Extended Abstract

Erfassung von Hausfäulepilzen mit molekularbiologischen Verfahren in der Praxis

Andrea Steitz

Der Echte Hausschwamm (*Serpula lacrymans*) und der Kellerschwamm (*Coniophora puteana*) verursachen gemeinsam mit den Porenschwämmen die meisten Schäden in Gebäuden. Die korrekte Identifizierung des Befallorganismus ist von hoher wirtschaftlicher Bedeutung, da bei nicht eindeutig identifizierbarem Pilzbefall nach ÖNORM B 3802-4 wie auch nach DIN 68 800 Teil 4 so zu verfahren ist, als ob ein Befall durch den Echten Hausschwamm vorläge. Für die Praxis bedeutet das, dass mindestens 1,5 m über den erkennbaren Befall hinaus das befallene Holz, Putz und Beschüttung entfernt und das Mauerwerk chemisch behandelt werden müssen. Diese Sanierungsmaßnahmen sind umfangreicher und daher eindeutig finanziell aufwändiger, als die Sanierung bei Befall mit anderen Hausfäulepilzen, den sogenannten Nassfäulepilzen.

Pilze sind anhand ihres zum Teil typischen Schadbildes, ihres Mycels und Fruchtkörpers voneinander unterscheidbar. Ist eine Bestimmung vor Ort aufgrund fehlender deutlicher Ausbildung von Mycel oder Fruchtkörper nicht möglich, können mikroskopische Untersuchungen im Labor (mikroskopische Myceldiagnostik) zielführend sein. Vor Ort kann eine bautechnische Endoskopie angewandt werden. Dabei wird ein Loch in das zu untersuchende Bauteil (Ø 10 mm) gebohrt, in das das Endoskop eingeführt wird. Auf diese Weise kann eine Schadensbegutachtung auch in uneinsichtigen Bereichen durchgeführt werden. Weiters kann über Bohrspäne (Geruch, Festigkeit, Feuchtigkeit) ein Rückschluss auf den Befall gezogen werden. Bohrspäne und geringes Probenmaterial, aufgrund dessen keine eindeutige Bestimmung durchgeführt oder ein Ausschluss des Echten Hausschwammes gemacht werden kann, werden mittels der molekularbiologischen Verfahren untersucht. Molekularbiologischen Untersuchung von Hausfäulepilzen bietet maßgebliche Vorteile gegenüber den traditionellen Methoden, wenn nur wenig Ausgangsmaterial für die Bestimmung der Proben zur Verfügung steht. Ein besonderes Problem stellen hier denkmalgeschützte Objekte dar: Da befallene Holz- und Mauerteile oft nicht mehr ersetzt werden können, ist es wichtig mit wenig Material eine eindeutige Aussage zu treffen. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass bei zweifelhaften Proben keine Reinkulturen des Pilzes mehr angelegt werden müssen, was bei Hausfäulepilzen einen erheblichen Zeitaufwand an Kultivierung bedeuten würde. Die molekularbiologische Diagnostik kann in den meisten Fällen innerhalb eines Tages durchgeführt werden.

Bei der DNA-Analyse wird die DNA direkt aus dem Probenmaterial extrahiert, gereinigt und ein bestimmter DNA-Abschnitt (*ITS*-Region) mit pilzspezifischen Primern untersucht. DNA-Sequenzen, die die ribosomale RNA encodieren, werden verwendet, um taxonomische Verwandtschaften und genetische Variationen zu untersuchen. Die ribosomale RNA besitzt einerseits genetisch hoch konservative und andererseits genetisch variable Regionen. Die hoch konservativen Bereiche der *18S*-, *5,8S*- und *28S*-rRNA-Gene haben sich im Verlauf der Evolution der verschiedenen Organismen wenig voneinander diffe-

renziert. Hingegen zeigen die variablen Bereiche (*ITS*-Region) - Abschnitte zwischen den oben genannten Genen - selbst zwischen näher verwandten Arten Unterschiede ihrer Basensequenz (Sambrook & Russel 2001). Diese Unterschiede ermöglichen die taxonomische Bestimmung mit PCR-Primern, die spezifisch nur in bestimmten Arten amplifizieren dar. Solche effizienten auf PCR-Tests basierenden Nachweissysteme mit artspezifischen Primern wurden für den Echten Hausschwamm (*Serpula lacrymans*), den Wilden Hausschwamm (*Serpula himantioides*), den Braunen Kellerschwamm (*Coniophora puteana*), den Ausgebreiteten Hausporling (*Donkiopora expansa*) und den Breitsporigen Weißen Porenschwamm (*Antrodia vaillantii*) entwickelt (Moreth & Schmidt 2000, Schmidt & Moreth 2000). Kann mithilfe der artspezifischen Primer keine eindeutige Diagnose gestellt werden, so kann durch die Sequenzierung des PCR-Produktes, das mit spezifischen Basidiomyceten-Primern (ITS1F/ITS4B) hergestellt wurde (Gardes & Bruns 1993), die Identifizierung vorgenommen werden. Eine eindeutige Bestimmung erfolgt, indem die Sequenzen durch Eingabe in Datenbanken verglichen werden. Wünschenswert ist hier eine österreichweite Erfassung von Hausfäulepilzen mit DNA–Barcoding-Methoden. Durch ABOL, der österreichischen Barcoding-Initiative könnte so eine verlässliche Referenzdatenbank für Österreich erstellt werden. Dabei könnten auch neue Forschungsfragen generiert und neue Erkenntnisse gewonnen werden, die für die Schadensbestimmung in der Praxis von beträchtlichem Nutzen sein könnten.

