Perspektiven der Feuerbrandbekämpfung infizierter Kernobstgewächse

Von:

Yanik Söltzer

Bucherfelder Weg 1b

53560 Vettelschoß

Betreuung:

Frau Edelmann- Schneider

Gymnasium Neustadt(Wied)

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 4
1.1 Kurzfassung 4
1.2 Themenwahl 4
1.3 Darstellung des Arbeitsprozesses 5
1.3.1 Die Motivation für das Thema 5
1.3.2 Die Wege zur verwendeten Literatur 5
1.3.3 Fehlversuche oder Irrwege 5
2 Hauptteil 5
2.1 Erwinia Amylovora 5
2.1.1 Allgemein 5
2.1.2 Infektion 6
2.1.3 Vermehrungszyklus 7
2.1.4 Symptome 9
2.1.5 Wirtspflanzen 11
2.1.6 Taxonomische Klassifikation 11
2.1.7 Geschichte 12
2.1.8 Geographische Verbreitung 12
2.1.9 Gegenmaßnahmen 13
2.2 Erwinia carotovora 16
2.2.1 Allgemein 16
2.2.2 Vergleichbarkeit 16
2.3 Auswahl der ätherischen Öle 16
2.3.1 Wasserdampfdestillation 16
2.4 Erste Versuchsreihe 17
2.4.1 Versuchsplanung 17
2.4.2 Vorbereitung 17
2.4.3 Ausführung 18
2.4.4 Ergebnisse 19
2.4.5 Diskussion 19
2.5 Zweite Versuchsreihe 20
2.5.1 Versuchsplanung 20
2.5.2Vorbereitung 20
2.5.3 Ausführung 23
2.5.4 Ergebnisse 24
2.3.5 Diskussion 30
2.6 Dreipunkteprogramm 31
2.6.1 Erste Planung 31

2.6.2 Zusammenstellung 32
2.6.3 Der fertige Plan 33
2.6.4 Diskussion 33
3 Fazit 34
3.1 Persönliche Erkenntnisse, Kritische Rückschau 34
4 Anhang 34
4.1 Quellen 34
4.1.1 Inhaltsquellen 34
4.1.2 Bildquellen 37
4.2 Fachtermini 38

1 Einleitung

1.1 Kurzfassung

In meiner Arbeit „*Perspektiven der Feuerbrandbekämpfung infizierter Kernobstgewächse.*“ beschäftige ich mit den Auswirkungen von ätherischen Ölen auf den Feuerbrand-Erreger Erwinia amylovora.

Feuerbrand ist eine nicht zu unterschätzende Pflanzenkrankheit, die auch heute noch eine entscheidende Rolle beim Anbau von Kernobstgewächsen spielt. Bei günstigen Umweltbedingungen kann sich die Krankheit seuchenartig ausbreiten. Die ursprünglich aus den USA stammende Krankheit hat sich von 1780 in fast alle Länder verbreitet.

Bis heute wurde noch kein 100% wirksames Heilmittel gefunden. Das bisher wirksamste Antibiotikum ist Streptomycin. Dies reduziert den Feuerbrandbestand um ca. 80%. Streptomycin darf nur in wenigen Ländern und nur in Ausnahmesituationen angewendet werden, um die Wahrscheinlichkeit einer Resistenzbildung möglichst gering zu halten. Es werden auch gesundheitliche Schäden vermutet, da Streptomycin im Honig umliegender Bienenstämme nachgewiesen wurde. Die alternative zu diesem Antibiotikum ist die Rodung der befallenen Bäume und Desinfektion sämtlicher Schnittwerkzeuge und Erntemaschinen. Da dies allerdings mit erheblichen Bestands- und Ernteverlusten verbunden ist, suche ich nach einem alternativen Heilmittel.

Ätherische Öle stellten sich als gute Alternative heraus. Sie sind teilweise antibakteriell und da sie rein pflanzlich gewonnen werden ist die Gefahr einer Gesundheitsschädigung deutlich geringer.

1.2 Themenwahl

In einem Gespräch mit Frau Edelmann-Schneider verwies sie auf einen Professor, der sie auf das Problem der Feuerbrandbekämpfung aufmerksam machte.

Ein noch ungelöstes Problem zu lösen ist eine große Herausforderung, bietet aber die Möglichkeit kreativ an das Problem zu gehen. Sehr bald kamen wir auf die Idee den Erreger mit antibakteriellen ätherischen Ölen zu bekämpfen.

1.3 Darstellung des Arbeitsprozesses

1.3.1 Die Motivation für das Thema

In unserer Arbeit „Griechischer Bergtee – Wundermittel für mehr Konzentration?“, aus dem Jahr 2011/12 hatten wir bereits die Auswirkung von Griechischem Bergtee auf die Konzentrationsfähigkeit von Mitschülern getestet. Hier haben wir das erste Mal von den erstaunlichen Auswirkungen der ätherischen Öle mitbekommen.

1.3.2 Die Wege zur verwendeten Literatur

Größtenteils verwendeten wir das Internet zur Suche von Hintergrundinformationen. Ratschläge bekamen wir von Prof. Dr. Oliver Planz.

1.3.3 Fehlversuche und Irrwege

Es gab einige Fehlversuche. So wurde der Nährboden in der ersten Versuchsreihe nicht fest, und verhinderte so ein Ablesen der Ergebnisse. Auch einige ätherische Öle wiesen sich als nicht antibakteriell heraus.

2 Hauptteil

2.1 Erwinia Amylovora

2.1.1 Allgemein



Abbildung 1:Erwinia Amylovora

Feuerbrand, zu Englisch Fireblight, ist eine durch das Bakterium Erwinia amylovora verursachte Pflanzenkrankheit. Sie befällt vor allem Kernobstgewächse, aber auch anfällige Ziergehölzarten. Bei günstigen Klimatischen Verhältnissen (zwischen 21 und 28 °C, über 70 % relative Feuchte) und einer gewissen Dichte an Wirtspflanzen kann sich der Erreger seuchenartig ausbreiten. Für den Menschen besteht keine Gefahr. Bei Befall muss die Infektion gemeldet werden und es kann eine Quarantänezone von 5 Kilometern um befallene Grundstücke angeordnet werden, sowie im die Vernichtung von hochanfälligen und befallenen Wirtspflanzen in diesem Gebiet. Die Bienenhaltung kann auch in der Quarantänezone verboten werden. Die Bakterien leben zwischen den Zellen unter der Rinde und scheiden Stoffe aus, welche die Zellwände auflösen. Die Bakterien ernähren sich von Zellsaft. Dies führt zum Absterben der Bakterien nachdem der Ast abgestorben ist.
Vergleiche:[1][2][5][8][9][13]

2.1.2 Infektion

2.1.2.1 Infektionswege

Über große Entfernung kann das Bakterium durch kontaminiertes Pflanzenmaterial oder kontaminierte Gegenstände (Schnittwerkzeug, Erntegeräte, etc.) aber auch durch Zugvögel übertragen werden. In der näheren Umgebung erfolgt die Übertragung der Erreger durch Regen, Wind, Insekten, Vögel und den Menschen.

Das Bakterium kann über natürliche Öffnungen (Stomata, Hydathoden, Narben, Wunden, Nektarien) in gesundes Pflanzenmaterial eindringen man unterscheidet drei Infektionswege:

Die Blüteninfektion (Blossom blight)



Triebinfektion (Shoot blight)



Infektion aus wieder aktiv werdenden Befall Stellen (Canker blight)



Abbildung 2: Verschiedene Infektionswege

Die Blüteninfektion (Blossom blight)

ist die häufigste Variante der Infektion. Hier dringt das Bakterium über florale Nektarien in die Blüte der Pflanze ein und sammelt sich in den Wasserleitgefäßen der Blüte. Das Bakterium wird oft von Bienen von einer in die andere Blüte getragen.

