

Virologische Untersuchungen an erkrankten Birken im Raum Berlin

Investigation of viral diseases in declining birch trees in Berlin

Elisha Bright Opoku¹, Maria Landgraf¹, Martina Bandte¹, Susanne von Bargaen¹, Martin Schreiner², Barbara Jäckel² und Carmen Büttner¹

Einleitung

In Zusammenarbeit mit den Grünflächenämtern wurden Birken mit Auffälligkeiten im Wuchs, virusverdächtigen Blattsymptomen, Ast- und Kronenverkahlungen für die Untersuchung an Viren aus dem Komplex der Birke (Bandte et al. 2009, Cooper et al. 1984) ausgewählt. Der Erstdnachweis eines Badnavirus in Birke (*Birch leaf roll-associated virus* (BLRaV)) erfolgte 2015 (Rumbou et al. 2018). Im Jahr 2017 wurden die Studien zur Virusinfektion in Birken im Stadtgrün Berlins aus den Jahre 2015 und 2016 auf 12 weitere Standorte aus 9 Berliner Stadtbezirken ausgedehnt. Erneut wurde eine große Vielfalt an beobachteten Symptomen entdeckt, zu denen auch bisher unbekannte Blattsymptome wie zum Beispiel Doppelringflecken und besonders ausgeprägte Blattspitzen und Blattrand-Chlorosen zählen. Diese wurden in die Untersuchung einbezogen. Molekularbiologische Nachweisverfahren wurden eingesetzt, um die an Laubgehölzen verbreiteten Viren *Cherry leaf roll virus* (CLRv), *Apple mosaic virus* (ApMV) und Viren der Gattungen *Badna-* bzw. *Carlavirus* der Birke in den untersuchten Blattproben zu erfassen. Insbesondere die Symptomatologie der untersuchten Viren ist aufzuklären. Dazu wurden erste Versuche unternommen, die nachgewiesenen Viren von den symptomtragenden Blättern auf Biotestpflanzen zu übertragen. Die Klärung der Art und Weise der Übertragbarkeit ist insbesondere von Bedeutung bei der Empfehlung von Hygiene- und Desinfektionsmaßnahmen im Zusammenhang mit Pflegemaßnahmen an den Bäumen im Stadtgrün. Die Symptome sollen im Verlauf der Arbeiten näher untersucht werden. Eine Lokalisation der im Symptommuster enthaltenen Viren soll durchgeführt werden, um zu prüfen, ob diese in ähnlicher Weise verteilt sind, wie die im Blatt auftretenden chlorotischen Muster. Dies soll Hinweise auf die Verursacher der Blattsymptome geben und einen Beitrag zur Charakterisierung der untersuchten Viren als Pathogene leisten, da der Status insbesondere der Carla- und Badnaviren (Staginnus et al. 2006) in den Gehölzen bisher nicht bekannt ist. The first detection of a badnavirus in birch with the name Birch leaf roll-associated virus (BLRaV) has been published in 2018 (Rumbou et al 2018)

Material und Methoden

Es wurde aus einer großen Anzahl von Proben und die Auswertung von dazugehörigen Symptombildern Pflanzenmaterial mit nachweislichen Einzelinfektionen identifiziert. Diese aber auch Mischungen von Viren wurden im Biotest eingesetzt. Verschieden Wirtspflanzen wurden direkt mit symptomtragenden Blättern der Birke inokuliert. Dabei wurden einige Biotestpflanzen identifiziert die keinerlei Symptomausprägung zeigten. Die Biotestpflanzen mit deutlichen Symptomen wurden nach 3-4 Wochen nochmals molekularbiologisch auf die in den symptomtragenden Blättern der Birke enthaltenen Viren überprüft. Dabei wurde ermittelt, ob durch die Übertragung der Symptome auch eine Partikelübertragung stattgefunden hat und ob die Partikel aus dem Komplex der vorhandenen Viren isoliert werden konnten. Eine Reinfektion auf virusfreie Birken mit Erzeugung der Krankheitssymptome (Bonitur der Effekte, Absterberate, Schädigung, Wuchsdeformationen etc. Bonitur-Symptomausbildung) ist bisher nicht erfolgt. Der Nachweis von Einzelinfektionen erfolgte mittels PCR.

Zusätzlich sollte eine Lokalisation der viralen RNA der Viren im symptomatischen Bereich des Blattes durchgeführt werden. Das Vorhandensein der verschiedenen Viruspartikel im Muster kann Aufschluss darüber geben, welche Viren tatsächlich an der Symptomausprägung beteiligt sind. Dies sollte mit Hilfe von RNA-Sonden fluoreszenzmikroskopisch in Gewebeschnitten oder Gewebeabdrücken „Tissue printing“ überprüft werden, da bisher noch keine Antikörper für diese Viren vorhanden sind.

Ergebnisse und Diskussion

Die virologische Untersuchung erkrankter und degenerierender Birken im Stadtgrün des Berliner Bezirks Steglitz-Zehlendorf den Nachweis verschiedener Pflanzenviren in über 70 % aller beprobten Birken (n = 124) erbracht (Landgraf et al. 2016). Das die Komplexität der Symptome der Blattroller-

krankung und die Zusammensetzung der in den Blättern gefundenen Viren auch in weiteren Berliner Stadtbezirken zu finden ist, konnte über eine Ausdehnung des Untersuchungsgebietes auf das gesamte Stadtgebiet von Berlin gezeigt werden. Eine Erweiterung des Datensatzes über die bekannten Viren an Birken aus den Jahren 2015 und 2016 liefert wertvolle Hinweise auf die Verbreitung und Bedeutung der Erkrankung für die Birke im Berliner Stadtraum.

