Fixierung gewählt werden: Sie erfolgte in absolutem Alkohol 2—4 Stunden lang. Das fixierte und in dünne Scheiben geschnittene Material wurde dann auf 4—5 Stunden in dreimal gewechseltes Azeton übertragen. Nun folgte die gewöhnliche Paraffineinbettung, wie sie oben schon beschrieben wurde. Zum Entparaffinieren wurde dann Xylol verwendet, wonach zweimal in abs. Alkohol abgespült wurde.

Die Kerne wurden in gut ausgereiftem Alaunhämatoxin (nach Hansen) gefärbt. Die Farblösung wird auf den Schnitt gegossen und unter ständiger Bewegung lässt man dann den Farbstoff  $\frac{1}{2}$  bis 1 Minute einwirken. Nach zweimaligem Eintauchen in abs. Alkohol (mit 0,5% HCl-Zusatz) wurde in abs. Alkohol übertragen, dem auf



50 ccm 5 Tropfen Ammoniak zugesetzt worden waren. Das Präparat verblieb solange, bis sich der Schnitt blau gefärbt hatte. Dreimaliges Abspülen in abs. Alkohol folgte.

Nun wurde die Carminlösung auf den in einer Petrischale liegenden Schnitt aufgegossen. Die Färbung wurde so unter leichter Bewegung während der Zeit von ca. 5 Minuten vollzogen. Abspülen in abs. Alkohol. Nach einer Tränkung in Xylol (etwa 1 Min.) wurde dann in Kanadabalsam eingeschlossen.

Durch diese Behandlung werden die Kerne blau gefärbt, während die Harnsäurekristalle, sowie kolloidale Tropfen und Sphaerolithe bei Harnsäureinfarkt stark rot gefärbt werden. — Das Mononatriumurat bleibt bei dieser Methode ungefärbt; deshalb musste dafür ein eigener Nachweis gewählt werden.

Die Fixierung und Einbettung für die Färbung von Mononatriumurat erfolgte analog der eben beschriebenen Uratfärbung. Dasselbe gilt auch für die Carminfärbung. Nach dem Abspülen in mehrfach gewechseltem abs. Alkohol kamen die Schnitte für 5 Minuten in eine Lösung, die sich aus 8 Teilen Methylalkohol und 2 Teilen Ammoniak zusammensetzte. In der Folge wurde nun eine alkoholisch konzentrierte (96%ige) Methylenblaulösung aufgegossen, die zur Hälfte mit abs. Alkohol verdünnt worden war. Färbedauer  $\frac{1}{2}$  Minute unter ständiger, leichter Bewegung. Gründliches Abspülen der überschüssigen Farbe, bis der abs. Alkohol rein bleibt. Zur Gegenfärbung wurde folgende, filtrierte Lösung verwendet (Dauer 15 Sekunden): Konz. wässrige Pikrinsäurelösung 9 ccm + heiss gesättigte, wässrige Natriumsulfatlösung 1 ccm. Dieses Gemisch wird einfach auf den Objektträger geschüttet. Abspülen, Xyloltränkung und Einschliessung wie oben.

Durch diese Färbemethode erhalten die Kerne eine graublaue Farbe, das Mononatriumurat wird leuchtend grün und die kristallische Harnsäure tief blaugrün.

Die hier angewandte und beschriebene Rezeptur und Verfahrensvorschrift für die Präparation der Schnitte wurde mit geringfügigen Modifikationen aus Rom eis, 1948, entnommen.

#### Der Fettnachweis:

Wegen der Löslichkeit von Fettstoffen in höherprozentigen Alkoholen kann man die bisherigen Fixierungs-, Einbettungs- und Färbemethoden nicht verwenden. Es mussten daher Gefrierschnitte hergestellt werden. Die Afterraupen wurden in etwa 5 mm lange Stücke geschnitten, in Formol 1 : 9 24 Stunden lang fixiert und dann in fließendem Wasser 24 Stunden mit Hilfe von Wässerungssieben gespült. Nach dieser Behandlung wurden die Afterraupen gefroren und mit Hilfe des Reichert-Gefriermikrotom-Aufsatzes geschnitten. Die erreichte Schnittdicke betrug etwa 10  $\mu$ .

Diese Methode brachte nicht den gewünschten Erfolg, weil man

an den erhaltenen Schnitten nur mehr selten nachträglich exakt feststellen konnte, aus welchem Körperteil sie entstammen.

Es wurde daher eine vorherige Einbettung in Gelatine nach der Methode von Heringa und ten Berge (Romeis, 1948) vorgezogen. Für unsere Zwecke wurden verschiedene Reaktionszeiten verlängert und geringfügige Änderungen vorgenommen.

Herstellung der Einbettungsmasse: Die entsprechende Menge Gelatine wurde in 1%igem Karbolwasser bei 37° C gelöst und durch einen Heisswassertrichter filtriert. Fixierung mit Formol und Auswaschen so wie oben. Aus dem fliessenden Wasser kamen die fixierten Stücke für 12 Stunden in eine 10%ige, auf 37° C erwärmte Gelatinelösung. Dann wurden die Objekte in eine 15 bis 20%ige Gelatinelösung übertragen, wo sie 24 Stunden bei 37° C blieben. Danach wurde in 15—20%iger Gelatine eingebettet, indem die Einbettungsrähmchen von fliessendem Wasser umspült waren. Der Block wurde dann zugerichtet und sofort auf dem Gefriertisch geschnitten.

Die Schnitte wurden in destilliertem Wasser aufgefangen und kamen dann auf einen mit Eiweissglycerin bestrichenen Objektträger. Mehrere solcherart behandelter Objektträger wurden übereinandergelegt, wobei immer ein leicht befeuchteter Filterpapierstreifen als Zwischenlage verwendet wurde. War das Filterpapier etwas zu stark angefeuchtet, so schwammen die Schnitte ab. Ein kleiner Stoss von Objektträgern wurde dann mit kleinen Bleigewichten beschwert und für 10 Minuten in den Einbettungssofen (37° C) gestellt. Nach dieser Zeit kamen die Objektträger in warmes Wasser (30—40° C). Dadurch schwammen die Filterpapierstreifen ab und die Gelatine löste sich allmählich heraus, was mit freiem Auge leicht zu kontrollieren ist. Die so behandelten Schnitte wurden nun getrocknet und dann nach Sudan III (Romeis, 1948) gefärbt:

Färbung mit alkoholischer Sudanlösung nach Daddi:

Auf die mit 50%igem Alkohol benetzten Schnitte wird die Sudanlösung (über Herstellung dieser s. Romeis, 1948, S. 245) aufgetropft. Die Färbedauer beträgt 15 Minuten. In destilliertem Wasser wird dann abgespült. Es folgt die Färbung mit Hämalaun nach P. Mayer (s. d.) ca. 5 Minuten lang. Zum Umfärben wurde NH<sub>3</sub>-Dampf verwendet, welcher aus einer geöffneten Ammoniak-Flasche strömte. Die Präparate werden dann in Terpeneol eingeschlossen. Die Dauerpräparate wurden mit einem Lackring versehen.

Durch diese Fettfärbung werden die Fettsubstanzen kräftig orange-gelb und die Kerne blau gefärbt.

b) Die mikroskopische Betrachtung:

Zum Betrachten der mikroskopischen Präparate stand das Reichert-Mikroskop Zetopan zur Verfügung und in Verwendung. Für



die Beobachtungen der Mykose konnte im allgemeinen mit den Trockensystemen leicht das Auslangen gefunden werden. Bei der Betrachtung der Kernveränderungen wurde auch mit Immersion gearbeitet. Das Phasenkontrastverfahren erwies sich bei den vorliegenden Präparaten als so sehr dem gewöhnlichen Hellfeldverfahren überlegen, dass es bei Betrachtung und Mikrophotographie ausschliesslich angewandt wurde.

### c) Die Mikrophotographie:

Die Mikroaufnahmen wurden mit Hilfe des Zetopan und der Exacta-Varex hergestellt. Als Filmmaterial fand sowohl orthochromatisches Material (Agfa, 13/10 Din) wie auch orthopanchromatisches Material (Agfa Isopan FF, meist 13/10, seltener 21/10 Din) Verwendung. Bei Verwendung entsprechender Filter (meist Gelb- oder Grünfilter, je nachdem ob das Gewebe oder Pilz und Kerne hervorgehoben werden sollten) erwies sich der Agfa Isopan FF, 13/10 Din, als am geeignetsten und vielseitigsten anwendbar.

## II. Besprechung der Untersuchungen und deren Ergebnisse.

### 1. Die Bestimmung des pathogenen Agens:

Das verpilzte, wie oben behandelte Tier wurde nun jeweils der Determination des Pilzes zugeführt:

Das sterile Myzel ist kriechend, septiert und verzweigt, hyalin, makroskopisch rein weiss bis elfenbeinfarbig. Die Konidienträger sind scharf vom Myzel abgesetzte, aufrechte Fäden. Die Konidienträger besitzen Phialiden und sind meist nicht, seltener gabelig verzweigt. Die Konidien sind mehr oder weniger kugelig und sitzen an den Zweigspitzen oder an den Seiten der Konidienträger kopfig gehäuft. Die Konidien besitzen einen Durchmesser von 2—3  $\mu$ . Es handelt sich demnach um den Pilz *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. (Syn. *Botrytis Bassiana* Bals. — *Stachylidium Bassianum* Mont.).

*Beauveria Bassiana* ist bisher bereits an mehreren hundert Insektenarten als Krankheitserreger gefunden worden. (Gösswald, 1939).

### 2. Die Kultur des Pilzes:

Die Übertragung von Myzel oder Sporen vom verpilzten Kadaver der Afterraupe von *Cephaleia abietis* L. auf die künstlichen Nährböden gelang stets aussergewöhnlich leicht. Die Kulturen wuchsen rasch an. Die Farbe des Myzels zeigte, je nach der Umgebung, deutliche Unterschiede. Wurden die Kulturen dauernd im Dunklen aufbewahrt, so war die Farbe rein weiss bis schwach elfenbeingelb. Wurden die Kulturen jedoch bei Tageslicht herangezogen, so zeigte sich mit dem Alterwerden immer mehr eine leicht gelbliche Tönung. Etwa sechs und mehr Wochen alte Kulturen wiesen in den tieferen

Schichten des Luftmyzels eine leichte, schwach wahrnehmbare, rötliche Tönung auf.

In feuchter Umgebung (bei mehr als 90% rel. Luftfeuchtigkeit) waren in der Kultur sehr leicht *Koremien* zu erhalten. Die Höhe der *Koremien* erreichte bis zu etwa 2,5 cm, wobei der sterile Stiel von dem fertilen Köpfchen deutlich differenziert war. Der Durchmesser der Köpfchen betrug im reifen Zustand bis zu 3 mm. Während auf den Kadavern bei Wasserdampfsättigung selten gegabelte *Koremien* vorkamen, waren solche in den künstlichen Kulturen niemals beobachtet worden. Bei geringerer rel. Luftfeuchtigkeit traten die *Koremien* entweder nur an der Glaswand des Kulturgefäßes oder überhaupt nicht (nämlich als echte *Koremien*) auf. Nur selten kommen ausschliesslich schlanke *Koremien* vor. Sonst treten sie gemischt mit unechten *Koremien*, sowie mit jenen Typen auf, die bereits *Schaerffenberg*, 1957, ausführlich beschrieben hat.