Triebinfektion (Shoot blight)

kann nur bei jungen Trieben eintreten. Durch Wachstumsrisse oder andere natürliche Öffnungen (siehe oben) kann das Bakterium in den Trieb eindringen. Da das Immunsystem noch nicht so groß ist, kann der Trieb leicht befallen werden und stirbt meist schnell ab.

Infektion aus wieder aktiv werdenden Befall Stellen (Canker blight)

nachdem die Pflanze bereits kontaminiert wurde bildet das Bakterium Canker aus, um in der Pflanze zu überwintern. Im Folgejahr erfolgt eine erneute Infektion aus dem Canker. Eine Infektion über Bienenstämme ist ausgeschlossen, da das Bakterium im

Bienenstock nicht überleben kann. Jedoch kann eine Bienen das Bakterium von einer Pflanze auf die nächste übertragen. Ein kontaminierter Bienenstock ist nach 48 Stunden Quarantäne erregerfrei.

Vergleiche: [2][7][8][9]

2.1.3 Vermehrungszyklus

Generell unterscheidet man in zwei Vermehrungszyklen:

Primär: wenn die Pflanze im vorherigen Jahr erregerfrei war (Blüteninfektion, Triebinfektion)

Sekundär: wenn die Pflanze erneut aus Cankern befallen wird.

Vergleiche:[1][2][5][8][9][13]

2.1.3.1 Primärinfektion

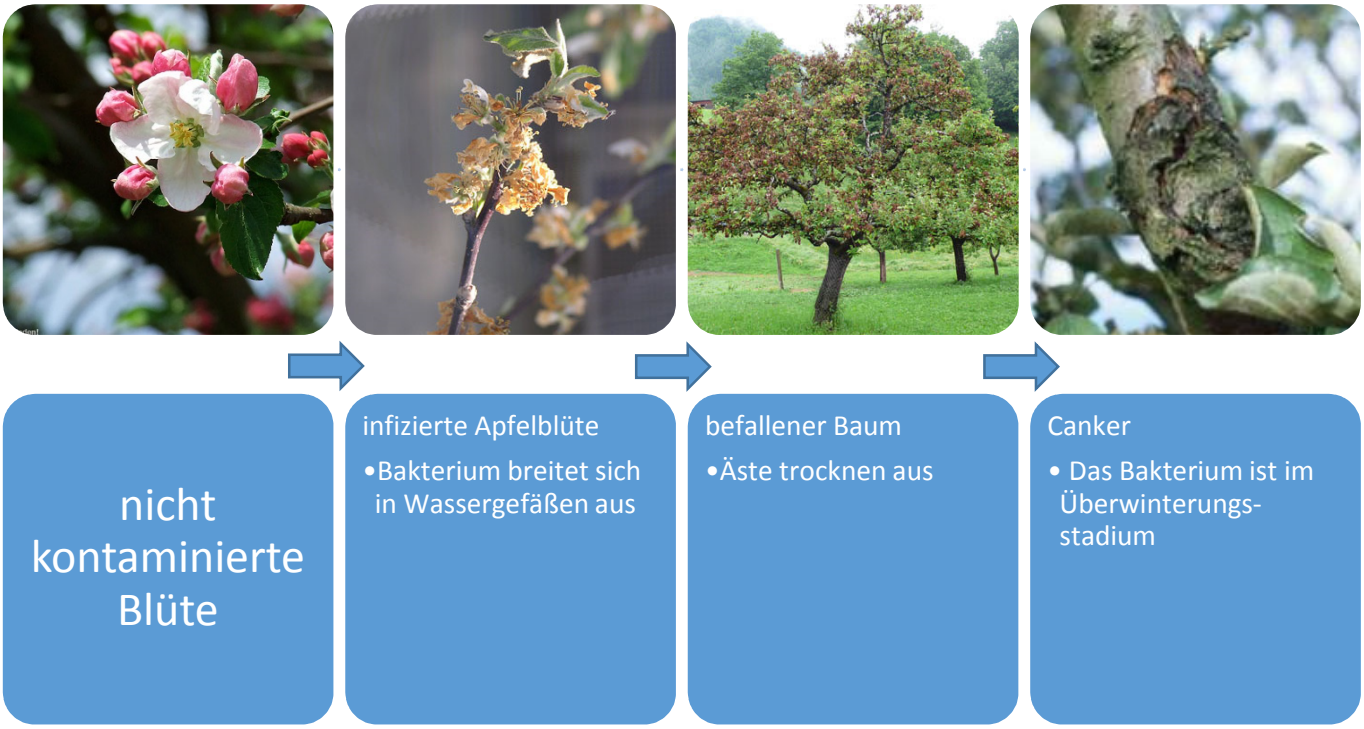


Abbildung 3:Primärinfektion

Bei der Primärinfektion wird ein Baum befallen, der noch keinen Kontakt zu Erwinia Amylovora hatte. Der Vermehrungszyklus entspricht dem Infektionsvorgang der Blüteninfektion und der Triebinfektion. Im Frühling bis Sommer werden die Blüten infiziert und beginnen mit zunehmender Ausbreitung des Bakteriums zu verwelken. Anschließend breitet sich das Bakterium in andere Äste aus. Diese trocknen aus. Gegen Winter zieht sich das Bakterium in die Außenzonen der Canker zurück, in denen es überwintern kann. Im Folgejahr erfolgt eine Sekundärinfektion.

2.1.3.2 Sekundärinfektion

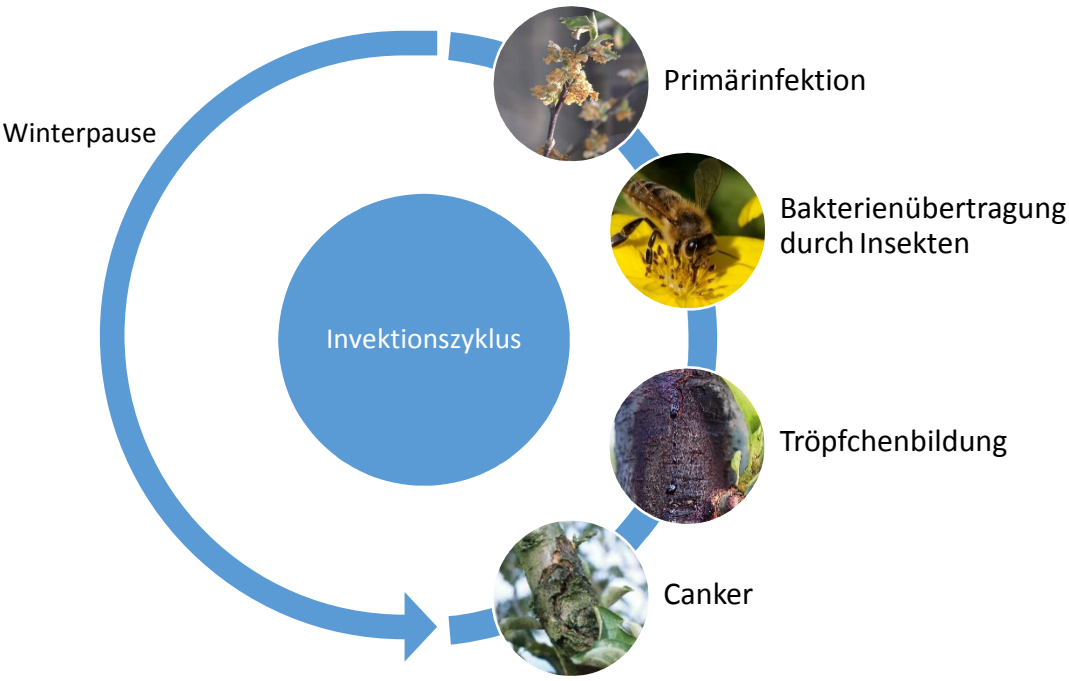


Abbildung 4: Infektionszyklus

Die Überwinterungszentren des Feuerbrandes sind die Canker. Es gibt aber auch die Möglichkeit, dass die Bakterien in dem Gefäßsystem der Pflanze überwintern.