Steitz A., 2016: Detection of house rot fungi using molecular biological methods – a practical approach.

Wood decay fungi like *Serpula lacrymans* and *Coniophora puteana* cause serious damage to wooden constructions and building elements. The identification of the infestation organism is of great economic importance. If the identification is not clear, the structural renovation has to be carried out in accordance to ÖNORM B 3802-4 as well as according to DIN 68 800 part 4. For practical purposes this means that the decayed wood, plaster and bedding is removed at least 1.5 m above the visible infestation and the masonry has to be chemically treated. This structural renovation is more complex and therefore clearly more expensive.

Fungi can be distinguished from each other by a typical damage pattern, mycelia and characteristic fruit bodies. If an identification is not possible, due to the lack of the above mentioned characteristics, microscopic examinations in the laboratory (microscopic mycelial diagnostics) are required. For the assessment of the damage (e.g. inside timber construction) endoscopic methods can be employed. Therefore, holes with diameters of 10 mm are drilled into the building constructions. Thereby, damage assessment is also possible in hidden areas. Furthermore, it is possible to draw conclusions about the attack type by drilling chips (odor, strength, moisture). Drilling chips and material which cannot be used for a clear determination can be investigated using molecular biological methods. If only a small amount of material is available, molecular biological methods have a significant advantage. Thus, in the field of listed objects molecular biological techniques are often the method of choice. In most cases, molecular biological investigations can be performed within one day.

Using molecular biological techniques DNA is extracted directly from the sample material, purified, and a specific DNA region (*ITS* region) is investigated with fungus-specific primers. DNA sequences encoding the ribosomal RNAs are used to study taxonomic relationships and genetic variations. On the one hand, the ribosomal RNAs have genetically highly conserved regions and, on the other hand, genetically variable regions. The highly conservative regions located within the *18S*, *5.8S* and *28S* rRNA genes hardly differentiated in the course of the evolution of the various speices. The variable region (*ITS* region) between the above mentioned genes shows differences in their DNA sequences even in more closely related organisms or species (Sambrook & Russel 2001). These differences are the basis of species identification using species-specific PCR primers that amplify only in a certain species. Such efficient detection systems based on simple PCR tests with species-specific primers were established for

Serpula lacrymans, *Serpula himantioides*, *Coniophora puteana*, *Donkiopora expansa* and *Antrodia vaillantii* (Moreth & Schmidt 2000, Schmidt & Moreth 2000). If a clear diagnosis via PCR tests using species-specific primers cannot be made, an identification can be accomplished by sequencing of the PCR product, obtained more universal primers amplifying in Basidiomycetes (ITS1F / ITS4B) (Gardes & Bruns 1993). This allows determination by comparing the obtained sequences with sequences in databases. It is desirable to carry out an Austria-wide recording of house rot fungi using DNA barcoding methods. A reliable reference database of Austrian species could be created in the course of ABOL, the Austrian Barcoding Initiative. This could also generate new research questions and gain new insights that could be of considerable use in the practice of damage assessment.

Keywords: house rot fungi, *Serpula lacrymans*, molecularbiological methods, ITS region, DNA barcoding.

Literatur

DIN 68 800 Teil 4, 2012: Bekämpfungsmaßnahmen gegen holzzerstörende Pilze und Insekten.

Gardes M. & Bruns T.D., 1993: ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. Mol. Ecol. 2, 113–118.

Moreth U. & Schmidt O., 2000: Identification of indoor rot fungi by taxon-specific priming polymerase chain reaction. Holzforschung 54, 1–8.

ÖNORM B-3802-4, 2015: Holzschutz im Bauwesen – Bekämpfungs- und Sanierungsmaßnahmen gegen Pilz- und Insektenbefall.

Sambrook J. & Russel D.W., 2001: Molecular cloning, 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schmidt O., 1994: Holz- und Baumpilze. Biologie, Schäden, Schutz, Nutzen. Springer-Verlag.

Schmidt O. & Moreth U., 2000: Species specific PCR primers in the rDNA-IST region as a diagnostic tool for *Serpula lacrymans*. Mycol. Res. 104, 69–72.

Anschrift:

Mag. Andrea Steitz, Holzforschung Austria, Franz-Grill-Straße 7, A-1030 Wien. E-Mail: a.steitz@holzforschung.at, homepage: http://www.holzforschung.at

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien. Frueher: Verh.des Zoologisch-Botanischen Vereins in Wien. seit 2014 "Acta ZooBot Austria"

Jahr/Year: 2017

Band/Volume: 154

Autor(en)/Author(s): Steitz Andrea

Artikel/Article: Erfassung von Hausfäulepilzen mit molekularbiologischen Verfahren in der Praxis 205-207