Nach *Schaerffenberg*, 1955 und 1957 entstehen die *Koremien* auf folgende Weise: Eingebettet in lockeres Myzel, bilden sich in einer gewissen Schicht der Kultur die Fruchtkörper der Hauptfruchtform von *Beauveria Bassiana*. Die Askosporen zerfallen und keimen dicht gedrängt aus, wodurch es zur *Koremienbildung* komme. Es ist bei unseren Kulturen auch dann zu reichlicher *Koremienbildung* gekommen, wenn die Perithezien des Pilzes nur ganz spärlich im Hyphengeflecht zu finden waren. Die *Koremienbildung* ist daher nach unseren Erfahrungen nicht unbedingt von der Bildung der Hauptfruchtform abhängig.

Es wurde ausserdem die Beobachtung gemacht, dass die Guttationstropfen oft voll von keimenden Konidien sind. Durch diese gedrängten, zahlreichen Keimhyphen scheint ebenfalls eine *Koremienbildung* sehr begünstigt zu werden.

Wurden auf frischen Nährböden mehrere Stellen nebeneinander geimpft, so zeigte sich häufig dort, wo das radial wachsende Myzel aufeinander traf, schon nach kurzer Zeit (etwa 3—4 Wochen) eine lebhaftere *Koremienbildung*. Dagegen treten die *Koremien* sonst meist erst nach etwa 6—8 Wochen auf.

Die Aszi und deren Sporen haben sich mit Hämalaun und Schiffchem Reagens nicht färben lassen.

### 3. Der Nachweis der Pathogenität von *Beauveria Bassiana* für die Afterraupe von *Cephalcia abietis* L.:

Auf die weiter oben beschriebene Art und Weise wurden die Afterraupen im Laboratorium gehalten und geimpft. Bei jedem der zahlreichen Impfversuche wurde bei Verwendung von einwandfreiem Sporenmateriel und bei Beachtung der Feuchtigkeitsansprüche des Pilzes eine im ganzen Krankheitsverlauf typische Mykose erzeugt



und ein hundertprozentiger Abtötungserfolg festgestellt.

Dieser totale Abtötungserfolg wurde — je nach der Versuchsanordnung verschieden — nach 7—28 Tagen erreicht.

a) Die verschiedenen Impfmethoden und ihr Einfluss:

Die Methode der Impfung übte auf den zur Abtötung aller geimpften Versuchstiere notwendigen Zeitraum einen grossen Einfluss aus:

Bei den epikutikulär beimpften Larven waren die ersten toten Individuen vom siebenten bis neunten Tag festzustellen. Der Grossteil starb dann in den folgenden 6 bis etwa 10 Tagen, während „Nachzügler“ zwischen dem 16ten und 28ten Tag an der Mykose zugrunde gingen.

Bei den Versuchsindividuen, denen eine Sporensuspension von *Beauveria Bassiana* dorsal subkutikulär injiziert worden war, waren die ersten Toten schon nach ein bis zwei Tagen festzustellen und nach etwa 6 weiteren Tagen war die totale Abtötung erreicht. Es ist gewiss anzunehmen, dass die verursachte Verletzung, sowie der bisweilen damit verbundene Verlust an Hämolymphe zur Beschleunigung beigetragen hat.

Die Impfmethoden üben auch einen grossen Einfluss auf die durch den Pilz verursachte Streckung des Larvenkörpers aus. Vorgehend der weiter unten folgenden Besprechung wird schon in diesem Zusammenhang auf die im Laufe der Krankheit auftretende Streckung des Larvenkörpers hingewiesen, die durch die interne Vermehrung des Krankheitserregers hervorgerufen wird. Man kann nun auf Grund der angestellten Messungen den Zeitraum bestimmen, den das pathogene Agens zum Keimen, zum Durchdringen der Kutikula und bis zur äusserlich wahrnehmbaren, starken, internen Wirkung benötigt: Von der Impfung bis zu den ersten Streckungserscheinungen vergehen bei epikutikulärer Applikation der Suspension im allgemeinen nur einige wenige Tage! Auf die Besonderheiten bezüglich Streckung bei subkutikulärer Impfung wird bei der Besprechung des Krankheitsverlaufes hingewiesen.

b) Die Umweltfaktoren und deren Einfluss:

Es ist sicher, dass die Umwelt einen gewissen Einfluss auf den ganzen Vorgang der Infektion und auch auf den Krankheitsverlauf ausübt. Dieser mitbestimmende Faktor Milieu wirkt in zwei Richtungen: Einerseits hängt davon das Befinden des Wirtstieres und andererseits jenes des pathogenen Agens ab. Es erhebt sich also die Frage, welche Kombination von Milieufaktoren für die Larve von *Cephaleia abietis* L. optimal ist und welche Konstellation dem pathogenen Pilz *Beauveria Bassiana* die besten Entwicklungsmöglichkeiten bietet. Beim Nachweis der Pathogenität im Laboratorium

haben wir es im allgemeinen nur mit zwei Hauptfaktoren zu tun und zwar mit der relativen Luftfeuchtigkeit und mit den Temperaturverhältnissen.

Mit Hilfe eines Bodenhygrometers wurde mehrmals zu verschiedenen Jahreszeiten und an verschiedenen Stellen des Befallsgebietes die relative Dampfspannung der Bodenhohlräume in einer Tiefe bis etwa 20 cm gemessen. Es wurden immer Werte zwischen 94% und 96% registriert. Die Infektionsversuche wurden aus diesem Grunde und aufbauend auf die von Schneider, 1953, gewonnenen Erkenntnisse meist bei Wasserdampfsättigung durchgeführt. Es war aber auch die theoretische Möglichkeit in Betracht zu ziehen, dass die um das Versuchstier befindliche Mikroatmosphäre mit ihrer höheren Luftfeuchtigkeit als die Umgebung genügen könnte, um die Konidien des Pilzes keimen zu lassen. Daher wurden auch zwei Versuche bei niedrigerer rel. Luftfeuchtigkeit durchgeführt.

Zwischen 15. 11. und 10. 12. 1957 wurde folgender Versuch angelegt: Latenzlarven, die auf die beschriebene Weise gesammelt und aufbewahrt worden waren, wurden aus den Petrischalen mit relativer Luftfeuchtigkeit von etwa Wasserdampfsättigung in eine Anordnung gebracht, die nach den Anleitungen von Zwölfer, 1932, hergestellt worden war: Die grössere Hälfte von Petrischalen ( $\phi$  10 cm) wurde mit Natriumchlorid zur halben Höhe gefüllt und mit Etamin-Gaze überzogen. Auf die Gaze wurde nun je eine Afterraupen (insges. 12) gelegt und in der üblichen Weise mit Sporen beimpft. Fünf weitere Tiere wurden in derselben Anordnung ungeimpft belassen. Darüber wurde dann die kleinere Hälfte der Petrischale gestülpt. Das Natriumchlorid wurde ständig mit destilliertem Wasser feucht gehalten, wodurch nach Zwölfer, 1932, im darüberliegenden Teil eine relative Dampfspannung von 70—80% erreicht wird.

Bis zum 10. 12. 1957, d. s. 25 Tage nach der Impfung, waren sämtliche Versuchs- und Kontrolltiere eingegangen. Die Latenzlarven wurden im Laufe des Versuches an 18 Tagen in ihrer Länge gemessen, wodurch nachgewiesen werden konnte, dass sie um 2—5 mm geschrumpft waren. — Ein positiver Erfolg der künstlichen Pilzinfektion konnte nicht nachgewiesen werden!

Zwischen dem 19. 2. 1958 und dem 31. 3. 1958 wurde der Versuch folgendermassen wiederholt:

20 Afterraupen wurden in offenen Petrischalen im Laboratorium aufgestellt, davon blieben 4 als Kontrolle ungeimpft und 16 wurden mit der Suspension epikutikulär geimpft. Die rel. Luftfeuchtigkeit und das Temperaturklima des Raumes wurde während des Versuchszeitraumes durchgehend mit Hilfe eines Thermohygrographen aufgezeichnet. Die rel. Luftfeuchtigkeit bewegte sich im allgemeinen zwischen 19 und 30% (in manchen Fällen auch bis zu 38%). Die Temperatur schwankte um 20° C ( $\pm$  3° C).



Bereits am zwanzigsten Tag nach der Impfung waren sowohl die geimpften als auch die ungeimpften Tiere vollkommen eingetrocknet und tot. Eine Mykose konnte wieder nicht nachgewiesen werden.

Aus diesen beiden Versuchsergebnissen muss also geschlossen werden, dass sich die Latenzlarven von *Cephalcia abietis* L. bei hoher Wasserdampfspannung (um den Sättigungsgrad) wohl und gesund fühlen, während sie bei niedriger rel. Luftfeuchtigkeit durch Austrocknung zugrunde gehen müssen.

Es bleibt auch noch die Frage offen, ob ein Zuviel an Feuchtigkeit den Latenzlarven ebenfalls nicht zuträglich wäre. — Hin und wieder geschah es, dass — bedingt durch ein Absinken der Raumtemperatur — Wasserdampf in den Schalen kondensierte und etwa 0,3—0,5 mm hoch über dem Filterpapier zu stehen kam. Die Afterraupen reagierten darauf so, dass sie sich entweder am Schalenrand hochschoben oder dass sie sich solange zur Seite oder gar auf den Rücken legten, bis das Wasser wieder in die Dampfphase übergegangen war. Eine Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes wurde in diesen Fällen nie beobachtet.

Über die Feuchtigkeitsansprüche des Pilzes sind wir durch eine Arbeit von Schneider, 1953, unterrichtet. Demnach liegt bei diesem insektenpathogenen Pilz der Hydraturgrenzwert der Sporenkeimung bei 92% relativer Dampfspannung und der Hydraturgrenzwert für das Myzelwachstum bei 88% rel. Dampfspannung, während jener für die Konidienbildung 93—94% beträgt. Für die Keimung benötigt *Beauveria Bassiana* bei einer rel. Dampfspannung von 99% bis etwa 97% lediglich 1—2 Tage und bei 95% schon etwa 3 Tage. Die Wachstumsintensität ist bei 100% relativer Luftfeuchtigkeit am grössten!

Die optimalen Werte der rel. Luftfeuchtigkeit für *Cephalcia abietis* (Latenzlarve) und *Beauveria Bassiana* können daher nach den bisherigen Erfahrungen als weitgehend übereinstimmend angenommen werden. Es ergibt sich daraus, dass eine epikutikuläre Sporeninfektion nur bei der relativen Dampfspannung möglich ist, die höher als 92% liegt, während für eine Myzelinfektion (wie sie im Boden häufiger vorkommen wird) eine solche von mehr als 88% notwendig erscheint.

Die Optima der Temperaturverhältnisse von Wirt und Parasit liegen nicht mehr beisammen. Arnau, 1927 (nach Gösswald, 1939) stellte als Temperaturoptimum für *Beauveria Bassiana* + 27,5° C fest. Die Temperaturgrenzwerte betragen + 6° C nach unten und + 40° C nach oben hin. In der Bodensphäre, in der die Latenzlarven überliegen, sind die Temperaturkurven gegenüber jenen der Luft schon sehr abgeflacht. Man wird nicht fehl gehen, wenn man annimmt, dass die Bodentemperaturen nur äusserst selten über 20° C ansteigen.

Für Temperaturversuche standen mir zwei Möglichkeiten der Variation zur Verfügung: 1. Ein wassergekühlter Thermostat, mit dem eine untere konstante Temperatur zwischen 13° C und 15° C erreichbar war. 2. Die meist sehr konstante Raumtemperatur in einem kleinen Labor-Raum (zwischen 18° und 23° C).

Die durchschnittlich benötigte Zeit für die Abtötung aller Versuchstiere war im Thermostaten um 1—3 Tage länger als bei jenen im Laboratorium. Im allgemeinen verläuft die Krankheit bei höheren Temperaturen viel akuter. Sehr deutlich ist auch das bedeutend schwächere, externe Myzelwachstum aufgefallen. Auch die Koremienbildung trat in den tieferen Temperaturbereich weit später ein. So wurden zum Beispiel beim Versuch 201/224 die ersten Koremien auf den künstlich infizierten Afterraupen im Laboratorium vom zwanzigsten Tag nach der Infektion beobachtet, während in dem tieferen Temperaturbereich die ersten Koremien erst nach sechs Wochen festzustellen waren.