Im Frühjahr wird ein Teil der Canker (20%) wieder aktiv, und beginnt an seinen Randzonen Bakterienschleim zu bilden. Dieser zuckerhaltige Bakterienschleim lockt viele Insekten(z.B.: Fliegen, Ameisen) an, welche die Erreger weitertragen.

Vergleiche:[1][2][5][8][9][13]

2.1.4 Symptome

2.1.4.1 Primäre Feuerbrandsymptome

Blüteninfektion:

Nach der Infektion im Frühjahr bekommen zuerst die Blüten ein welkes Aussehen und werden anschließend braun. Dieser Vorgang wird auch als „Blütenbrand“ beschrieben.

Nachdem die Blüte abgestorben ist, werden die Blätter am selben Trieb braun, verlieren ihre Flexibilität und ziehen sich zusammen. Die Stile und Blattrippen färben sich ebenfalls schwarz. Auch die Frucht wird direkt über die Haut oder den Stängel befallen.



Abbildung 5: Bakterienschleim an Frucht

Reife Früchte weisen ein schwarz bis braunes Aussehen auf und bleiben oft mehrere Monate lang an den Baum hängen. Bei günstigen Voraussetzungen produzieren sie kleine, milchig –weiße Tropfen an der Oberfläche(Abbildung 1:rechts). Wenn diese Tropfen vertrocknen bildet sich ein bernsteinfarbener Rückstand, der wie eingetrockneter Lack wirkt (Abbildung 1:links).

Triebinfektion:



Abbildung 6: Triebinfektion

Die jungen Triebe scheinen verwelkt und die Spitze krümmt sich (Verlust an Zelldruck), siehe Abbildung 3. Wenn die Triebe bereits verholzt sind findet die Krümmung nicht mehr statt. Bei schwülwarmer Witterung können sich an verkrümmten Triebspitzen oftmals Bakterienschleim Tröpfchen bilden.

2.1.4.2 Sekundäre Feuerbrandsymptome

Sekundäre Feuerbrandsymptome werden erst im Folgejahr hervorgerufen. Primäre Symptome treten nicht mehr so häufig auf und können leicht übersehen werden.

Ein Hinweis ist die frühzeitige Verfärbung der Blätter(Abbildung 2:links infiziert; rechts normal). Weit vor dem Herbst färben sich die Blätter in saurem Bodenmilieu rot, in basischem Bodenmilieu gelb. Die Krone des Baumes ist durchsichtig und lichte. Blätter an befallenen Ästen krümmen sich stark und fallen klein aus.Früchte wachsen nicht, es bilden sich Fruchtmumien (Abbildung 4). Canker bilden sich oder patzen auf.



Abbildung 8:Fruchtmumien



Abbildung 7: Frühzeitige Verfärbung(links)

Vergleiche:[1][2][5][8][9][13]

2.1.4.3 Verwechslungsmöglichkeiten

Das Bakterium ist vor allem verwechselbar mit anderen Krankheiten, die die Wasserzufuhr der Blüten und Blätter abschneiden. Ob es sich um Feuerbrand handelt, kann meist nur im Labor ermittelt werden. Es gibt aber bereits schon Schnelltest für befallene Pflanzen.

Zu verwechselnde Erreger sind:–

Bakterien(z.B. Pseudomonas syringae pv. Syringae),
pilzliche Erreger (z.B. Monilia sp.),
Phytoplasmen (Apfeltriebsucht, Birnenverfall),
tierische Schädlinge (Blutläuse, Birnentriebwespe)
und nichtparasitäre Einflüsse(Frost, Trockenheit, Herbizide)

–,da sie welkende, verbräunte und vertrocknete Blüten und Triebe hervorrufen und so dem Krankheitsbild des Feuerbrandes ähneln.

Einen ersten Hinweis, um welchen Erreger es sich handelt ist der Übergang von gesunden ins kranke Gewebe. Durch ein flaches Abschneiden kann erkannt werden, ob der Übergang scharf abgegrenzt ist (pilzliche Infektion) oder unscharf, fließend ist (bakterielle Infektion).

Vergleiche:[10]

2.1.5 Wirtspflanzen

Die Wirtspflanzen sind alle Pflanzen aus der Gruppe der „apfelähnlichen“ Rosengewächse.
Das bedeutet: alle Pflanzen die Früchte mit einem Kerngehäuse und einer Fliege entwickeln.

Vergleiche[11]

Alle Wirtspflanzen:

Kernobstgewächse

- alle Arten der Gattung Malus (Apfel)
- alle Arten der Gattung Pyrus (Birne)
- alle Arten der Gattung Cydonia (Quitte)

Zierpflanzen

- Cotoneaster (Steinmispel)
- Mespilus germanica (Mispel)
- Eriobotrya japonica (Wollmispel)
- Pyracantha coccinea (Feuerdorn)
- Photinia davidiana (Stranvaesia davidiana)
- Chaenomeles japonica (Scheinquitte, Feuerbusch).

Wildpflanzen

- Crateegus (Weissdorn)
- Sorbus.

Vergleiche[11]

2.1.6 Taxonomische Klassifikation

Erwinia amylovora ist ein Bakterium aus der Familie der Enterobakterien.
Es hat eine dünne Zellwand und ist gleichmäßig begeißelt, was es ihm ermöglicht sich sowohl epiphytisch als auch endophytisch zu bewegen.
Es ist ein fakultativ anaerobes und stäbchenförmiges Bakterium.

2.1.7 Geschichte

Der Erreger stammt aus Nordamerika. Vor der Einführung der aus Europa stammenden Kernobstgewächsen, siedelte er auf wilden Rosaceen, Malus-Crataegus-, Sorbus- und Amelanchier-Arten. Im ältesten bekannten Buch über den amerikanischen Obstbaum wird Feuerbrand als bedeutendes Problem der Obstproduktion beschrieben. Feuerbrand war auch im 19.Jahrhundert von so großer Bedeutung, dass kein anderes obstbauliches Problem so zahlreich in Publikationen (der USA) erwähnt wurde.
Dennoch wurden zwischen 1817 und 1946 kaum Fortschritte erzielt. Erst 1883 erkannte Burrill, dass es sich um ein Bakterium handelte und erst 1929 gelangen Bekämpfungsversuche mit Bordeauxbrühe jedoch nur des Blütenbrandes („blossom blight“). 1946 und 1948 erfolgten erste Versuche von Rudolph, Leben, und Keitt mit Antibiotika durchgeführt. Besonders gute Ergebnisse erzielten Streptomycinsulfat und Streptomycinnitrat.

2.1.8 Geographische Verbreitung

In den USA:
Nach seiner erstmaligen Entdeckung 1780 in New York breitete sich das Bakterium über die östlichen Regionen der Allegheny Berge, Ohio, Indiana und Illinois (Um 1850) bis hin ins nördliche Mississippital und 1926 bis zum Golf von Texas aus. Bis 1888 blieb das Gebiet westlich der Rocky- Mountains verschont, zwischen 1901 und 1909 kam es in Kalifornien zu starken Epidemien. Der Birnbaumbestand sank im Jahre 1902 um über 90%. Bis 1915 breitete sich der Erreger weiter nordwärts bis nach Kanada aus.

