

# Virologische Untersuchungen an erkrankten Birken im urbanen Grün – eine weiterführende Studie in Berlin

## *Investigation of viral diseases in declining birch trees in urban green – a continuative study in Berlin*

Elisha Bright Opoku<sup>1</sup>, Maria Landgraf<sup>1</sup>, Martina Bandte<sup>1</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Martin Schreiner<sup>2</sup>, Barbara Jäckel<sup>2</sup> und Carmen Büttner<sup>1</sup>

### **Einleitung**

In den Jahren 2015 und 2016 wurden Straßenbäume der Gattung *Betula* in Berlin Steglitz-Zehlendorf, die Auffälligkeiten im Wuchs, Kronenverkahlungen und frühzeitige Abgänge zeigten, molekularbiologisch auf die an Laubgehölzen verbreiteten Viren Cherry leaf roll virus (CLRV), Arabis mosaic virus (ArMV) und Apple mosaic virus (ApMV) untersucht. Die große Vielfalt der beobachteten Symptome kann bisher noch nicht den einzelnen Viruspezies zugeordnet werden. In den Daten aus dem next generation sequencing (NGS) wurden neue Viren in den Birken entdeckt und anhand dieser, diagnostische Nachweismethoden (RT-PCR) für zwei neue Viren der Gattungen Badna- bzw. Carlavirus eingesetzt. Der Status dieser Viren in den Gehölzen ist nicht untersucht und die darauf basierenden Handlungsempfehlungen, kann man erst nach grundlegender Erforschung der Partikelmorphologie, der Symptomatologie, der Übertragbarkeit, des Wirtspflanzenkreises, der geographischen Verbreitung und anderer Faktoren diskutieren. So müssen die neu entdeckten Carla- und Badnaviren hinsichtlich ihrer Pathogenität charakterisiert werden und ihr Einfluss auf den Verfall der Birken muss überprüft werden. Insbesondere die Symptomatologie dieser Viren bleibt aufzuklären. Ein Konzept zur Korrelation von Symptomen und Virusinfektion soll hier am Beispiel der Carla- und Badnaviren erarbeitet werden.

### **Material und Methoden**

Der **klassischer Weg** zur Identifizierung eines pathogenen Virus ist die Erfüllung der Koch'schen Postulate durch die Isolierung des Erregers, Übertragung auf Wirte (Biotestpflanzen oder meristematisch erzeugte virusfreie Birken) und Reinfektion mit Erzeugung der Krankheitssymptome (Bonitur der Effekte, Absterberate, Schädigung, Wuchsdeformationen etc. Bonitur- Symptomausbildung). Dazu soll in zukünftigen Projekten der Wirtspflanzenkreis ermittelt werden, um Biotests durchführen zu können. Des Weiteren soll durch eine statistische Auswertung einer großen Anzahl von Proben und die Auswertung von dazugehörigen Symptombildern Pflanzenmaterial mit nachweislichen Einzelinfektionen identifiziert werden, welches für Übertragungsversuche im Biotest eingesetzt werden kann. Der Nachweis von Einzelinfektionen erfolgt mittels PCR und anschließendem NGS.

**Alternative Pathogenitätstests:** Ein Ansatz ist die Untersuchung der Reaktion der Pflanze auf virale Infektionen durch den Vergleich des Transkriptomts von nachweislich virusinfiziertem Blattmaterial mit dem Blattmaterial ohne Virusinfektion z.B. an frisch infizierten Pflanzen. Zusätzlich könnte eine Lokalisation der viralen RNA im symptomatischen Bereich des Blattes über das Vorhandensein der verschiedenen Viruspartikel Aufschluss darüber geben welche Viren tatsächlich an der Symptomausprägung beteiligt sind. Dies muss über Gewebeabdrücke „Tissue printing“ und dem Nachweis der spezifischen RNA (Daten aus dem NGS) der einzelnen Viren in den chlorotischen Blättern erfolgen, da bisher noch keine Antikörper für die Viren vorhanden sind.