Es wird auch bereits in diesem Zusammenhang auf das Ergebnis der ‚Erdversuche‘ verwiesen, wo der Abtötungsprozentsatz bei derselben niederen Temperatur geringer war als bei den Versuchstieren, die dem Temperaturklima des Laboratoriums ausgesetzt waren.

Zusammenfassend kann man also über die Temperatur und ihre Beziehungen zu *Beauveria Bassiana* und *Cephaleia abietis* (Erdlarve) sagen, dass die Virulenz des Krankheitserregers bei Temperaturen um 14° C (bei gleichzeitiger, annähernder Wasserdampfsättigung) merkbar abnimmt und zugleich die Widerstandskraft des Wirtstieres gegenüber jenen bei etwa 20,5° C ( $\pm 2,5^\circ$  C) vergrößert wird.

#### c) Der Nährboden und sein Einfluss:

Gösswald, 1939, führt in seiner umfassenden Arbeit über *Beauveria Bassiana* eine Reihe von Autoren an, die auf Grund ihrer Beobachtungen und Untersuchungen die Ansicht vertreten, dass das Eindringen des Pilzes durch die Kutikula wohl durch mechanischen Druck aber auch mit Hilfe von Ausscheidung des chitinlösenden Fermentes Diastase vor sich gehe. Bereits Zopf, 1890, berichtet ausführlich über die Fähigkeit verschiedener Pilze, das Enzym Diastase zu bilden. Ich machte einige wenige Infektionsversuche mit Sporenmateriel, das auf Nährböden mit Diastase-Zusatz erzogen worden war. Ein eindeutiger Einfluss konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Die übrigen verwendeten Nährböden konnten ebenfalls keine erkennbare Beeinflussung der Versuchsergebnisse erzielen.

#### d) Der Einfluss des Pilzstammes:

Nachdem bereits bei den ersten Versuchen die Pathogenität des von *Cephaleia-abietis*-Erdlarven abgeimpften Pilzes erwiesen war, wurde für einige Versuche auch Pilzmateriel (*Beauveria Bassiana*) verwendet, das von verpilzten Ichneumonidenpuppen (aus dem Massenvermehrungsgebiet der Fichtengespinntblattwespe aus dem Bo-



den), von in der Laborzucht verpilzten Faltern von *Epiblema tedella* (auch aus dem Revier Obernberg der Forstverwaltung Karlsbach), sowie von befallenen Raupen (aus Laborzucht) und einer Puppe von *Pygaera anastomosis* (aus einem Windschutzstreifen bei Tadten im Burgenland) gewonnen worden war. — Auf *Pygaera anastomosis* ist *Beauveria Bassiana* übrigens m. W. bisher noch nicht beschrieben worden. — Sowohl in der künstlichen Kultur wie auch in der pathogenen Wirkung für die Afterraupen der Fichtengespinstblattwespe war kein anderes Verhalten als bei dem von den Latenzlarven selbst gewonnenen Material aufgefallen.

e) Einfluss des Sporenalters:

Bei den Versuchen 821/840 und 841/860 wurde Sporenmaterialepikutikulär aus drei bis vier Monate alten Kulturen verwendet. Die infizierten Afterraupen wurden bei nahezu Wasserdampfsättigung gehalten. Bis zum sechsunddeissigsten Tag nach der Impfung waren bei beiden Versuchen erst genau 75% der Versuchstiere an der Mykose zugrundegegangen. In der darauffolgenden Zeit konnten die Versuche nicht beobachtet werden. Zweieinhalb Monate nach der Impfung konnte die hundertprozentige Abtötung und der Ausbruch des Myzels von *Beauveria Bassiana* festgestellt werden.

Dieses Ergebnis war insofern zu erwarten, weil ja innerhalb der Kulturgefäße eine sehr hohe Wasserdampfspannung herrscht und die Sporen in feuchter Umgebung sehr schnell ihre Keimkraft verlieren. In trockener Luft sind sie hingegen auch 3 Jahre haltbar. Lambert, 1903 (aus Gösswald, 1939).

f) Die Konstitution der Afterraupe und ihr Einfluss auf den Infektionserfolg:

Unter den Laboratoriumsbedingungen befindet sich die Afterraupe von *Cephalcia abietis* bestimmt nicht in der optimalen Verfassung und — abgesehen von der rel. Luftfeuchtigkeit — nicht in annähernd natürlichen Verhältnissen; sie kann also ihre angeborene, aktive und passive Resistenz nur wenig gegen den künstlich aufgebraachten, angreifenden Parasiten zur Geltung bringen.

Durch die Störung aus dem Lager der Latenzruhe und durch die tagelange Beunruhigung (die Afterraupen kriechen oft stunden- bis tagelang in den Aufbewahrungsgefäßen umher, bis sie wieder in ihrer Ruhestellung verharren) wird ein erhöhter Kräfteverbrauch induziert, der durch keinen Nahrungsnachschub ersetzt wird. Vielleicht darf man in gewisser Beziehung einen Vergleich zu den Tieren mit Winterschlaf ziehen. Auch bei diesen wirkt sich eine Störung während der Winterruhe meist sehr schädlich für die Konstitution aus.

Dazu kommt noch, dass die schützende Wirkung der Biozönose Erde gänzlich fehlt.

Man erkennt jedoch aus jedem Versuchsergebnis allein schon

aus der Streuung in bezug auf die benötigte Zeit für die Abtötung, dass es gewaltige individuelle Unterschiede in der Widerstandskraft geben muss. Schon makroskopisch lassen sich solche auch dadurch vermuten, dass die Grösse und das Aussehen der einzelnen Individuen stark variieren. Die gemessenen Längen der Larven schwankten zwischen 16 und 23 mm. Ratzeburg, 1844, gibt eine Länge bis zu 33 mm an. Ratzeburg, Judeich, Nitsche nennen eine Länge von 25—30 mm (1895). Baer, 1903, gibt dieselbe Grösse an. Lorenz und Kraus, 1957, geben einen Mittelwert von 20 mm an, was mit meinen Messungen genau übereinstimmt. Die geringeren Grössen mögen wohl damit zusammenhängen, dass bei der gegenwärtigen Gradation in Karlsbach das Nahrungsangebot für die ungewöhnlich grosse Anzahl von fressenden Afterraupen oft vielleicht kaum ausreichte. Auch das mag also die allgemeine Konstitution der Erdlarven beeinträchtigen. Es muss aber betont werden, dass sich im Rahmen der Infektionsversuche eine Beziehung zwischen Larvengrösse und Geschwindigkeit des Krankheitsablaufes nicht nachweisen liess. Abschliessend sei auch noch auf die aufschlussreichen Untersuchungen von Steinhaus, 1958, hingewiesen, der beobachten konnte, dass eine Krankheit dann an Bedeutung zunimmt wenn zahlreiche Individuen auf engem Raum zusammenleben müssen. Diese schon lange vorher  $\pm$  vermuteten Zusammenhänge wurden durch Steinhaus im exakten Versuch nachgewiesen. Gewiss geniesst dieser Faktor auch im Falle der überaus starken Bevölkerung von *Cephalia abietis* eine grössere Bedeutung.

#### 4. Das Krankheitsbild der *Beauveria-Bassiana*-Infektion auf der Latenzlarve von *Cephalia abietis* L.:

##### a) Die äusserlich sichtbaren Symptome:

Die gesunde Afterraupen (Erdlarve) besitzt eine frische, satte, grüne — weniger oft gelbe — Farbe. Sie liegt in einer charakteri-

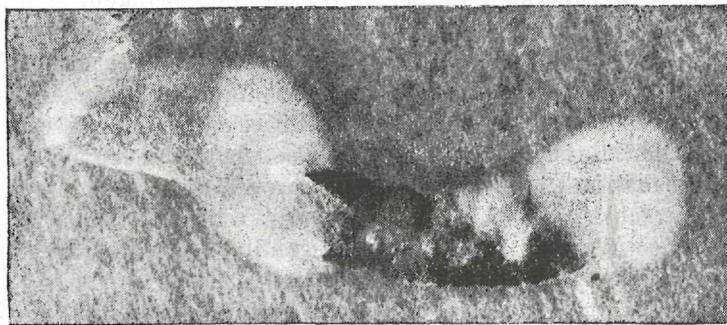


Abb. 1. Der Ausbruch des Pilzmyzels erfolgt vorwiegend zuerst am Abdomen und zwischen den Mundwerkzeugen.



stischen Körperhaltung in der Erdhöhle, und zwar so, dass die Thorakalsegmente ventral stärker gekrümmt sind als die Abdominalsegmente (s. Abb. 12). Berührt man das Tier vorsichtig mit einer Präpariernadel, so reagiert es mit starken Konvulsionen und oft auch mit der bekannten Schreckstellung und versucht bisweilen sogar, die Nadel mit den Mandibeln zu erfassen. Lediglich bei tiefen Temperaturen von wenigen Plusgraden ist diese Reaktion naturgemäß schwach oder überhaupt nicht zu erhalten. — Drückt man die Körperdecke der gesunden Larve etwas ein, so nimmt diese unverzüglich nach dem Nachlassen des Druckes wieder ihre vorherige Stellung ein. Der Zeitpunkt des Todes wurde für die Infektionsversuche annähernd damit ermittelt, ob noch irgendwelche Lebenszeichen gegeben wurden oder nicht.

Bereits ein bis drei Tage nach der Übertragung des pathogenen Agens zeigen sich oft schon Veränderungen in der Farbe (je nach der Impfmethode etwas verschieden). Das frische Grün wird fahl und bekommt ein mattes Aussehen. Betrachtet man eine lebende, infizierte Afterraupen zu dieser Zeit epimikroskopisch bei einer etwa 130-fachen Vergrößerung, so sieht man die Ursache dieser allgemeinen Verfärbung: Die durch die Kutikula durchscheinenden Epidermiszellen weisen eine mehr oder weniger gleichmässige Bräunung auf. Diese Verfärbung kann lokal so verdichtet sein, dass dunkelbraune bis beinahe schwarze Flecken in einer Grösse bis zu 2 mm im Durchmesser sichtbar werden.

Wie jedoch bei meinen Arbeiten beobachtet werden konnte, ist das Auftreten jener missfarbener Flecken kein sicheres Kriterium für das Vorhandensein einer Infektion. Zahlreiche Afterraupen, die mit solchen Flecken behaftet eingesammelt worden waren, konnten monatelang im Laboratorium gehalten werden, ohne dass eine Pilzinfektion nachzuweisen gewesen wäre und auch ohne dass die Tiere an irgendeiner anderen Ursache zugrunde gegangen wären. Wenn man mehrere Latenzlarven zusammen in eine Petrischale bringt, so fügen sie sich beim Aufeinandertreffen nicht selten so kräftige Bisswunden zu, dass manchmal sogar Körperflüssigkeit in kleinen Tröpfchen austritt. Man braucht nur die extrem hohe Belagszahl aus dem Jahre 1956, wo einmal 1360 Erddarven pro m<sup>2</sup> gezählt worden waren, auf den dm<sup>2</sup> berechnen, um sich noch deutlicher vorzustellen, welches Gedränge geherrscht haben muss: 13,6 Individuen pro dm<sup>2</sup>! Die Entstehung solcher Bisswunden wird daher auch in der Natur nicht unwahrscheinlich sein und die beobachteten, braunen Flecken können dann wohl auch von jenen herrühren.