In Kanada:
In der Provinz Ontario wurde Feuerbrand das erste Mal festgestellt. Von 1924 an breitete sich der Erreger in alle Obstbauregionen Kanadas aus.

In Mittel- und Südamerika:
1943 wurde das Auftreten von Feuerbrand in Mexiko erstmals bestätigt. In Südamerika ist nur Chile betroffen (erstmals 1959).

Asien und Neuseeland:
Vermutlich über infiziertes Baumschulmaterial gelang der Erreger um 1903 nach Japan und Asien. 1933 wurde Feuerbrand unter den wirtschaftlich bedeutenden Pflanzenkrankheiten in China aufgenommen. 20 Jahre später wurde auch in Ost-China von der Krankheit berichtet.
In Neuseeland wurde die Krankheit 1919 vor allem auf Weißdorn in der Auckland-Provinz beobachtet. Später griff der Erreger auch auf die Süd-Inseln Neuseelands über.

Europa:
Der erste bestätigte Verdacht einer Infektion mit Feuerbrand kam 1957aus England. Bis 1967 breitete sich der Erreger in England so stark aus, dass das gesamte östliche Gebiet als Feuerbrand-verseucht galt.
1966 konnte Erwinia in Polen und den Niederlanden nachgewiesen werden. Bis 1973 hatte sich das Bakterium Dänemark(1968), Deutschland(1971), Frankreich(1972) und Belgien(1973) vor allem an den Küstenregionen stark ausgebreitet.

>>**Derzeitiger Verbreitungsstand:**

- Europa: Albanien, Belgien, Bosnien-Herzegowina, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Frankreich, Griechenland, Irland, Italien, Kroatien, Slowenien, Liechtenstein, Luxemburg, Mazedonien, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Rumänien, Slowakei, Spanien, Schweden, Schweiz, Serbien, Tschechien, Vereinigtes Königreich, Ungarn, Zypern
- Afrika: Ägypten
- Asien: Armenien, Iran, Israel, Jordanien, Libanon, Türkei
- Amerika: Bermudas, Guatemala, Kanada, Mexiko, USA
- Ozeanien: Australien, Neuseeland<<(aus: [18])

Vergleiche [12]

2.1.9 Gegenmaßnahmen

Feuerbrand ist meldepflichtig. Schon bei einem Verdacht muss die zuständige Behörde informiert werden und es müssen sofort Gegenmaßnahmen ergriffen werden.

Vergleiche[3]

2.1.9.1 Rodung

Nach Bestätigung des Feuerbrandbefalls müssen befallene Pflanzen und Pflanzenteile entfernt werden. Die infizierten Teilstücke müssen mit einem Sicherheitszuschlag (0,5Meter bis 0,7 Meter) abgeschnitten werden. Bei infizierten Niederstämmen ist oftmals eine Rodung unumgänglich. Aber auch bei Befall in Stammnähe muss oft ein Großteil des Baums entfernt werden.

Vergleiche[3]

2.1.9.2 Streptomycin

Streptomycin ist nur in einigen Ländern erlaubt. Grund hierfür ist die eventuelle Resistenzbildung auf der Seite des Bakteriums und der Nachweis von Streptomycin im Honig umliegender Bienenkulturen. Streptomycin ist das wirksamste Antibiotikum, welches Feuerbrand um 80% reduzieren kann.

Der Einsatz von Streptomycin ist außerhalb des Obstbaus verboten. In Deutschland ist die Verwendung ab 2003 im gewerblichen Obstbau zur Bekämpfung von Feuerbrand erlaubt.

2.1.9.3 Andere Mittel

Bei einigen Hefepräparaten, insbesondere „Candida sake“ wurden ähnliche antibakterielle Wirkungen festgestellt. Dennoch besteht erheblicher Forschungsbedarf.

Vergleiche[19]

2.1.9.4 Gentechnik

In den letzten Jahren wurden große Fortschritte in der Genforschung gegen Feuerbrand gemacht. Ein besonderer Teilbereich ist dabei die Transformation. Bestimmte Bakterien (Agrobakterien) können fremde DNA in pflanzliche DNA einschleusen lassen. Dies geschieht stark vereinfacht so:

1 Lingation

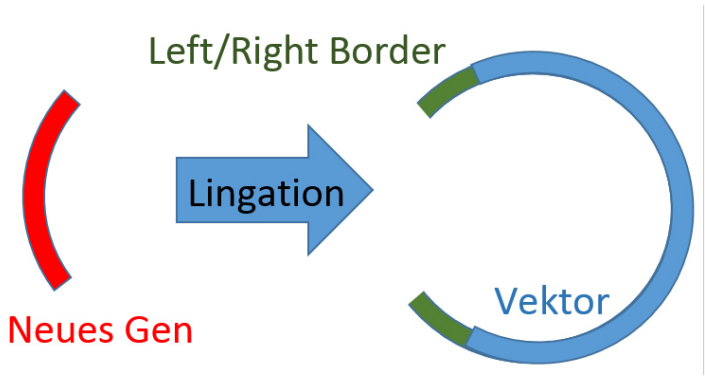


Abbildung 9: Lingation

Das ausgewählte Gen wird zuerst mit vielen anderen Genen Z.B. zur Integration in einen Vektor lingiert.

2 Transformation

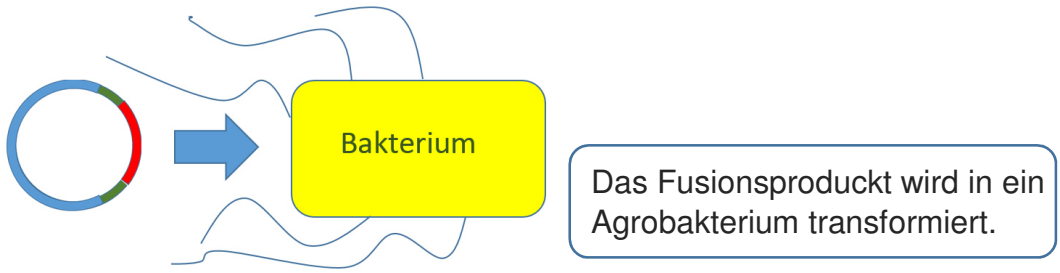


Abbildung 10: Transformation

3 Kontamination

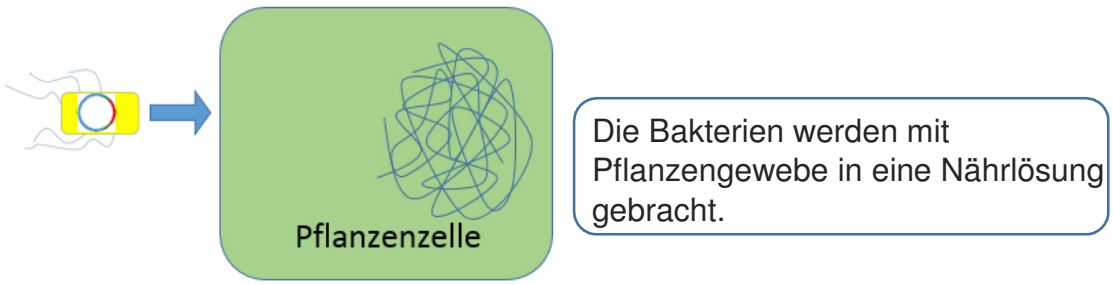


Abbildung 11: Kontamination

4 Integration

Anschließend übertragen die Bakterien Teile der DNA in die Zelle, welche von der Pflanzenzelle in das Pflanzengenom integriert werden.

