

Kurzdarstellungen

Molekulare Biotechnologie zur Analyse des Holzabbaus im Freiland



Projektleiter: Dipl.-Ing. Kordula Jacobs
Bearbeiter: Dipl.-Biol. Katharina Plaschkies, Dr. Wolfram Scheiding, Dipl.-Ing. (FH) Björn Weiß
Förderinstitution: BMWi / Euronorm / INNO-KOM
Kooperationspartner: Thünen-Institut für Holztechnologie und Holzbiologie, Hamburg
 FCBA Pôle Industries Bois Construction, Bordeaux
 ITD Instytut Technologii Drewna, Poznań
 CATAS, Udine

Ausgangssituation und Zielstellung

Holzerstörende Weiß- und Braunfäulepilze (Basidiomyceten) sowie Moderfäulepilze (Ascomyceten und Deuteromyceten) verursachen gravierende Schäden an unzureichend geschütztem Holz im Freiland (Weiß et al. 2000). Während das Spektrum holzerstörender Pilze in Gebäuden weitestgehend bekannt ist – heute geht man von etwa 30 typischen Hausfäulepilzen aus (Schmidt 2006) – ist die deutlich höhere Pilzvielfalt an frei bewittertem Holz in ihrer Gesamtheit noch wenig untersucht. Neue molekularbiologische Analysemethoden bieten die Möglichkeit, Pilze in allen Entwicklungsstadien zu erfassen und so die gesamte Artenvielfalt eines Habitats zu analysieren.

Im Rahmen eines 2½-jährigen Vorlaufforschungsprojektes (INNO-KOM-Ost Modul VF) wurde im IHD der Pilzangriff auf ausgewählte Nutzhölzer an fünf mitteleuropäischen Standorten untersucht. Ziele waren die Analyse von Artenspektrum und Sukzession der Pilze mit konventionellen und molekularbiologischen Methoden, die Ermittlung des Einflusses von Standortfaktoren auf Pilzspektrum und Dauerhaftigkeit verschiedener Hölzer sowie die Integration der Ergebnisse in ein Modell zur Abschätzung der Gebrauchsdauer von Nutzholz. Häufig auftretende Pilze mit hohem Schadpotenzial sollten zudem identifiziert und als potenzielle Enzymproduzenten für biotechnische Prozesse, z. B. die Vorbehandlung von Lignocellulosen für die Biogas- und Bioethanolherstellung, selektiert werden.

Labor- und Freilandprüfungen

Versuchshölzer von Lärchenkernholz (*Larix de-*

cidua Mill.) und Eichenkernholz (*Quercus petraea* Matt.) mit mittlerer Dauerhaftigkeit sowie von nicht dauerhaftem Kiefernspiltholz (*Pinus sylvestris* L.) und Buchenholz (*Fagus sylvatica* L.) wurden im Frühjahr 2010 in Dresden, Hamburg, Poznań, Udine und Bordeaux im Erdkontakt verbaut, was einer Exposition gemäß Gebrauchsklasse 4 (DIN 68800-1 bzw. DIN EN 335) entspricht. Am Standort Dresden wurde zusätzlich Kiefernkerneholz getestet und alle Proben auch in Gebrauchsklasse 3 (bewittert, ohne Erdkontakt) im sog. Doppellagentest (Rapp und Augusta 2004) exponiert.

Die in Form eines Ringversuches organisierte jährliche Bewertung der Intensität des Pilzangriffs nach DIN EN 252 (1990) zeigte deutliche Unterschiede zwischen den Standorten. So war insbesondere in Dresden und Udine ein starker pilzlicher Abbau zu verzeichnen. Die geringsten Abbauraten traten bei allen Holzarten in Poznań, dem einzigen neu angelegten Prüffeld, auf. Am Standort Bordeaux resultierte der Holzabbau maßgeblich aus einem starken Termitenbefall.

In den Laborprüfungen nach DIN CEN/TS15083-1/2 (2005) erwiesen sich Lärche und Kiefer als wenig dauerhaft (Dauerhaftigkeitsklasse, DHK 4) gegen Basidiomyceten und mäßig dauerhaft gegen Moderfäulepilze (DHK 3). Dagegen war die gegen Basidiomyceten sehr dauerhafte Eiche (DHK 1) gegen Moderfäulepilze nur wenig dauerhaft (DHK 4). Nach 2 Jahren Freilandprüfung mit Erdkontakt in Dresden war die Eiche stärker angegriffen als Lärche, jedoch deutlich geringer als Kiefer. Eine abschließende Beurteilung der Vergleichbarkeit von Freiland- und Laborprüfungen sowie der Eignung

des Doppellagentests für die Dauerhaftigkeitsbestimmung in Gebrauchsklasse 3 erfolgt 2015 nach insgesamt fünf Jahren Freilandexposition.