Fast in allen Krankheitsfällen kommt es dann anschliessend zu einer baldigen Verfärbung der Beine. Diese werden ausserdem so spröde, dass sie bei unsanfter Berührung leicht abbrechen.

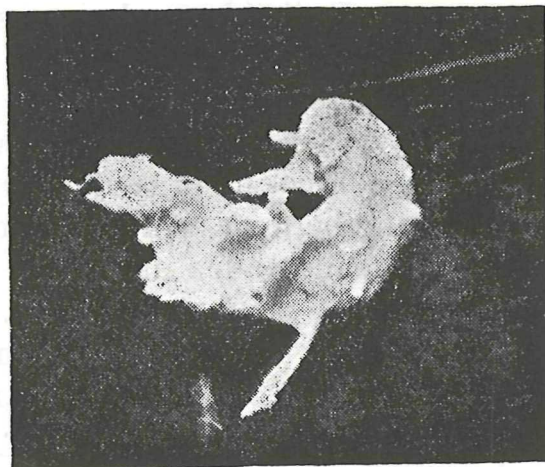


Abb. 2. Zahlreiche reife, echte und unechte Koremien auf dem Kadaver der Latenzlarve.

Zugleich mit den Verfärbungserscheinungen kommt es auch zu einem meist deutlichen Nachlassen der Turgeszenz. Bisweilen wirkt sich dies auch dahingehend aus, dass die infizierte Afterraupe an Länge verliert. Die Schrumpfung ist meist nach dem ersten bis dritten Tag nach der Impfung festzustellen.

Nach diesem Schlaffwerden und nach der Schrumpfung kommt es dann bei der überwiegenden Anzahl epikutikulärer Impfung zu einer vehementen Streckung des Larvenkörpers. Die Streckung erfolgt zugleich mit einem allmählichen — manchmal auch spontanen — Prallwerden der Afterraupen. Bei dieser Impfung konnten nicht selten Streckungen um 50% der ursprünglichen Larvenlänge gemessen werden. Bei subkutikulärer Impfung hielt sich die Streckung durchschnittlich niedriger und zwar etwa zwischen 5 und 27%.

Zugleich mit dem Erschlaffen der Tiere und der darauffolgenden Streckung ändert sich auch die Reaktionsfreudigkeit. Erst nach kräftigeren und oftmaligen Berührungen kommt es zu deutlichen Lebensäusserungen in Form von Konvulsionen oder in Form einer nur mehr angedeuteten Schreckstellung. Letztere ist überhaupt nur mehr selten anzutreffen. — Die Streckungsperiode kann 1—7 Tage andauern.

Bei den meisten künstlich infizierten Versuchstieren trat der Tod während oder noch öfter nach erfolgter Streckung ein.

Bei subkutikulärer Impfung konnte eine Streckung in zwei Raten beobachtet werden. Die erste — meist schwächere — Streckung erfolgte 2—7 Tage nach erfolgter, künstlicher Impfung, dann starb das Versuchstier und nach 4—9 Tagen kam es zu einer neuerlichen und weiteren Streckung.

Nach Lakon, 1914 (vgl. auch Steinhaus, 1949) tritt der Tod des Wirtstieres knapp nach oder während der Zeit der Turgorverminderung ein. Erst nachher trete das Prallwerden der Leiche ein.



Diese Erfahrung konnte — wie oben beschrieben wurde — bei den Infektionsversuchen an der Erdlarve der Fichtengespinstblattwespe nicht bestätigt werden.

In seltenen Einzelfällen brechen bereits vor dem Tode des Tieres schon einzelne Hyphen durch die Leibeswand wieder nach aussen und werden epimikroskopisch sichtbar.

Gewöhnlich ist am frühesten und auch am stärksten der Myzel ausbruch am Abdomen zu bemerken. Auch aus der unmittelbaren Nähe oder direkt aus den oben beschriebenen dunkelbraunen Flecken bricht oft ebenfalls schon vor dem Tode Myzel aus. Mitunter kann sich aus den Keimhyphen sofort in bescheidenem Ausmass Luftmyzel bilden, was dann den Anschein erwecken kann, dass es sich ebenfalls um aus dem Innern hervorbrechendes Myzel handle.

Oft beobachtet man kurz vor oder nach dem Eintritt des Todes zwischen den Mundwerkzeugen eine weisse und schleimig erscheinende Substanz, die sich unter dem Mikroskop als Hyphengeflecht des auswachsenden Pilzes entpuppt. G ö s s w a l d, 1939, beschreibt eine analoge Beobachtung, die er bei Infektionsversuchen mit *Beauveria Bassiana* an Ameisen machte. Auch bei diesen zeigt sich in der Regel zuerst bei den Mandibeln das nach aussen wachsende Myzel.

Nach dem Tode des Wirtstieres beginnt der Pilz überall durch die Körperwand zu stossen und schnell üppiges Luftmyzel zu bilden. Voraussetzung dafür ist eine hohe relative Luftfeuchtigkeit. Der Kadaver wird immer dichter von dem wuchernden Myzel umspinnen und bekommt alsbald das typische Aussehen, das Ursache für die Bezeichnung „Kalksucht“, „Muscardine“, italienisch „Calcino“ und „mal del segno“ gewesen ist.

Nach 2—3 Wochen nimmt das Myzel bei Tageslichteinfluss eine gelb-orange Farbe an, wie sie bereits in etwas schwächerer Intensität in der künstlichen Kultur des Pilzes beobachtet werden konnte. Unter Lichtabschluss bleibt das Myzel — wieder analog der künstlichen Kultur — weiss.

Drei bis 4 Wochen nach der Impfung sind bereits auf den verpilzten Kadavern die ersten Koremien zu finden, die 0,2 bis 3 cm Länge erreichen können. Sind sie kurz, so findet man kaum eine Differenzierung zwischen einem fertilen Teil und einem sterilen Stiel. Bei den längeren ist jedoch eine solche Differenzierung deutlich zu sehen. Die Stiele sind schlank, gegen den fertilen Teil keulig verdickt und laufen wieder in eine stumpfe Spitze zusammen. (Abb. 2). Der fertile Teil besitzt häufig eine Länge von etwa 1—5 mm. Die Anzahl der Koremien pro Individuum schwankt ausserordentlich stark von einigen wenigen bis zu einer einmalig erhaltenen Rekordzahl von 36 Koremien!

Vereinzelt waren auch gabelige Verzweigungen der einen oder anderen, langen Koremie aufgetreten, die als Abnormitäten aufzufassen sind.

Bei den Versuchen im Thermostaten (bei ca. 14° C) verzögerte sich die Koremienbildung gegenüber denen im Laboratorium (bei etwa 20° C) um zwei bis drei Wochen.

Bei subkutikulärer Impfung trat gegenüber der epikutikulären Impfung die Koremienbildung durchschnittlich um zwei Wochen früher ein.

Eineinhalb bis drei Monate nach dem Tode des Versuchstieres hörten Myzel- und Sporenproduktion allmählich auf.

b) Das Pilzwachstum im Inneren der Afterraupe:

Nach der Keimung der aufgeimpften Konidien suchen die Keimschläuche unverzüglich ihren Weg in das Innere des Wirtstieres. Meist dringen sie an Ort und Stelle in die Kutikula ein und durchbohren diese. Nur an der Kopfkapsel konnte dies nie beobachtet werden. Das Eindringen geschieht teils durch mechanischen Druck und teils durch Auflösung der Chitinsubstanz durch Exkretion von chitinlösenden Enzymen. (Zopf, 1890; Gösswald, 1939).

Nicht immer suchen sich jedoch die Keimhyphen den kürzesten Weg durch die Kutikula; sie verlaufen in ihr manchmal auf kurze Strecken auch parallel zur Oberfläche. Dies erfolgt offenbar deshalb, weil infolge des sichtbaren, schichtartigen Aufbaues der Kutikula parallel zur Körperoberfläche ein geringerer Widerstand dem Eindringling entgegengesetzt wird. Innerhalb der Kutikula bildet der

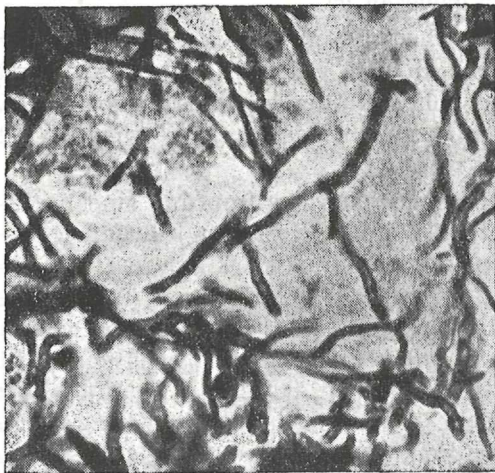


Abb. 3. Pilzwachstum innerhalb der Kutikula. Nach aussen wachsend aus einer toten Erdlarve der Fichtenspinnblattwespe. Vergr. 1050 X.



Pilz meist kurze und gedrungene Hyphenzellen aus, die oft nur wenige Mikron lang sind. (Vgl. auch Abb. 7).

Pathologische Erscheinungen an den Organen des Wirtstieres nach dem Eindringen des Pilzes. Die Epidermis:

Die ersten pathologischen Merkmale lassen sich in der Epidermis feststellen. Die gesunden Epidermiszellen der Latenzlarven liegen ziemlich flachgedrückt der Kutikula an, so dass die Zellen im Quer- oder Längsschnitt durch die Larve annähernd wie ein Rechteck (mit ebensolchem, mit Hämalaun kräftig violett gefärbtem Kern) aussehen. Dringen nun die Hyphen des Pilzes durch die Kutikula ein, so zeigen sich als erstes grosse Vakuolen im Plasma der Epidermiszellen. Hernach vergrössern sich die Zellkerne und erscheinen im Schnittpräparat nunmehr in einer mehr oder weniger kugeligen Gestalt ( $10-17 \mu \phi$ ), wobei ihre Körnung anfangs nur deutlich sichtbar, dann aber immer schütterer wird. Die Kerne nehmen dann oft schon das ganze Zellenlumen ein. (Abb. 4).



Abb. 4. Hyphen unterhalb und in der Epidermis. Pathogen veränderte Kerne der Epidermiszellen (Körnung, Grösse und Form), knapp nach Eintritt des Todes des Wirtstieres. Vergr.  $750 \times$ .

Bisweilen findet man gegenüber von Infektionsportfen auch radial zum Körper stark verlängerte Zellkerne, die sich jedoch im Gegensatz zu den oben beschriebenen durch eine intensive und dichte Kernfärbung auszeichnen. Die vollkommene Zerstörung der Epidermiszellen kann jedoch oft lange dauern. Besonders die Basalmembran und noch mehr die pathogen veränderten Kerne sind noch lange nach dem Tode zu erkennen. (Abb. 5 und 6).

### Die Phagozytose:

In gewissem — von Individuum zu Individuum verschiedenem — Ausmass kommt es beim Eindringen der Keimschläuche in die Leibeshöhle des Wirtstieres, vor allem im „Sporidien- oder Hyphen-

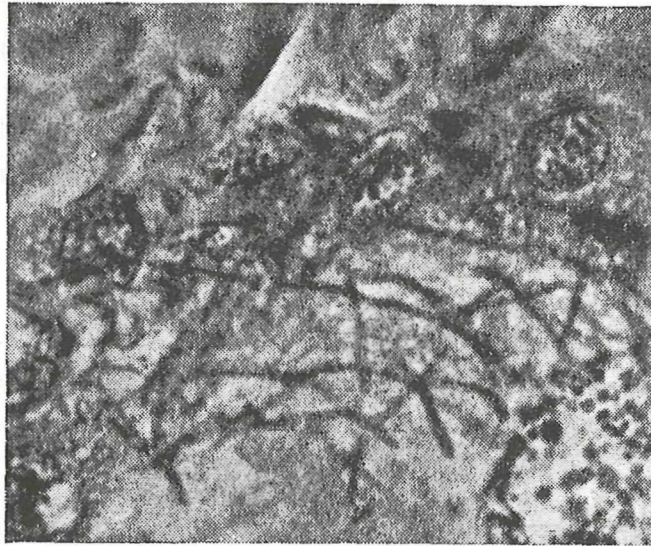


Abb. 5. Hyphen von *Beauveria Bassiana* in und unter der Epidermis: Die Zellkerne sind noch deutlich sichtbar. Vergr. 750 $\times$ .