Bei jeder Zellteilung dieser Zelle entsteht eine neue Zelle mit dem identischen Erbmaterial, also auch dem hinzugefügten Gen.

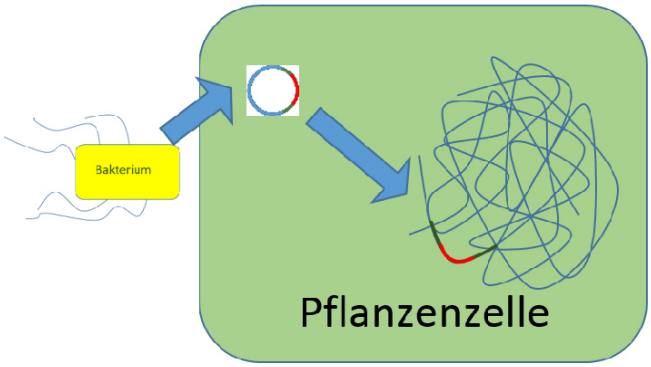


Abbildung 12: Integration

Mit dieser Methode versuchen Wissenschaftler (vergleiche: [1]) resistente Rassen zu züchten. Es gibt einige Sorten wie : ‘Galaxy’ und ‘Pinova’, bei denen ein geringeres Infektionsrisiko festgestellt wurde.

Vergleiche[4]

2.1.9.5 Antagonistische Bakterien

Bisher wurden kaum antagonistisch wirkende Bakterien gefunden. Folgende Bakterien bewirken nur eine geringe Verdrängung des Erwinia amylovora.

„· Pseudomonas fluorescens: A506 (Blight Ban)
· Pantoea agglomerans: (Erwinia C9-1 E 325, PA 252, P10C)
· Rahnella aquatilis: Ra39
· Bacillus subtilis: Serenade WP, BsBD170 (Biopro), FZB 24 WG, Companion
· Paenibacillus polymyxa (Bacillus polymyxa)“

(aus:[19])

2.1.9.6 ätherische Öle

Es wurden einige ätherische Öle bereits getestet:

„· Knoblauch VP-Extrakt (Envirepell)
· Greenstim (Algenextrakt)
· Extrakte aus Efeu, Hanf, Traubenkirsche, Mahonie, Berberitze,
· Aksebio 2 (äth. Öl aus der Thymian-Art Thymbra spicata) “

(aus:[19])

2.2 Erwinia carotovora

2.2.1 Allgemein

Erwinia carotova, der Erreger von Schwarzbeinigkeit und Nassfäule, ist ein stäbchenförmiges Bakterium. Als Hauptwirt zu nennen sind vor allem Kartoffeln und Blumenkohl. Es dringt durch kleine Beschädigungen der Pflanze wie zum Beispiel durch Schnittwerkzeug, Hagel und Insekten etc. in das Pflanzengewebe ein. Bei feuchten Bedingungen und Temperaturen von 25 – 30°C kann sich das Bakterium schnell vermehren. Diese Bedingungen herrschen oft in Lagerstellen von Pflanzen bei mangelhafter Kühlung. Durch seine Abbauprodukte zersetzt es Pflanzenmaterial, von dem es sich auch ernährt.

Vergleiche: [15][17]

2.2.2 Vergleichbarkeit

Erwinia carotovora ist ein gut vergleichbares Bakterium, da es ähnliche Eigenschaften aufweist. Es stammt aus der gleichen Familie: Erwinia, daher ist es stäbchenförmig und begeißelt und kann sich aktiv fortbewegen. Auch die Schädigung der Pflanze erfolgt auf die gleiche Weise: Durch die Stoffwechselprodukte löst sich das Pflanzengewebe auf. Auch die optimale Temperatur liegt ungefähr gleich hoch.

2.3 Auswahl der ätherischen Öle

Wir suchten speziell nach ätherischen Ölen, bei denen die antibakterielle Wirkung bereits nachgewiesen wurde.

2.3.1 Wasserdampfdestillation

Die Wasserdampfdestillation ist ein Verfahren, bei dem unlösliche Stoffe getrennt werden können(z.B. Öle)

2.3.1.1 Geräte

Verwendete Geräte sind:

Liebigkühler
Auffangbehälter
Destilliergerät

2.3.1.2 Verfahren

Um Öle zu destillieren, wird Wasserdampf erzeugt und mithilfe eines Glasrohres in die zu destillierende Probe geleitet. Der Wasserdampf reist einzelne Öl-Partikel mit sich und kondensiert anschließend im Liebigkühler. Das Kondensat fließt in ein Auffangbehälter und sammelt sich dort. Der Behälter ist ebenfalls gekühlt, um eine Verflüchtigung des Destillats zu verhindern.

2.3.1.3 Durchführung

Wir führten das Wasserdampf-Verfahren mit Thymian, Johanneskraut und Kamille durch. Bei der Destillation von Kamille bildeten sich im Liebigkühler blaue Rückstände: Azulen. Da Azulen entzündungshemmend wirkt, entfernten wir es nach Ende der Wasserdampfdestilation, indem wir es in Wasser und Ethanol lösten. Um ätherische Öle aus der Zwiebel zu gewinnen, schnitten und pressten wir diese und extrahierten so Zwiebelsaft.

2.4 Erste Versuchsreihe

2.4.1 Versuchsplanung

Wir wollen die Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber den ätherischen Ölen testen. Hierzu entschieden wir uns für den Hemmhoftest. Somit kann man die Stärke der antibakteriellen Wirkung der Öle ermitteln. Je nach Größe des Hemmhofes unterscheidet man zwischen resistenten, empfindlichen und unempfindlichen Bakterien.
Damit der Test auch reproduzierbar ist, müssen wir folgende Dinge beachten: Wir müssen für alle vergleichbaren Versuche einen einheitlichen Nährboden schaffen. Die größtmögliche Sterilität muss gewährleistet werden. Die Bakterien müssen gleichmäßig auf alle Petrischalen verteilt werden und gleichmäßig auf dem Nährboden verstrichen werden. Daher trafen wir folgende Vorbereitung:

2.4.2 Vorbereitung

Agar-Agar:
Bei der Zubereitung des Agar-Agars orientierten wir uns an den Vorgaben an der Vorgabe der DSMZ [14] Organisation, die diese Kultur mit dem „Medium 1“ aufbereiten. So gaben wir auf einen Liter Wasser 15 Gramm Agar-Agar ,5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs Fleischextrakt.

Aufbereitung der Bakterienkultur:

Da wir die Bakterien als gefriergetrocknete Bakterien vorliegen hatten mussten wir diese zuerst aufbereiten. Auch hier hielten wir uns an die Vorgaben der beigelegten Broschüre. So gaben wir zu den Bakterien(als gefriergetrocknetes Pellet vorliegend) einen Milliliter Nährlösung (pro Liter: 5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs

Fleischextrakt) und ließen das Pellet 30 Minuten quellen. Anschließend verdünnten wir die Lösung mit etwas Nährlösung.

Sterilisierung:

Um die Umgebung möglichst steril zu halten, benutzten wir nur neu verpackte Petrischalen, trugen Handschuhe, flammten sämtliche Metall-Gerätschaften und Pipetten ab und legten den Arbeitstisch mit Alufolie ab. Da die Petrischalen kleine Spalte aufwiesen, besteht die Gefahr einer Kontaminierung durch andere Bakterien. Um dies zu verhindern umwickeln wir die Petrischalen nach dem Beigeben der ätherischen Öle mit Parafilm. Unsere Handschuhe desinfizierten wir regelmäßig mit Ethanol.