Zwei in Laubgehölzen bekannte Pathogene (CLRV, ApMV) und zwei im Jahr 2015 mittels Hochdurchsatzsequenzierung (Barba et al. 2014) neu entdeckte, nicht charakterisierte Virusspezies (Gattung *Badnavirus* und *Carlavirus*) sind dem Virom der Birke zuzuordnen. Insbesondere das Badnavirus wurde in den Jahren 2015 und 2016 im Zusammenhang mit dem CLRV nachgewiesen. Um zur Charakterisierung der Carla- und Badnaviren der Birke beizutragen, muss deren Übertragungsmechanismus aufgeklärt werden, um letztendlich den kausalen Zusammenhang zwischen der Degeneration der Birken und der nachgewiesenen Viren zu erbringen (Büttner et al. 2013). Bisher gibt es zu den in Birke neu entdeckten Carla- und Badnaviren keinerlei Informationen, die für die Beurteilung der Bedeutung dieses Virus in der Birke herangezogen werden könnten. Die durchgeführten Biotests geben erste Hinweise darauf, dass eine mechanische Übertragung durch Werkzeuge bei Pflegemaßnahmen im Stadtgrün für die Badnaviren der Birke wahrscheinlich ist. Dies könnte erklären, warum eine Häufung der Viruskombination Badnavirus und des ebenfalls mechanisch übertragbaren CLRV in den beprobten Bäumen gefunden wurde. Ein Konzept zu Lokalisationsexperimenten der Viren in den Symptomen der Blätter ist gezeigt.

Zusammenfassung

Studien aus 2015 und 2016 im Süden von Berlin wurden im Jahr 2017 auf das gesamte Stadtgebiet ausgeweitet. Birken mit Symptomen wie Verkahlung und Degeneration wurden ausgesucht, um sie molekularbiologisch auf Virusinfektionen zu überprüfen. Unter den aufgetretenen Symptomen wie Blattverfärbungen und Verkahlung sind auch Symptome identifiziert worden, die in Art und Ausprägung bisher nicht erfasst wurden. Die Symptome sollen näher untersucht werden. Viren sollen in ihnen lokalisiert werden. Übertragungsversuche zu den in 2015 neu entdeckten Viren aus der Gruppe der *Carla-* und *Badnaviren* in den Birken wurden durchgeführt. Es gibt erste Hinweise auf die mechanische Übertragbarkeit der Badnaviren der Birke. Sollte sich in weiteren Versuchen zeigen, dass die Badnaviren der Birke als Pathogene einzustufen sind, könnte sich dies nachhaltig auf die Empfehlungen zur Hygiene bei Baumpflegemaßnahmen auswirken.

Abstract

A study case in the south of Berlin in 2015 and 2016 was enlarged in 2017 capturing the whole area of Berlin. Birch trees with symptoms like defoliation and degeneration were selected for determination of viral pathogens by molecular biological methods. Within the occurring symptoms in birch trees like changes in leaf coloration or defoliation, new symptoms have been identified. Symptoms were further investigated. Plant viruses will be localized based on symptomatic observation. Transmission experiments for Carla- and Badnaviruses discovered in 2015 have been realized. They gave a first impression, that Badnaviruses found in birch are mechanically transmissible. In case of confirmation of pathogenicity of Badnaviruses in birch, knowledge about mechanical transmission can strongly influence the hygiene during tree management and maintenance.

Literatur

- BANDTE, M., VON BARGEN, S., ARNDT, N., GRUBITS, E., JALKANEN, R., BÜTTNER, C., 2009: Bedeutende Viren an Birke - Fallbeispiele aus Deutschland, Finnland und den USA. In: DUJESIEFKEN, D. (Hrsg.): Jahrbuch der Baumpflege, Haymarket Media, Braunschweig, 215-221.
- BARBA, M., CZOSNEK, H., HADIDI, A., 2014: Historical Perspective, Development and Applications of Next-Generation Sequencing in Plant Virology; Review in *Viruses*, 6,106-136.
- BÜTTNER, C., von BARGEN, S., BANDTE, M., Mühlbach, H.-P., 2013: Forest diseases caused by viruses. Chap. 3 In: *Infectious forest diseases*. Gonthier P., Nicolotti G. (eds), CABI, S. 50-75.
- COOPER, J. I., MassalSKI, P. R., 1984: Viruses and virus-like diseases affecting *Betula spp.* Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences Volume 85, Issue 1-2 (Birches) pp. 183-195.

LANDGRAF, M., GEHLSSEN, J., RUMBOU, A., BANDTE, M., VON BARGEN, S., SCHREINER, M., JÄCKEL, B., BÜTTNER, C. 2016: Absterbende Birken im urbanen Grün Berlins – eine Studie zur Virusinfektion. In: Dujesiefken, D. (Ed.), Jahrbuch der Baumpflege, Haymarket Media, Braunschweig, 276-283.

STAGINNUS, C., RICHERT-POGGELER, K.R., 2006: Endogenous pararetroviruses: Two-faced travelers in the plant genome. Trends Plant Sci., 11, 485–491.

Adressen der Autoren

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

² Pflanzenschutzamt Berlin, Molriner Allee 137, 12347 Berlin

Opoku B, Landgraf M, Bandte M, von Barga S, Schreiner M, Jäckel B, Büttner C, 2018:

Viologische Untersuchungen an erkrankten Birken im Raum Berlin.
(*Investigation of viral diseases in declining birch trees in Berlin.*)

Poster P06, Abstract im Tagungsbericht 2018 der 73. ALVA-Jahrestagung „Ökologische und soziale Aspekte des innovativen Gartenbaues“, 28.-29. Mai 2018, Kongresshaus Toscana, Toscanapark 6, Gmunden, Österreich. Tagungsband, ISSN 1606-612X, S. 246-248.