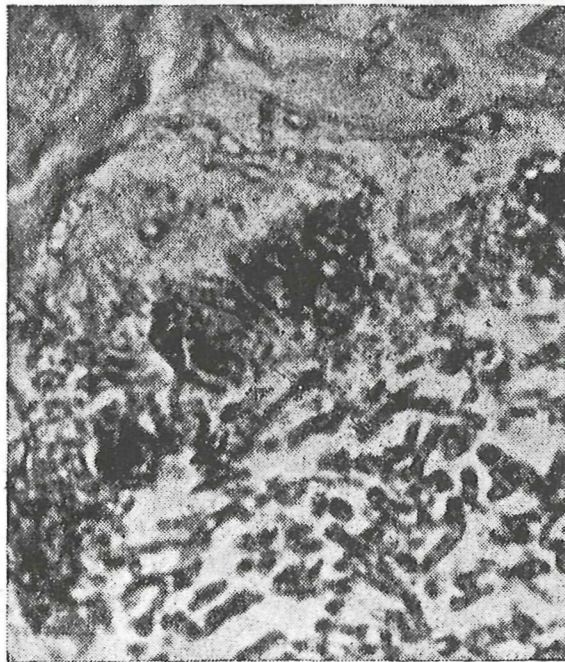


Abb. 6. Hyphen in Kutikula, Epidermis und an der Stelle des ehemaligen Fettgewebes. Kutikula oben links, sich auflösende Epidermiszellkerne ungefähr in der Diagonale links unten — rechts oben. Aufnahme etwa 2 Wochen nach dem Tod des Tieres. Vergr. 750 $\times$ .

körperstadium“ (s. d.) zur Phagozytose. Diese scheint am geringsten bei jenen Latenzlarven aufzuretten, die knapp vor der Verpuppung



stehen. Die Phagozyten unterliegen sehr schnell dem angreifenden Pilz. Das Plasma bekommt grosse Vakuolen, erscheint inhomogen und bald sind nur mehr die deformierten Zellkerne zu sehen, während das Plasma und dann auch die Zellwand aufgelöst erscheinen.

Nach dem Durchstossen der Kutikula und der Epidermis werden sogenannte Hyphenkörper, d. s. kurze Hyphen mit ein bis mehreren Zellen, gebildet. An diesen entstehen dann zahlreiche Sporidien, die eine Grösse von 7—11  $\mu$  Länge und 1,2—2,2  $\mu$  Breite besitzen. Sie sind schon mehrmals beschrieben worden: Hartig, 1869; Lakon, 1914; Steinhaus, 1949; Schaerffenberg, 1957. Schaerffenberg, 1957, konnte beim infizierten Engerling des Maikäfers 8—14  $\mu$  / 2—3  $\mu$  grosse Sporidien finden. (Abb. 7).

Wie auf Grund histologischer Schnitte festgestellt wurde, erfolgt die beschriebene Streckung des Larvenkörpers im Sporidienstadium bzw. im Hyphenkörperstadium des Pilzes. Es fällt aber dabei besonders auf, dass gerade solche in diesem Streckungsstadium geschnit-

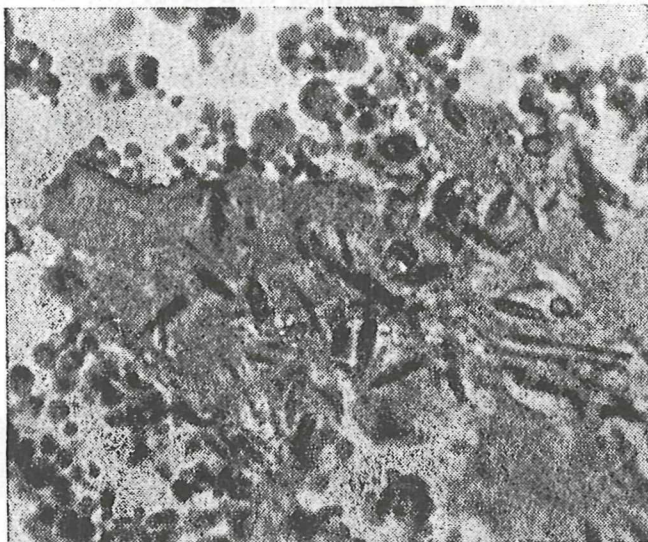


Abb. 7. Sporidienhaufen in der Hämolymphe einer in Streckung befindlichen Afterraupen. Vergr. 750  $\times$ .

tene Afterraupen relativ sehr wenig Hyphenkörper und Sporidien im Schnittpräparat erkennen lassen. Es scheint also, dass die Streckung und die Erhöhung der Turgeszenz nur zum Teil darauf zurückzuführen ist, dass der intern sich entwickelnde Pilz das Wirtstier „ausstopft“ und dass sie zum anderen Teil durch eine pathologische Stauung der Hämolymphe im Rückengefäss verursacht werde. Bei Betrachtung der Längsschnitte von infizierten Latenzlarven, die im Streckungsstadium fixiert worden waren, kann man immer wieder bemerken, dass die sonst im übrigen Körper nur spärlich vorhandenen Sporidien und Hyphenkörper an wenigen Stellen des Rückengefässes gestaut erscheinen. Dies wird daher als Ursache für die



Stauung des Blutkreislaufes und für die damit verbundene Streckung anzusehen sein.

Die Sporidien und Hyphenkörper gelangen durch die Blutzirkulation in alle Teile des Larvenkörpers und sind bald überall zwischen Fett- und Muskelgewebe des Abdomens und Thorax anzutreffen. Aber auch in den Beinen und in den Fühlern sind sie zu finden.

Auffallend stark ist die Anreicherung im Kopf, vor allem in den Mundwerkzeugen zwischen den Muskelsträngen. Da sich naturgemäß das Myzel auch dort am schnellsten und dichtesten entwickelt, wo sich am meisten Hyphenkörper bzw. Sporidien angereichert haben, ist es daher nun auch verständlich, dass das Myzel oft zuerst bei den Mundwerkzeugen nach aussen wächst, da ja die Kutikula der Kopfkapsel weit schwieriger zu durchbohren wäre. — Während die Hyphenkörper eine Dicke von etwa  $2\ \mu$  besitzen, beträgt die Dicke der aus den Sporidien auskeimenden Hyphen um  $1\ \mu$ .

Pailott, 1930 (nach Steinhaus, 1949, S. 374) schreibt, dass bei der Muscardine der Seidenraupe das Fettgewebe sehr spät und erst nach dem Tode des Insektes angegriffen werde. Lefebvre, 1934, (nach Steinhaus, 1949) studierte die pathologischen Veränderungen, die beim Kornbohrer (*Pirausta nubilalis*) durch eine *Beauveria-Bassiana*-Infektion eintreten und fand, dass das Fettgewebe als erstes angegriffen werde. (Vgl. auch Lakon, 1914).

Auch bei den eigenen Untersuchungen wurde festgestellt, dass die erste Entwicklung des Pilzes auf Kosten des Blutes erfolgt und dass dann von den Geweben zuerst das Fettgewebe des Abdomens der Afterraupe vom Pilz zerstört wird.

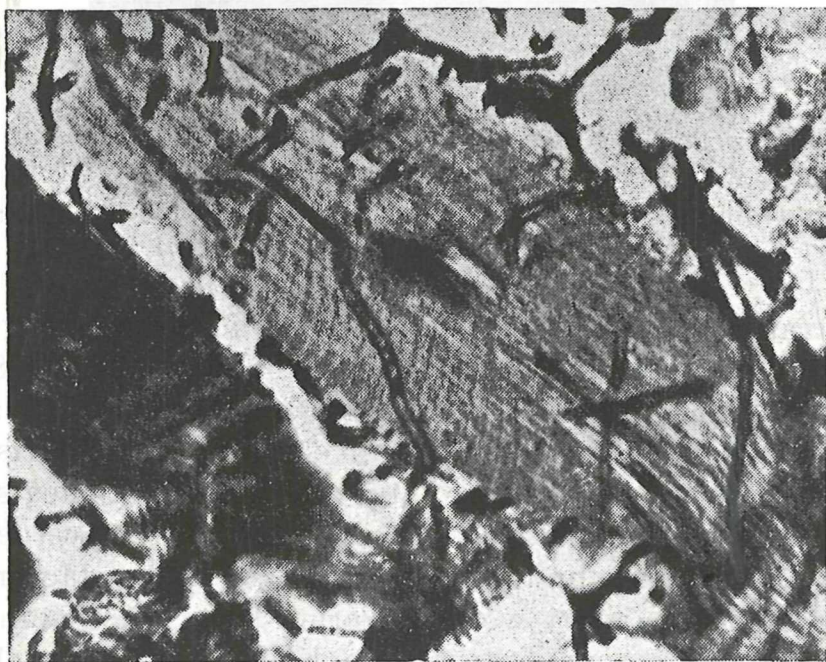


Abb. 8. Schräg geschnittener Muskel in verschiedener Richtung von den Pilzhyphen durchwachsen. Vergr.  $700\times$ .



Wenn auch die ersten pathologischen Merkmale in den Epidermiszellen zu beobachten sind, so werden diese trotzdem meist erst nach dem Fettgewebe vollkommen aufgelöst.

Das Muskelgewebe wird zwar sowohl in der Längs- als auch in der Querrichtung der Stränge durchwachsen (s. Abb. 8), doch ist eine allgemeine Auflösung des Muskelgewebes selbst Wochen nach dem Eintritt des Todes noch nicht festzustellen. Auch die Muskelzellkerne lassen keine sichtbaren Veränderungen oder pathologischen Merkmale erkennen.

Am widerstandsfähigsten haben sich die Darmwand und die Wand der Tracheen erwiesen. Innerhalb des Darmtraktes konnte bei der infizierten Afterraupen von *Cephalcia abietis* L. nie ein Pilzmyzel festgestellt werden. Auch in Bildung begriffene Geschlechtsanlagen bleiben äusserst lange verschont.

Oft wurde schon im Zusammenhang mit *Beauveria*-Infektionen auf anderen Insekten die Frage diskutiert, wann und wodurch schliesslich der Tod des Wirtstieres verursacht wird.

Lakon, 1914, vertritt die Ansicht, dass der Tod durch die vollkommene Auflösung der inneren Organe (mit Ausnahme des Darmtraktes) eintrete. Nach den vorliegenden Untersuchungen der Mykose an der Erdlarve der Fichtengespinntblattwespe tritt der Tod schon im Sporidien- (Hyphenkörper-) stadium des Pilzes ein. Die inneren Organe des Tieres sind also noch von dem Angriff des Pilzes verschont, da sich dieser beim Zeitpunkt des Todes noch auf Kosten der Hämolymphe entwickelt.