Ätherisches Öl:

Da das ätherische Öl leichter als Wasser ist, setzt es sich nach einer gewissen Zeit oben ab. Diese physikalische Gegebenheit nutzten wir und entfernten die Öl-Schicht mit einer Pipette und gaben sie anschließend in ein Urglas.

2.4.3 Ausführung

Zuerst gaben wir 15 Gramm Agar-Agar ,5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs Fleischextrakt zu einem Liter destilliertem Wasser hinzu und erwärmten die Lösung auf einer Heizplatte. Anschließend bereiteten wir die Bakterien auf und ließen diese quellen. Sobald die Agar-Agar-Lösung kochte packten wir die Petrischalen aus und gossen in jede etwas Agar-Agar-Lösung, so dass der Boden mit einer ungefähr vier Millimeter hohen Schicht benetzt war. Sobald diese abgekühlt war, kontaminierten wir die Böden mit den Bakterien, indem wir in jede Petrischale ein Milliliter verdünnte Bakterienlösung gaben. Anschließend verrieben wir den Tropfen mithilfe eines geknickten Glasrohres. Wir gaben die ätherischen Öle über drei verschiedene Varianten dem Nährboden hinzu:

1 mithilfe von kleinem Filterpapier.
Wir schnitten kleine 1mal1 cm große Plättchen aus Filterpapier und legten wiese für zwei Sekunden in die Schalte mit dem jeweiligen ätherischen Öl. Anschließend ließen wir den ersten Tropfen abfallen und legten dann das Plättchen in die Mitte des Nährbodens.

2 mithilfe von großem Filterpapier.

Hier wendeten wir dasselbe Verfahren wie in 1 an, nur dass wir 1,5 cm große Filterpapierplättchen schnitten.

3 als Tropen

Hierzu ließen wir einen Milliliter des Öls in die Mitte der Petrischale tropfen.
So hatten wir 3 mal 5 verschiedene Proben, eine Blindprobe mit nur den Bakterien, eine Blindprobe mit den Bakterien und einem Stück Filterpapier und eine Nullprobe

nur mit dem Nährboden. Alle Petrischalen umwickelten wir anschließend mit Parafilm und stellten sie in den Brutschrank mit der optimalen Temperatur von 25 Grad.

2.4.4 Ergebnisse

Die Ergebnisse konnten nicht ermittelt werden, da der Nährboden nicht richtig fest geworden ist. Die Filterpapierplättchen schwammen in der Nährlösung. Die Bakterien und die ätherischen Öle haben sich mit dem Nährboden vermischt.

2.4.5 Diskussion

Uns fielen schon während der Ausführung Aspekte der Verbesserung auf. Diese wandten wir größtenteils in der 2.Versuchsreihe an:

Agar-Agar:

Der Nährboden war zu flüssig. Wir mussten ein neues Rezept erstellen.

Aufbereitung der Bakterienkultur:

Wir hatten die Bakterien nach Augenmaß verdünnt und uns diese Verdünnung nicht aufgeschrieben mit diesen Hemmhoftest vergleichbare Versuche konnten also im Nachhinein nicht gemacht werden.

Ätherisches Öl:

Die ätherischen Öle konnten nicht genau von dem Wasser mit der Pipette getrennt werden. Das bedeutet sie sind unterschiedlich stark verdünnt und können nicht miteinander verglichen werden. Auch die Wasserdampfdestillation ergab große Qualitätsunterschiede. Darum entschieden wir uns bei Prof. Dr. Oliver nachzufragen und eventuell vom Labor extrahierte Öle zu verwenden.

Sterilität:

Da unsere Nullprobe bis zum 6 Tag keine Bakterien aufwies, konnten wir rückschließen, dass wir den Versuch relativ steril durchgeführt haben. Dennoch kann nicht zu 100% nachgewiesen werden, dass der Versuch steril ist. Die Sterilität ist in der Schule mit schulischen Mitteln nur ein begrenzt erfüllbares Kriterium. Im Ganzen sind wir aber mit der Sterilität des Versuches zufrieden und werden die Maßnahmen beibehalten.

Ausführung:

Die Heizplatte braucht weit über eine Stunde um den Nährboden zum Kochen zu bringen. Die Zeit kann man deutlich verkürzen, indem man das destillierte Wasser vorher in Wasserkochern aufkocht. Es fiel teilweise schwer, das Filterpapierplättchen

genau in der Mitte der Petrischale zu platzieren. Eine Zielscheibe unter der Petrischale könnte dieses Problem beheben. Der gebogene Glasstab war nicht ideal um die Bakterien auf dem Nährboden zu verteilen durch die abgeschnittene Seite wurde der Nährboden leicht aufgerissen und die Bakterien wurden nicht gleichmäßig verteilt. Wir bestellten uns ein Glastrapez um die Bakterien künftig gleichmäßiger zu verteilen. Durch die drei Varianten, die ätherischen Öle aufzutragen hat der Versuch sehr lange gedauert.

Wir entschieden uns nur noch Variante1 für den nächsten Versuch durchzuführen. Die Filterpapiere waren wahrscheinlich nicht steril. Um diese das nächste Mal zu sterilisieren, geben wir sie in einen Brutschrank unter sehr hoher Temperatur. Wir haben die Petrischalen großzügig mit Parafilm umwickelt, sodass ein Blick auf das Innere nur unter teilweisem Entfernen der Parafilmschicht gelingt. Für den zweiten Versuch nehmen wir dünnere Parafilmstreifen. Wir finden sowohl auf dem Nährboden als auch an der Petrischale viel Kondenswasser vor. Bakterien können durch dieses Wasser eventuell mitgerissen werden. So kann das Ergebnis verfälscht werden.

Durch ein Umdrehen der Petrischalen würde sich das Wasser auf dem Petrischalen Deckel sammeln und nicht auf der Oberfläche des Nährbodens. Der Nährboden ist unterschiedlich dick. Dies beeinträchtigt die Lichtdurchlässigkeit und kann dazu führen, dass mehr Bakterien vermutet werden, als tatsächlich da sind und so zu einer Verfälschung der Messdaten kommen. Damit dies künftig nicht mehr passiert wiegen wir die Petrischalen mit der Nährlösung ab, um so überall gleich viel Nährlösung zu verteilen. Wir haben auch viel zu viel Nährlösung angesetzt. Ungefähr ein Drittel der Nährlösung musste entsorgt werden. Da wir dank des Abwiegens der Petrischalen genau errechnen können, wie viel Nährlösung wir brauchen, müssen wir nicht mehr so viel herstellen.

2.5 Zweite Versuchsreihe

2.5.1 Versuchsplanung

Wir wollten den Hemmhoftest ein weiteres Mal ausführen, und diesmal aus den begangenen Fehlern lernen. Daher haben wir bei der Vorbereitung viele Sachen und Vorgänge optimiert.

2.5.2Vorbereitung

Agar-Agar:
Da der Nährboden des letzten Versuches nicht fest geworden ist, führten wir erst Experimente zur perfekten Nährbodenherstellung durch. Wir fanden drei unterschiedlich alte Packungen Agar-Agar und geben diese unterschiedlich konzentriert in Wasser: Medium1: 15 Gramm Agar-Agar ,5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs Fleischextrakt; Medium2: 10 Gramm Agar-Agar ,5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs Fleischextrakt und Medium 3: 20 Gramm Agar-Agar ,5 Gramm Pepton und 3 Gramm Liebigs Fleischextrakt. So kamen wir auf 3mal3 Böden. Der

weißeste Boden war der, der neusten Agar-Agar-Packung. Und das beste Medium war Medium 1. Nach dessen Rezept stellten wir die Nährböden her.

Aufbereitung der Bakterienkultur:

Auch hier hatten wir dazugelernt, sodass wir die Bakterien im Verhältnis 25 zu 1 mischten.