### **Ergebnisse und Diskussion**

Die virologische Untersuchung erkrankter und degenerierender Birken im Stadtgrün des Berliner Bezirks Steglitz-Zehlendorf in den Jahren 2015 und 2016 hat den Nachweis verschiedener Pflanzenviren in über 70 % aller beprobten Birken (n = 124) erbracht. Darunter sind zwei in Laubgehölzen bekannte Pathogene (CLRV, ApMV) und zwei im Jahr 2015 neu entdeckte, nicht charakterisierte Viruspezies (Gattung Badnavirus und Carlavirus). Zusätzlich wurden durch das NGS weitere Viren im Komplex identifiziert, die bisher nicht erforscht sind, aber einen Einfluss auf die Erkrankung nehmen könnten. Da bislang der kausale Zusammenhang zwischen der Degeneration der Birken und der nachgewiesenen Viren nicht erbracht ist, bedarf es weiterer Forschungsarbeiten. Die Bedeutung von CLRV und ApMV

wurde im Hinblick auf Mischinfektionen muss untersucht werden. Die weitere Erforschung nicht charakterisierter Viren wie der Badnaviren und Carlaviren im nachgewiesenen Viruskomplex und der nicht charakterisierten viralen Sequenzen der NGS ist dringend notwendig. Insbesondere der Nachweis des Badnavirus ist nicht notwendigerweise mit der Bildung von Partikeln und einer infektiösen Phase verknüpft, da es ins Genom integrieren kann. Auch zu dem in Birke neu entdeckten Carlavirus gibt es bis auf eine Genomsequenz und diese erste Studie zum Vorkommen in Berliner Birken keine weiteren Informationen, die für die Beurteilung der Bedeutung dieses Virus in der Birke herangezogen werden könnten. Ob auch das neue Carlavirus in den Birken zu den Pathogenen zu rechnen ist, muss noch gezeigt werden. Zu den bisher in Birke bekannten Viren werden moderne Methoden wie das NGS noch viele weitere hinzukommen, deren Erforschung notwendig ist. Nur wenn alle beteiligten Pathogene bekannt sind, kann ein Managementkonzept für Viruserkrankungen im Stadtgrün erarbeitet werden.

### **Zusammenfassung**

In einer Studie in Berlin von 2015 und 2016 wurden Birken mit Symptomen wie Verkahlung und Degeneration ausgesucht, um sie auf Virusinfektionen zu überprüfen. Die auftretenden Symptome wie Blattverfärbungen und Verkahlung müssen untersucht und mittels der Kochschen Postulate mit den spezifischen Viren korreliert werden. Die Analyse von NGS-Daten von absterbenden Birken und die Entwicklung von diagnostischen PCR-basierten Methoden ist notwendig, um die am Verfall der Bäume beteiligten Viren zu identifizieren. Neben anderen Viren zeigen erste Daten aus der NGS zwei neue Viren aus der Gruppe der Carla- und Badnaviren in den Birken. Beide Viren müssen charakterisiert und hinsichtlich ihrer Pathogenität überprüft werden und ihr Einfluss auf den Verfall der Bäume muss untersucht werden. Ein Projektkonzept für diese Fragestellungen und die Untersuchung der Symptomatologie wird hier vorgestellt.

### **Abstract**

In a study case in Berlin 2015 and 2016, several areas with birch trees with symptoms like defoliation and degeneration were selected for determination of viral pathogens. Occurring symptoms in birch trees like changes in leaf coloration or defoliation have to be investigated and correlate with particular viral agents fulfilling Koch's Postulates. The generation and analysis of NGS data from declining birch trees and the development of new diagnostic PCR-based tools for detection and identification of new viruses involved in the decline is necessary to identify the viral agents. Preliminary projects show amongst others existence of new discovered Carla- and Badna viruses in declining birch trees in Berlin. Both viruses need to be characterized according to their pathogenicity and their impact on decline has to be determined. A project concept including this and the determination of symptomatology is given in this article.

### **Literatur**

- Bandte, M., von Barga, 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 Barga, 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.
- Landgraf, M., Gehlsen, J., Rumbou, A., Bandte, M., von Barga, 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.

### **Adressen der Autoren**

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

<sup>2</sup> Pflanzenschutzamt Berlin, Moliner Allee 137, 12347 Berlin