Schaefferberg, 1957, sieht die letale Wirkung in der Ausscheidung von Toxinen begründet. Der Autor hat dies durch folgenden Versuch untermauert: Er stellte aus *Beauveria*-kranken Tieren (Maikäferlarven) eine Suspension her, von der ein Azetonextrakt hergestellt wurde. Dieser wurde auf das Futter für gesunde Tiere gebracht. Die damit gefütterten Tiere starben bald. Auch Dresner, 1947, (nach Steinhaus, 1949) hat experimentell nachgewiesen, dass *Beauveria Bassiana* imstande ist, Toxine auszuschcheiden. Ein Dampf-Azeton-Extrakt aus dem Myzel ergab eine Substanz, die noch in starker Verdünnung eine insektizide Wirkung gegen gewisse Mosquitolarven besitzt. Er beobachtet auch, dass der keimende Pilz einen Stoff ausscheidet, der auf Hausfliegen einen sogenannten „knock-down-effect“ erzeugt. (Näheres vgl. Steinhaus, 1949).

Es ist daher erwiesen, dass *Beauveria Bassiana* Toxine ausscheiden kann. Man kann deshalb auch annehmen, dass diese gewiss zur Todesursache beitragen. — Nach den vorliegenden Untersuchungen und Ergebnissen an der Erdlarve von *Cephalcia abietis* muss man aber auch annehmen, dass die durch den Pilz verursachte Verlangsamung und Stauung der Blutzirkulation als letzte Todesursache mit-



bestimmend ist. Besonders die dadurch eintretende Blutleere des Kopfes wird dabei eine Rolle spielen.

Steinhaus, 1949, (S. 373) schreibt unter anderem über *Beauveria Bassiana*: „Gewisse Forscher glauben, dass das Insekt auch durch die Tracheenöffnungen oder durch den Darmtrakt infiziert werden kann ...“.

Im vorliegenden, untersuchten Fall konnte der Nachweis erbracht werden, dass es bei der Latenzlarve von *Cephalcia abietis* L. wohl möglich ist, dass ein Tier auf dem Weg Stigma—Stigmenreuse—Trachee durch *Beauveria Bassiana* angegriffen wird. Der Weg durch das Stigma ist zwar weit weniger häufig anzutreffen, doch dürfte

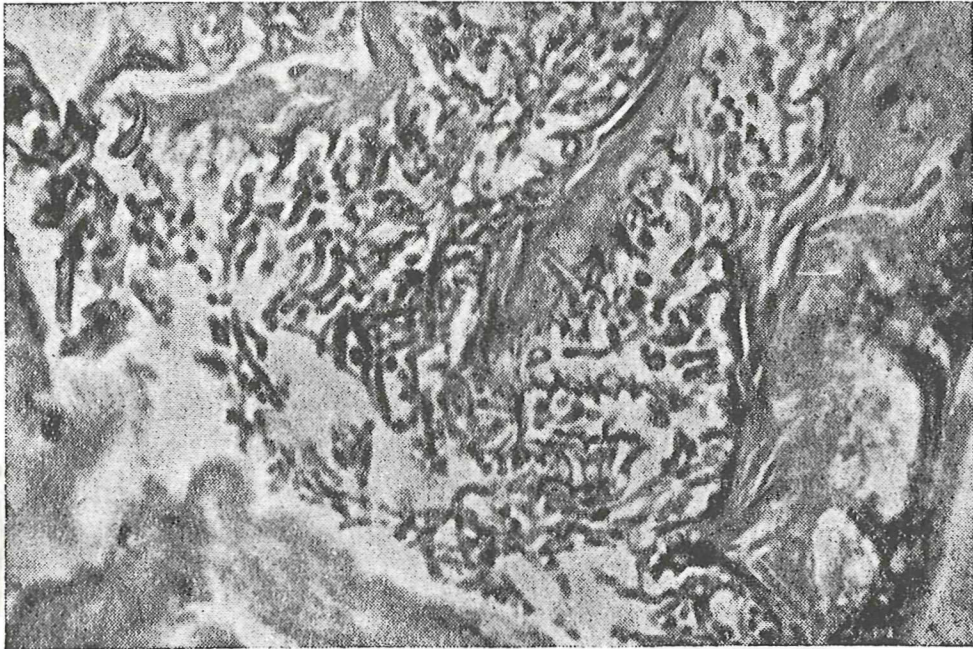


Abb. 9. Myzel von *Beauveria Bassiana* durchwuchert das Atrium und die Stigmenreuse. Vergr. 750  $\times$ .

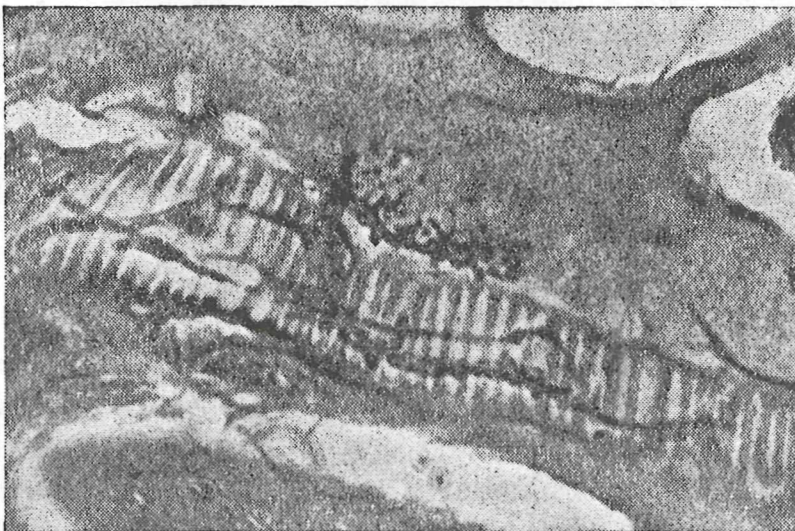


Abb. 10. Die Hyphen wachsen innerhalb der Trachee weiter. Vergr. 750  $\times$ .



er besonders dann vorgezogen werden, wenn das infektiöse Agens genügend nahe vom Stigma auf das Wirtstier trifft.

Auf den Abbildungen 9, 10 und 11 ist ein Schnitt durch ein Stigma und die anschliessenden Tracheen dargestellt, in welche ein dichter Strang kräftiger Hyphen schon weit vorgedrungen ist. Die geschnittene Afterraupen war am 17. 12. 1957 geimpft worden. Am 30. 12. 1957 wurde sie getötet und fixiert. Sie zeigte zu diesem Zeitpunkt bereits ein pralles Aussehen und war beträchtlich gestreckt. Man konnte nun im mikroskopischen Präparat sehen, dass die (2—3  $\mu$  starken) Hyphen bereits weit in die Tracheen hineingewachsen und von dort in die benachbarten Gewebe eingedrungen waren. An anderen Körperstellen derselben Afterraupen waren Hyphen durch die Kutikula eingetreten. Die daraus entstandenen Hyphenkörper befanden sich gerade in der Hämolymphe und waren mit 0,8 bis 1,2  $\mu$  Breite und ungefähr 15  $\mu$  Länge nicht nur weitaus schwächer, sondern auch ziemlich spärlich anzutreffen. Auch Sporidien waren in der Hämolymphe in der Nähe der Infektionsstellen zu finden. Sie waren zum Teil gerade im Begriffe, zu keimen. Es zeigt sich also deutlich, dass die durch das Stigma eingedrungenen Hyphen einen gewissen Vorsprung gegenüber jenen besitzen, die sich erst mühsam durch das Integument der Afterraupen hindurcharbeiten mussten.

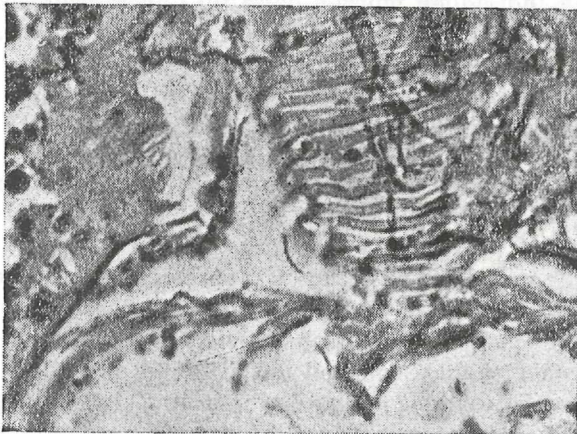


Abb. 11. Hyphen innerhalb der Trachee, zum Teil in das benachbarte Gewebe einwachsend. Vergr. 750  $\times$ .

##### 5. Zur Bedeutung des Pilzes im Freiland:

###### a) Der Anteil des Pilzes an der Reduktion der Bevölkerung.

Es bleibt jetzt noch die Frage zu erörtern, welche Bedeutung *Beauveria Bassiana* innerhalb der Population von *Cephaleia abietis* im Bereich der gegenwärtigen Gradation in Karlsbach — Niederösterreich — geniessst.

Kudela, 1955, weist in seiner Abhandlung darauf hin, dass in den Sommermonaten 1954 (Juli/August) nach ausgiebigen Dauerregen herdweise 7—24% der überliegenden Afterraupen einer Population der Fichtenspinnblattwespe von einer nicht näher bestimmten und untersuchten Mykose befallen und vernichtet wurden. Ob die Mykose immer von demselben Erreger verursacht worden ist, wurde nicht näher untersucht. Da aber bisher noch keine andere Mykose beschrieben wurde, kann man wohl mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass zumindest der überwiegende Teil der Fälle von demselben Erreger befallen war wie bei meinen eigenen Untersuchungen, nämlich von *Beauveria Bassiana*.

Am 5. November 1957 wurden im Herdgebiet der Kalamität drei Probegrabungen vorgenommen und sowohl die lebenden als auch die toten Erdlarven aufgelesen und isoliert aufbewahrt. Jede Probefläche hatte eine Ausdehnung von einem Quadratmeter. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Fläche 1: Lebende Afterraupen	463 Stück
Tote Afterraupen	78 Stück
Fläche 2: Lebende Afterraupen	470 Stück
Tote Afterraupen	94 Stück
Fläche 3: Lebende Afterraupen	486 Stück
Tote Afterraupen	88 Stück

Die toten Individuen wurden dann im Laboratorium einzeln isoliert in je eine ‚Feuchte Kammer‘ gegeben. *Beauveria Bassiana* wurden in folgenden Mengen nachgewiesen:

Fläche 1: 9 Stück = 1,94%	von den gesunden AR.
Fläche 2: 34 Stück = 7,21%	von den gesunden AR.
Fläche 3: 34 Stück = 7,0%	von den gesunden AR.

Auch die lebenden Afterraupen wurden ebenso behandelt. Da aber die zur Verfügung stehende Zahl von Gefässen beschränkt war, konnten nur 941 in Feuchten Kammern isoliert werden.

Am 15. Jänner 1958, das sind 71 Tage nach dem Sammeln, wurden 98 Individuen gezählt, die durch *Beauveria Bassiana* eingegangen waren, ohne dass sie künstlich infiziert worden waren. Es sind somit noch nachträglich von den anscheinend gesunden Individuen 10,5% an der Mykose gestorben. Ob diese im Zeitpunkt des Einsammelns bereits infiziert waren, d. h. ob eine Infektion schon zum Haften gekommen war, lässt sich nicht mit Bestimmtheit behaupten. Es könnte auch sein, dass die Tiere nur oberflächlich mit den Krankheitskeimen behaftet waren und dass die Infektion und deren Haften nur dadurch zustande gekommen war, weil die Wirtstiere nun durch die Manipulation in die entsprechende Anfälligkeit versetzt worden waren.

Trotzdem hat dieses Ergebnis eine interessante Tatsache ergeben: Der Erreger *Beauveria Bassiana* ist in einer relativ hohen Häufigkeit im Boden nachzuweisen und kann unter entsprechend günstigen Be-



dingungen (Umwelt und Disposition des Wirtstieres) als empfindlicher Reduktionsfaktor in der Population auftreten. Die Wirkung des Pilzes wird besonders durch das lange, oft zwei bis drei Jahre dauernde, Überliegen der Afterraupen sehr gesteigert.