Sterilisierung:

Da die Nullprobe steril geblieben ist, entschieden wird uns identische Vorkehrungen wir bei der 1.Versuchsreihe zu treffen.

Parafilm:

Die Parafilmstreifen verdeckten bei unserem vorherigen Versuchen die Rückseite der Petrischalen. Um dies zu unterbinden schnitten wir die Streifen dünner, dafür aber länger.

Vergleichbarkeit:

Bei unserer vorherigen Versuchsreihe ist es uns schwergefallen, die Filterpapierstückchen genau in die Mitte der Petrischale zu legen. Damit dies zukünftig leichter vonstattengeht, druckten wir auf Papier eine Art Zielscheibe aus, die wir unter die Petrischalen legen konnten. So können wir die Hemmhöfe untereinander besser vergleichen.

Hemmhofmessung:

Wir entschieden uns, den Hemmhof alle 24 Stunden zu messen. Jeweils um ca. 13:00. Zu dieser Zeit konnten wir immer messen, da zu dieser Zeit die Mittagspause unserer Schule beginnt. Da die Bakterien nur schwer sichtbar (matter Nährboden) sind, fotografierten wir die Petrischalen sowohl auf schwarzem, als auch auf weißem Hintergrund. Zusätzlich zeichneten wir den äußeren Rand des Hemmhofes mit einem farbigen Stift nach.

Brutschrank:

Wir mussten die Nährböden so schnell wie möglich abdichten, um die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination möglichst gering zu halten. Dabei war der Nährboden oft noch warm. Dies führte dazu, dass sich Tau an dem Deckel der Petrischale sammelte und hinuntertropfte. Diese Tropfen verschieben Bakterien und erzeugen so Unregelmäßigkeiten. Um dies zu umgehen, stellten wir die Petrischalen auf den Kopf, sodass kein Dunsttropfen auf den Nährboden fällt.

Ätherisches Öl:

Wir nahmen diesmal kein selbst-destilliertes ätherisches Öl, sondern eine spezielle Auswahl von Prof. Dr. Oliver Planz, diese bestehend aus 14 verschiedenen ätherischen-Öl-Extrakten. Diese verdünnten wir mit 10 Milliliter Wasser pro Gramm.

Liste der Ätherischen Öle

Extrakt Nr.	**Lateinischer Pflanzenname** **Pflanzenteil**	**Auszugsmittel**	**DEVnativ**	**Innere Zusammensetzung**
1	Thymus vulgaris Thymiankraut	Ethanol 70% (V/V)	4 : 1	80% nativer Extrakt 17% Glucose-Sirup sprühgetrocknet 3% Siliciumdioxid hochdispers
2	Salvia officinalis Salbeiblätter	Wasser	7 : 1	50% Extrakt 50% Siliciumdioxid wassergefällt
3	Matricaria chamomilla Kamillenblüten	Ethanol / Wasser	5 : 1	Ca. 50% Kamillen Extrakt ca. 50% Maltodextrin
4	Cinnamomum cassia Zimtrinde	Wasser	19 : 1	50% nativer Extrakt 50% Mikrokristalline Cellulose
5	Pelargonium sidoides Pelargonienwurzel	Ethanol 11% (M/M)	8 : 1	70% nativer Extrakt 30% Maltodextrin
6	Cistus creticus eriocephalus Zistrosenkraut	Wasser	5 : 1	70% nativer Extrakt 28% Maltodextrin 2% Siliciumdioxid hochdispers
7	Cistus creticus eriocephalus Zistrosenkraut	Ethanol 40% (V/V)	13 : 1	100% nativer Extrakt

8	Vitis viniferae Rotes Weinlaub	Wasser	5 : 1	80% nativer Extrakt 17% Glucose-Sirup sprühgetrocknet 3% Siliciumdioxid hochdisperse
9	Artemisiae dracunculi russisches Estragonkraut	Wasser	3 : 1	70% nativer Extrakt 30% Maltodextrin
10	Vitis viniferae Traubenkerne	Aceton / Wasser Ethylacetat	75 : 1	100% nativer Extrakt
11	Thymus vulgaris Thymiankraut	Wasser	4 : 1	40% native Extrakt 60% Maltodextrin
12	Menthae x piperitae Pfefferminzblätter	Ethanol 60% (V/V)	3 : 1	70% nativer Extrakt 27% Maltodextrin Ph. Eur. 3% Siliciumdioxid hochdispers
13	Allii cepae Zwiebel	Wasser	1 : 2	100% nativer Extrakt
14	Achillea Millefolium Schafgarbenkraut	Wasser	7 : 1	70% nativer Extrakt 30% Maltodextrin

Abbildung 13: Liste der ätherischen Öle

2.5.3 Ausführung

Als erstes bereiteten wir den Nährboden nach dem neuen Rezept zu. Da die Heizplatte das Wasser nur sehr langsam erwärmt, Gaben wir das destillierte Wasser zuerst in einen Wasserkocher, ließen es kochen und anschließend in einen Behälter auf der Heizplatte, welcher die Lösung zusätzlich mit einem Rührtisch vermischte. Darauffolgend bereiteten wir die Bakterienlösung vor und gaben in jede Petrischale exakt 25 Gramm Nährboden. Den restlichen Anteil der Lösung gossen wir in eine weitere Petrischale. Anhand dieser konnten wir ermitteln, wie warm und fest der Nährboden war. Sobald dieser fest-geleeartig war und auf Zimmertemperatur abgekühlt war, kontaminierten wir alle Petrischalen mit einem Milliliter aus der verdünnten Bakterienlösung und verstrichen diese mithilfe eines Glastrapezes gleichmäßig auf der Nährbodenoberfläche.

Diesmal wandten wir nur eine Variante an, um die ätherischen Öle aufzutragen: Wir schnitten aus Filterpapier 1mal1 cm große Stückchen, legten diese für zwei Sekunden in die ätherischen Öle, ließen sie einmal abtropfen und legten sie anschließend in die Mitte der Petrischale. Mithilfe einer sich unter der Petrischale befindenden Schablone konnten wir die Filterpapierstückchen genau in die Mitte platzieren.

Zu den 14 Proben mit ätherischen Ölen fertigten wir noch drei Blindproben an: BP1 Infizierten wir nur mit Erwinia-Bakterien um das Wachstum der Bakterien ohne ätherische Öle zu bestimmen, und so besser die Wirkungen der ätherischen Öle abzugrenzen. BP2 kontaminierten wir auch mit den Bakterien, gaben aber zusätzlich noch ein normales Filterpapierplättchen hinzu. So konnten wir nachweisen, dass das Filterpapier keinen Einfluss auf das Bakterienwachstum hat.BP3 wurde nicht kontaminiert. So konnten wir erkennen, wie steril wir gearbeitet haben. Je später sich hier Kulturen bilden, desto steriler war unsere Versuchsumgebung. .Anschließend umwickelten wir die Außenseite der Petrischalen mit Parafilm und legten sie kopfüber in den Brutschrank. Alle 24 Stunden fotografierten wir die Unterseite der Bakterien und markierten den Hemmhof mit einem Strich an der Sichtbaren Außenkante des Hemmhofes.