Pilzdiagnostik

Halbjährlich wurden Kiefernspint- und Buchenhölzer aller Standorte im Hinblick auf Pilzangriff und involvierte Pilzarten mit konventionellen und molekularbiologischen Methoden analysiert. Die Beprobung erfolgte äußerlich an visuell sichtbaren pilzgeschädigten Bereichen des Holzes, Fruchtkörpern und Myzelien (Abb. 1) und innerlich nach Aufschnitt der Hölzer.



Abb. 1: Fruchtkörper und Pilzmyzelien auf Kiefernspintholz nach 2 Jahren Exposition im Erdkontakt

Grundlage der DNA-basierten Diagnostik waren die Sequenzierung spezifischer DNA-Markerregionen sowie Schmelzkurven- und Restriktionsanalysen (Abb. 2) von PCR-Produkten. Im Ergebnis wurden etwa 300 rDNA-ITS-Sequenzen generiert und analysiert, die mehr als 60 verschiedenen Pilzarten, vorrangig Basidiomyceten, zuzuordnen waren. Zahlreiche weitere Pilze konnten aufgrund unzureichender Vergleichsdaten in öffentlich zugänglichen Gendatenbanken maximal auf Gattungsniveau bestimmt werden.

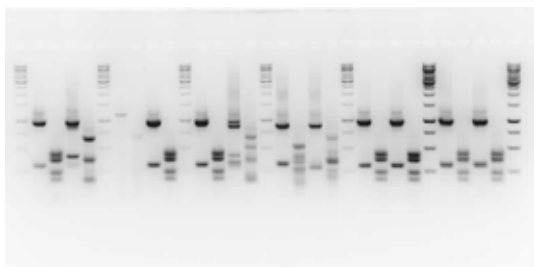


Abb. 2: Pilzidentifizierung auf Basis von RFLP (Restriction length polymorphism)-Mustern von DNA-Proben aus Kiefernspintholz

Die Holzart hatte einen signifikanten Einfluss auf das Artenspektrum. Zudem wurde an jedem Standort ein spezifisches Spektrum an Pilzen nachgewiesen, wobei überwiegend Arten auftraten, die bisher nicht als typische Holzzerstörer an verbautem Holz bekannt sind. Insgesamt wurden deutlich mehr Weißfäule- als Braunfäuleerreger identifiziert. Obwohl an allen Standorten Befallsbilder einer Moderfäule auftraten, konnten nur in geringem Umfang entsprechende Erreger, wie z.B. *Helicales* sp. (Abb. 3) an den Standorten Dresden, Hamburg und Udine, identifiziert werden.

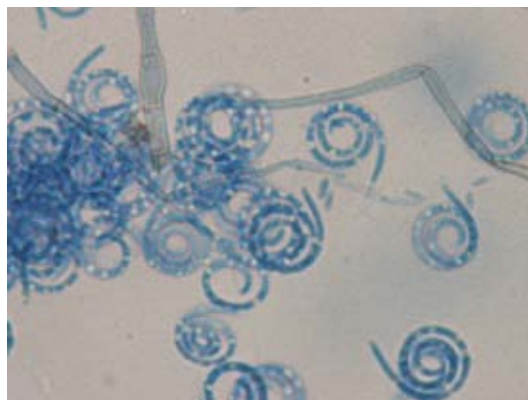


Abb. 3: Helikale Sporen einer *Helicoma* sp. an Kiefernspintholz am Standort Hamburg

Eine erwartete generelle Zunahme der Pilzvielfalt an und in den Hölzern mit steigender Expositionszeit war innerhalb von zwei Jahren nicht nachweisbar. Häufig auftretende Pilzarten wurden isoliert und in einem Laborversuch über acht Wochen nach CEN/TS 15083-1 bezüglich ihres Zerstörungspotenzials bewertet. Nach Analyse der Enzymproduktion der Pilze mit den höchsten Abbauraten wurden potenzielle Enzymproduzenten für weiterführende Untersuchungen zur biotechnischen Applikation selektiert.

Literatur

Rapp A, Augusta U (2004): The full guideline for the "double layer test method" – A field test method for determining the durability of wood out of ground. Document N. IRG/WP 04-20290. International Research Group on Wood Protection, Stockholm, Sweden.

Weiß B, Wagenführ A, Kruse K (2000): Bestimmung und Beschreibung von Bauholzpilzen. Leinfelden-Echterdingen: DRW-Verlag

Schmidt O (2006): Wood and tree fungi - biology, damage, protection and use. Springer Verlag, Berlin