#### b) Über die Beziehung von *Beauveria Bassiana* zum Medium Boden.

Um einiges über die Beziehungen zwischen *Beauveria Bassiana* und dem Milieufaktor Boden in Erfahrung zu bringen, wurden folgende Versuche angestellt:

Es wurde Erde aus dem Massenvermehrungsgebiet jener Bodenschichte entnommen, die von den überliegenden Afterraupen bewohnt wird. Die Erde besitzt einen starken Tonanteil, ist nur in den oberen Zentimetern stärker humos und besitzt einen pH-Wert von durchschnittlich 4,2. Die Erde wurde in Petrischalen gegeben (15 cm Durchmesser, 3 cm hoch). Zehn Petrischalen wurden mitsamt der darin befindlichen Erde im Autoklaven sterilisiert. Zehn weitere Schalen blieben unsterilisiert. Darauf wurden alle Schalen in der Mitte unter Beachtung steriler Bedingungen mit einem Myzelflöckchen von *Beauveria Bassiana* beimpft.

Auf den sterilisierten Schalen zeigte sich schon nach wenigen Wochen (2—4) makroskopisch das radial wachsende Myzel, das sich nach Rückimpfung auf Nährböden wieder als *Beauveria Bassiana* bestätigen liess.

Auf den nicht sterilisierten Böden war keinerlei Ausbreitung des Myzels von der Impfstelle aus zu beobachten.

Ettig, 1958, berichtete auf dem II. Internationalen Schädlingsbekämpfer-Kongress in Wien in seinem Vortrag „Untersuchungen zur Frage des Saprophytismus der parasitischen Hautpilze im Erdboden“ über ähnliche Erfahrungen mit dermatophytischen Pilzen. Er impfte auch natürlich belebte Böden mit Dermatophyten (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporon gypseum* usw.) und konnte makroskopisch ebenfalls kein Pilzwachstum feststellen. Dagegen konnte auf sterilen Erden deutlich das Myzelwachstum verfolgt werden und Rückimpfungen vorgenommen werden. — Durch die Ausscheidungen der anderen bodenbewohnenden Lebewesen ist demnach der Ausbreitung der parasitischen Pilze eine natürliche Grenze gesetzt.

Bei einem anderen Versuch wurde die Erde wieder wie oben in 24 Petrischalen angeordnet. Zwölf Schalen wurden autoklaviert und zwölf nicht sterilisiert. 12 Schalen — je 6 sterile und 6 nicht sterile — wurden bei einer Temperatur um ca. +20° C, die restlichen 12 Schalen — wieder die Hälfte steril und die andere nicht steril — wurden bei einer Temperatur von etwa +14° C gehalten. Der Versuch lief vom 22. 8. 1957 bis zum 3. 2. 1958. Die Petrischalen wurden wie oben mit einem Myzelflocken im Zentrum beimpft. In jede Schale

wurden drei Erdlarven übertragen, die wie bei den übrigen Impfversuchen vorbehandelt worden waren (Karenzzeit, Isolation usw.).

Ein Absterben infolge einer *Beauveria*-Infektion wurde zwischen dem dreizehnten und hundertsiebenundzwanzigsten Tag nach Versuchsbeginn beobachtet. Der Grossteil starb zwischen dem vierundfünfzigsten und hundertsiebten Tag ab. Nach dem hundertsiebenundzwanzigsten Tag war kein Absterben mehr zu beobachten, obwohl der Versuch insgesamt 165 Tage lief.

Bei 20° C starben insgesamt 88,8% der Afterraupen in den Schalen mit sterilisierter Erde und 64,7% in den Schalen mit nicht steriler Erde.

Bei 14° C war der Unterschied nicht mehr so gross. Es starben in den Schalen mit steriler Erde 56,1% und in jenen mit nicht steriler Erde 50,0% der eingelegten Afterraupen.

Der Einfluss der Temperatur ist auch bei diesen zwei Versuchen unverkennbar. Bei der höheren Temperatur waren die Afterraupen weiter von ihrem Temperaturoptimum entfernt und der Pilz war seinem Temperaturoptimum näher, so dass der Abtötungserfolg sowohl im sterilen, als auch im nicht sterilen Boden höher war als bei der niedrigeren Temperatur.

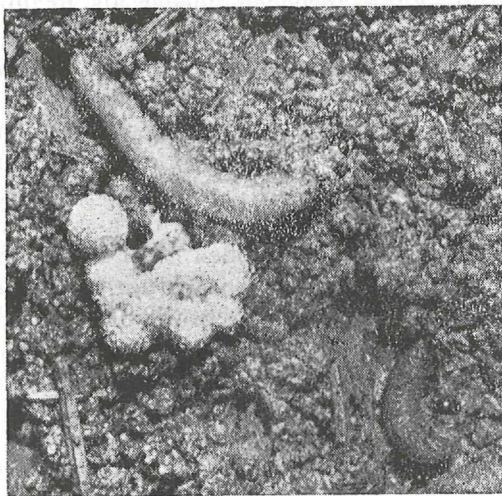


Abb. 12. Erdschalenversuch; Aufnahme aus einer nicht sterilen Schale: Auf engem Raum liegen eine gesunde (rechts unten) Afterraupe in der typischen Ruhestellung, eine soeben gestorbene und gestreckte (oben) und eine bereits total verpilzte Afterraupe (links unten). Etwa nat. Gr.

Übertragen auf die natürlichen Verhältnisse im Freiland heisst dies, dass also der grösste natürliche Abtötungserfolg durch *Beauveria Bassiana* dann zu erwarten ist, wenn der Boden infolge gün-



stiger, allgemeiner Klimalage längere Zeit sehr feucht und warm (um + 20° C!) ist. — Mit diesen Versuchsergebnissen sind auch die Freilandbeobachtungen K u d e l a's, 1955, im Laboratoriumsversuch bestätigt worden.

Ein dritter, kleiner Versuch, der sich mit der Beziehung *Beauveria Bassiana*-Boden befasste, wurde am 5. November 1957 in der Abtlg. 24 c, Revier Obernberg, gemacht.

Es wurden zehn kreisförmige, einen Quadratmeter grosse Flächen auf möglichst engem Raum abgesteckt. Die Flächen 1—6 wurden mit je vier Liter Sporensuspension begossen, in die Flächen 7—10 wurden pro Fläche 70—80 Stück etwa 2—3 cm<sup>2</sup> grosse, mit *Beauveria Bassiana* bewachsene, Agar-Agar-Stücke in 5—10 cm Tiefe eingebracht. Die Flächen wurden im Zentrum mit einem Pflock gekennzeichnet und überdies vermessen. Zwischen diese zehn Flächen wurden die oben beschriebenen, ausgezählten Flächen zugleich als Vergleich herangezogen.

Zwischen dem 22. und 24. April 1958 wurden dann die beimpften Flächen und zum Vergleich auch fünf unbehandelte Flächen nach Afterraupen abgesucht. Folgende Zahlen waren dabei ermittelt worden:

Fläche 1	Afterraupen	476	501 Individuen
	Puppen	25	
Fläche 2	Afterraupen	453	471 Individuen
	Puppen	18	
Fläche 3	Afterraupen	353	376 Individuen
	Puppen	23	
Fläche 4	Afterraupen	360	378 Individuen
	Puppen	18	
Fläche 5	Afterraupen	384	393 Individuen
	Puppen	9	
Fläche 6	Afterraupen	371	388 Individuen
	Puppen	17	

Durchschnitt der Flächen 1—6: 417,8 Individuen/m<sup>2</sup>.

Fläche 7	Afterraupen	301	323 Individuen
	Puppen	22	
Fläche 8	Afterraupen	374	380 Individuen
	Puppen	6	
Fläche 9	Afterraupen	514	528 Individuen
	Puppen	14	
Fläche 10	Afterraupen	461	482 Individuen
	Puppen	21	

Durchschnitt der Flächen 7—10: 428,2 Individuen/m<sup>2</sup>.  
Unbehandelte Vergleichsflächen:

Fläche 11	Aferraupen	246	
	Puppen	38	284 Individuen
Fläche 12	Aferraupen	458	
	Puppen	46	504 Individuen
Fläche 13	Aferraupen	172	
	Puppen	26	198 Individuen
Fläche 14	Aferraupen	480	
	Puppen	12	492 Individuen
Fläche 15	Aferraupen	484	
	Puppen	36	520 Individuen

Durchschnitt der Vergleichsflächen: 399,6 Stück/m<sup>2</sup>.

Verglichen mit den Auszählergebnissen, die bei Beginn des Versuches am 5. November 1957 ermittelt wurden, ergibt sich zwar im allgemeinen ein deutlicher Rückgang der Bevölkerungsdichte. Doch konnte eine Erhöhung der Sterbequote durch die Einbringung der Krankheitskeime nicht erreicht werden. Die durchschnittliche Anzahl von Individuen pro m<sup>2</sup> lag damals in diesem Revierteil bei 473 Stück. Über den Winter sind also rund 12,7% der Aferraupen (Durchschnitt aus allen 15 Flächen) zugrundegegangen.

c) *Beauveria Bassiana* und die Insektenparasiten von *Cephalcia abietis*.

Um das Bild über die Bedeutung von *Beauveria Bassiana* zu vervollständigen, muss noch besonders darauf hingewiesen werden, dass dieser Pilz wohl die Bevölkerung von Erdlarven empfindlich zu reduzieren hilft, dass aber auch die in der Erde befindlichen Parasiten von ihm befallen werden und an der Mykose sterben. Gar nicht selten findet man nämlich von Ichneumoniden und Tachinen befallene Aferraupen, die von *Beauveria Bassiana* infiziert worden sind. Desgleichen findet man auch oft die ebenfalls durch denselben Pilz getöteten Ichneumonidenkokons mit den typischen Merkmalen der Kalksucht im Boden. Die Fruktifikation lässt sich leicht in der ‚Feuchten Kammer‘ erreichen und durch die mikroskopische Untersuchung konnte immer wieder *Beauveria Bassiana* festgestellt werden.

d) *Beauveria Bassiana* und ihre Eignung für eine biologische Bekämpfung der Fichtengespinstblattwespe:

Wollte man theoretische Überlegungen anstellen, ob diesem Pilz eine Bedeutung für eine etwaige biologische Bekämpfung zukommt, so ergeben sich folgende Fragen:

Kann das pathogene Agens in Massen erzeugt werden?



Diese Frage ist nach den Versuchen von Müller-Kögler, 1956, positiv zu beantworten. Der Pilz *Beauveria Bassiana* kann billig und technisch einfach in Massenkulturen gezüchtet werden.

Wie wäre der Erreger zu applizieren?

Die Einbringung des Erregers in den Boden ist technisch schwierig und in der Wirkung insofern unzuverlässig, weil das pathogene Agens erst über das Medium Erde zum Wirt gelangt. Es bleibt daher nur die Ausbringung der Krankheitskeime vor dem Abbaumen der Afterraupen, also eine Bestäubung mit den Sporen von der Luft aus (durch Hubschrauber), wodurch die Krankheitskeime direkt mit dem Wirtstier in Berührung kämen und später in der feuchten Umgebung der Erde keimen könnten.

Selbst wenn sich in beiden Fällen keine grossen Schwierigkeiten ergeben würden, ist von einer biologischen Bekämpfung unter Heranziehung von *Beauveria Bassiana* nach meinen Erfahrungen aus folgenden Gründen abzuraten:

Die Mykose ist weitgehend als Dispositionskrankheit aufzufassen, die nur bei bestimmten Umweltsverhältnissen einen hohen Abtötungserfolg sicherstellt. Es ist daher vollkommen unwahrscheinlich, dass eine Massenvermehrung — besonders eine solche, wie sie in Karlsbach im Gange ist — allein durch eine Mykose der Erdlarven beendet werden kann.

Ausserdem werden durch den Pilz auch andere Insekten, vor allem Nützlinge, angegriffen. Dadurch wird keine selektive Wirkung, sondern wieder eine Breitenwirkung, ähnlich wie bei Anwendung von Insektiziden, erreicht, was ebenso eine Störung der Biozönose bedeutet.

### Zusammenfassung:

In Karlsbach (Niederösterreich) ist eine Massenvermehrung von *Cephaleia abietis*, der Fichtengespinstblattwespe, im Gange. Im Laufe der Probegrabungen und Zählungen der seit 1956 überliegenden Afterraupen wurde häufig eine Mykose beobachtet.

Der Erreger der Mykose konnte als *Beauveria Bassiana* bestimmt werden. Der Pilz wurde auf verschiedenen Nährböden kultiviert. Die Koremienbildung und die Farbveränderungen werden beschrieben.

Die Pathogenität von *Beauveria Bassiana* für die Erdlarve der Fichtengespinstblattwespe wird durch eine Reihe von Versuchen mit variierenden Versuchsanordnungen nachgewiesen.

Während dem Umweltsfaktor Temperatur lediglich verzögernde Wirkung (bei niederen Temperaturgraden) oder fördernde Wirkung (bei Temperaturen in der Nähe des Temperaturoptimum des Pilzes) zukommt, besitzt der Faktor relative Luftfeuchtigkeit entscheidende Bedeutung. Ein hundertprozentiger Abtötungserfolg durch künstliche, direkte Infektion (bei epikutikulärer Impfung) konnte nur bei Werten nahe der Wasserdampfsättigung erzielt werden.

Das Krankheitsbild weicht in mehreren Einzelheiten von jenen in der Literatur angeführten ab. Farbveränderungen und Flecken sind nicht

als sicheres Kriterium für eine Infektion anzusehen. Das infizierte Tier verliert in der ersten Zeit beträchtlich an Turgeszenz. Es folgt dann ein Streckungsstadium, in dem Streckungen bis zu 50% der ursprünglichen Körperlänge vorkommen können. Der Tod tritt während oder nach der Streckungsperiode, nicht aber vor dieser ein.

Es wird nachgewiesen, dass der Pilz zwar im allgemeinen direkt durch die Kutikula eindringt, dass er aber auch durch die Stigmen in den Wirt zu gelangen vermag. Die ersten pathologischen Veränderungen lassen sich in der Epidermis feststellen. Es kommt zu einer schwachen Phagozytose, die am geringsten bei jenen Larven zu sein scheint, die knapp vor ihrer Verpuppung stehen.

Es folgt das Hyphenkörper- und Sporidienstadium. Die Ursachen der Turgorverminderung, der Streckung und des Todes werden an Hand der Erfahrungen bei *Cephalcia abietis* diskutiert. Von den Geweben wird zuerst das Fettgewebe zerstört. Es folgen nach längerer Zeit die Muskeln. Tracheen- und Darmwände, sowie in Bildung begriffene Geschlechtsanlagen sind äusserst widerstandsfähig.

In einigen Versuchen wird die Beziehung des Pilzes zum Medium Erde zu erhellen versucht. Auf steriler Erde als Substrat gedeiht er gut, auf Erde mit natürlichem Bodenleben ist ein Wachstum makroskopisch nicht feststellbar.

Afterraupen in steriler Erde, die mit *Beauveria Bassiana* beimpft worden waren, gehen in einem höheren Prozentsatz zugrunde als im unsterilen Medium. Der Einfluss der Temperatur macht sich dabei analog den übrigen Infektionsversuchen dahingehend bemerkbar, dass bei höherer Temperatur (um 20° C) ein grösserer Abtötungserfolg eintrat als bei einer Temperatur um 14° C.

Durch Impfung des Bodens im Freiland konnte keine höhere und merkbare Reduktion der Bevölkerung erzielt werden.

Auch die tierischen Parasiten der Erdlarve (Icheumoniden und Tachinen) werden von *Beauveria Bassiana* im Boden angegriffen und getötet.

#### Literatur.

- Altum, B., 1882: Das Auftreten von Gespinstblattwespen *Lyda pratensis* F. und *hypotrophica* in den letzten Jahren. Z. f. Forst- u. Jagdw., 14., S. 281—291.
- Baer, W., 1903: Beobachtungen über *Lyda hypotrophica* Htg., *Nematus abietinus* Chr. und *Grapholitha tedella* Cl., Thar. forstl. Jb. LIII., S. 171—208.
- 1916: Über Nadelholzblattwespen. Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw., 14., 7/8, S. 307—325.
- Boas, J. E. V., 1934: Ein ernster Angriff von *Lyda arvensis*. Pz. Ztschr. f. angew. Ent., 20., S. 280.
- Eckstein, K., 1889: Beiträge zur Kenntnis der Gespinstblattwespen. Ztschr. f. Forst- u. Jagdw., 21., S. 210—218.
- 1890: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Gespinstblattwespen. Ztschr. f. Forst- u. Jagdw., 22., S. 703—714.
- 1897: Der Kampf gegen die schädlichen Insekten mit Hilfe ihrer Parasiten. Ztschr. f. Pflanzenkr., 7., S. 111—116.
- Escherich, K., 1914: Die Forstinsekten Mitteleuropas, Bd. 1, S. 277 ff., Verl. P. Parey/Berlin.
- 1942: Die Forstinsekten Mitteleuropas, Bd. 5, S. 19, Verl. P. Parey/Berlin.



- Ettig, B., 1958: Untersuchungen zur Frage des Saprophytismus der parasitischen Hauptpilze im Erdboden. Vortrag auf dem II. Intern. Schädlingsbekämpfer-Kongress in Wien.
- Friedrichs, 1927: Die Bedeutung der Biozöosen für den Pflanzenschutz gegen Tiere. Ztschr. f. angew. Ent., 12., S. 385.
- Gösswald, K., 1939: Über den insekientötenden Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Bisher Bekanntes und eigene Versuche. Arb. Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstw., 22., S. 399—452.
- Hartig, R., 1869: Mitteilungen über Pilzkrankheiten der Insekten im Jahre 1868. Ztschr. f. Forst- u. Jagdw., 1., S. 476—500.
- Hequist, K. J., 1956: Studier över större granspinnarstekelen (*Cephalcia abietis* L.) och dess uppträdande i Skåne. (Studien über die grössere Fichtengespinntblattwespe und deren Auftreten in Skåne.). Meddel. fr. Statens Skogsforskningsinst., 46: 5., S. 1—54.
- Kudela, M., 1957: Hubeníplošokohrbetky smrkové (*Cephalcia abietis* L.) insekticidy ve vztahu k jejím přirozeným nepřátelům. (Die chemische Bekämpfung der Fichtengespinntblattwespe (*Cephalcia abietis* L.) und ihre natürlichen Feinde. Práce výzkumných ústavu lesnických CSR. 12., S. 191—248.
- Lakon, G., 1914: Die insekientötenden Pilze (Mykosen). In: Escherich, K., 1914. (s. d.) S. 277.
- Lang, G., 1893: Das Auftreten der Fichtengespinntblattwespe *Lyda hypotrophica* in den bayrischen Staatswäldungen des Fichtelgebirges während der Jahre 1890—1892. Forstl. naturw. Ztschr. 2., S. 9—16.
- 1894: Das Auftreten der Fichtengespinntblattwespe *Lyda hypotrophica* in den bayrischen Staatswäldungen des Fichtelgebirges im Jahre 1893. Forstl. naturw. Ztschr. 3., S. 18—27.
- 1895: Das Auftreten der Fichtengespinntblattwespe in den bayrischen Staatswäldungen des Regierungsbezirkes Oberfranken im Jahre 1894. Forstl. naturw. Ztschr., 4., S. 24—30.
- 1897: Das Auftreten der Fichtengespinntblattwespe *Lyda hypotrophica* in den bayrischen Staatswäldungen des Fichtelgebirges während der Jahre 1895—96. Forstl. naturw. Ztschr., 6., S. 233—240.
- Langenbuch, R., 1957: Beitrag zur Differenzialdiagnose von Viruseinschlusskörpern (Polyedern) in Schnittpräparaten. Ztschr. f. Pflanzenkr., 64., 7/10, S. 443.
- Lembke, A., 1943: Ergebnisse der theoretischen und angewandten Mikrobiologie. Bd. I.: Systematik der Schimmelpilze. Verl. Neudamm., S. 109/110.
- Lorenz, H. u. Kraus, M., 1957: Die Larvalsystematik der Blattwespen. Akademie-Verlag Berlin. S. 286.
- Müller-Kögler, E., 1956: Vorversuche zur Massenkultur von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. und *Spicaria farinosa* (Fr.) Vuill. In: Entomophaga, Tome I., Publication de la Commission internationale des luttes biologiques contre les ennemis des cultures. Paris.
- Rabenhorst, L., 1910: Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. 1. Bd., Pilze, VIII. Abtlg., S. 275 u. 276. Leipzig, 2. Aufl.
- Ratzeburg, J. T. C., 1844: Die Forstinsekten. Bd. 3, S. 81 u. 82. Berlin.
- Ratzeburg, J. T. C., Judeich, J. F. u. Nitsche, H., 1895: Forstinsektenkunde. Bd. 1, S. 656. Hölzel, Wien.
- Romeis, B., 1948: Mikroskopische Technik. 15. Aufl., Leibniz, München.
- Schaerffenberg, B., 1955: Die Hauptfruchtform (Ascusform) von

- Beauveria bassiana* (Vuill.) Lk. und *B. densa* (Vuill.) Link. Ztschr. f. Pflanzenkrh., **62**, S. 544—549.
- 1957: Infektions- und Entwicklungsverlauf des insekzentötenden Pilzes *Beauveria bassiana* (Vuill.) Link. Ztschr. f. angew. Ent., **41**, 2/3, S. 395—402.
- Schimitschek, E., 1950: Bericht über aufgetretene Forstschäden und deren Bekämpfung in Niederösterreich in den Jahren 1946 bis 1949. Herausgeg. v. Landesforstinspektion f. N.Ö., Verl. Kodek, Wien, S. 125—127.
- 1951: Über die Polyederkrankheit der Fichtengespinstblattwespe *Lyda hypotrophica* Htg. (*Cephaleia abietis* L.). Mitt. d. Forstl. Bundesvers. Mariabrunn, **47**, S. 70—73.
- Schneider, R., 1953: Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze. Phytopath. Ztschr. **21**, S. 63—78.
- Sihler, 1913: Über das Auftreten der Fichtengespinstblattwespe in den Fichtenwäldungen Oberschwabens. Silva, **31**, S. 356—358.
- Steinhaus, E. A., 1949: Principles of Insect Pathology. S. 370 ff. New York, McGraw-Hill.
- 1958: Crowding as a possible Stress Factor in Insect Disease. Ecology, **39**, S. 503—514.
- Wachtl, F.: Die gesellige Fichtengespinstblattwespe (*Lyda hypotrophica* Htg.) und ihr Auftreten in den Forsten des Böhmerwaldes.
- Wigglesworth, V. B., 1953: The principles of Insect Physiology. 5. Aufl., London. S. 291.
- Zopf, W., 1890: Die Pilze. In: Handbuch der Botanik von A. Schenk. Bd. 4., S. 497—534.
- Zwölfer, W., 1932: Methoden zur Regulierung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Ztschr. f. angew. Ent., **19**, S. 497—513.



# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1959

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Donaubauer Edwin

Artikel/Article: [Über eine Mykose der Latenzlarve von \*Cephaleia abietis\* L.  
183-222](#)