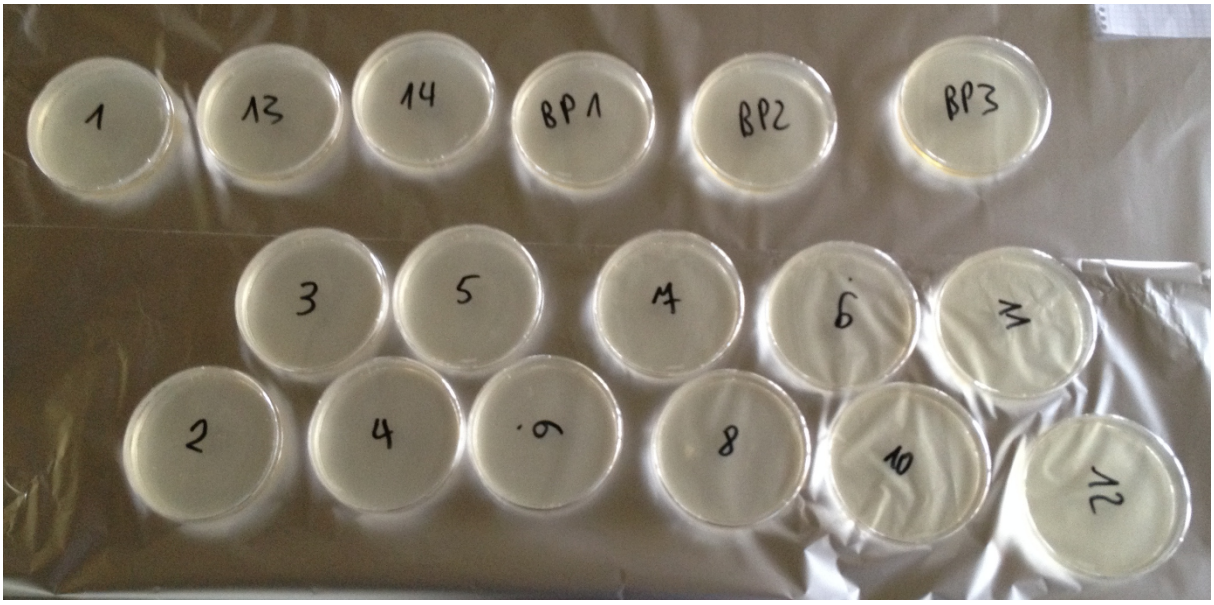


Abbildung 14: Petrischalen

2.5.4 Ergebnisse

Vorbemerkung:
Zur besseren Lesbarkeit kürze ich die jeweiligen ätherischen Öle mit der Extrakt Nummer ab (nachzulesen in der Tabelle siehe oben). Die eingezeichneten Farben entsprechen der äußeren Grenze des Hemmhofes. Rot kennzeichnet den 2 Tag, gelb den 3. und blau den 4. Die Farben wurden kurz nach dem Foto aufgetragen.

2.5.4.1 Blindproben

BP1:

Die Blindprobe eins entwickelte sich wie wir es vermutet hatten. Von Tag 1 an verbreiteten sich die Bakterien gleichmäßig über die ganze Fläche. Es sind bis zum 7. Tag keine Unregelmäßigkeit erkennbar. Nur an den Randbereichen gibt es ein vermindertes Bakterienwachstum. Dies führen wir auf die unregelmäßige Verteilung der Bakterien mit dem Glastrapez zurück. Die abgerundeten Ecken des Glastrapezes reichen nicht in die kantigen Ecken der Petrischale. So entsteht eine kleine nicht kontaminierte Fläche.

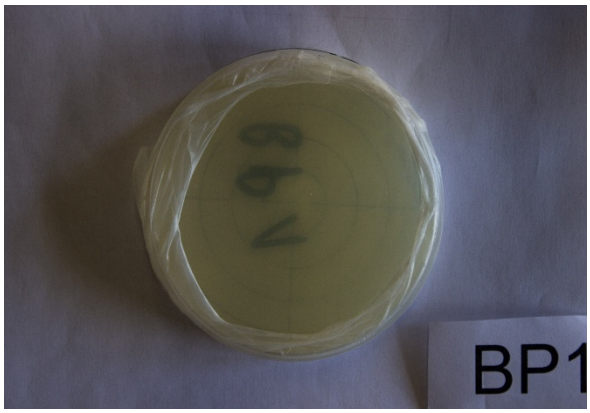


Abbildung 15:BP1 Tag 7

BP2:

Die Bakterien der Blindprobe 2 entwickelten sich weitestgehend so wie die der BP1. Dies deutet darauf, dass das Plättchen keinen Einfluss auf das Bakterienwachstum hat. Daher kann die eventuell auftretende antibakterielle Wirkung ganz den ätherischen Ölen zugeschrieben werden. Auffällig hierbei war jedoch, dass ein Bakterienfreier Raum entfernt von dem Bakterium auftrat. Hier grün eingezeichnet.

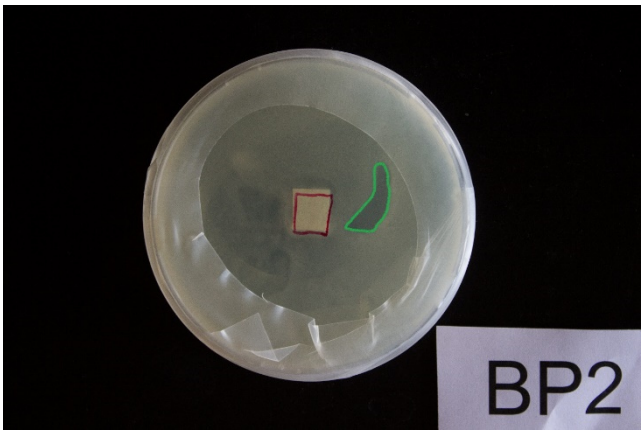


Abbildung 16: BP2 Tag 3 Bearbeitet

Dieses Phänomen bezeichne ich als Prof. Dr. Oliver Planz. Es wird in den folgenden Texten noch genauer erklärt.

BP3:

Bis zum 2.Tag war kein Anzeichen von irgendwelchen Bakterien oder Pilzen erkennbar. Die Probe war weitestgehend steril.

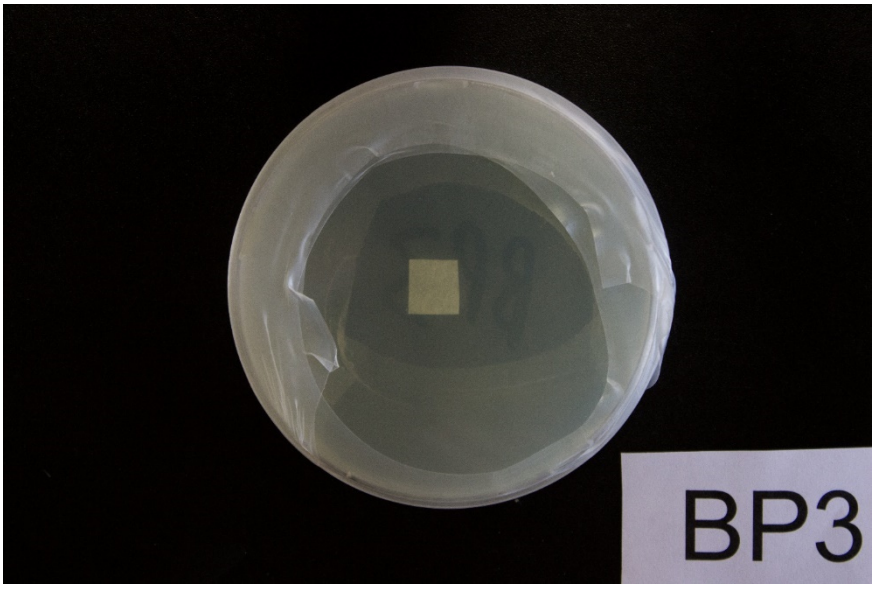


Abbildung 17: BP3 Tag 2

Erst ab Tag 4 wurden Bakterien sichtbar. Hier grün umrandet.:

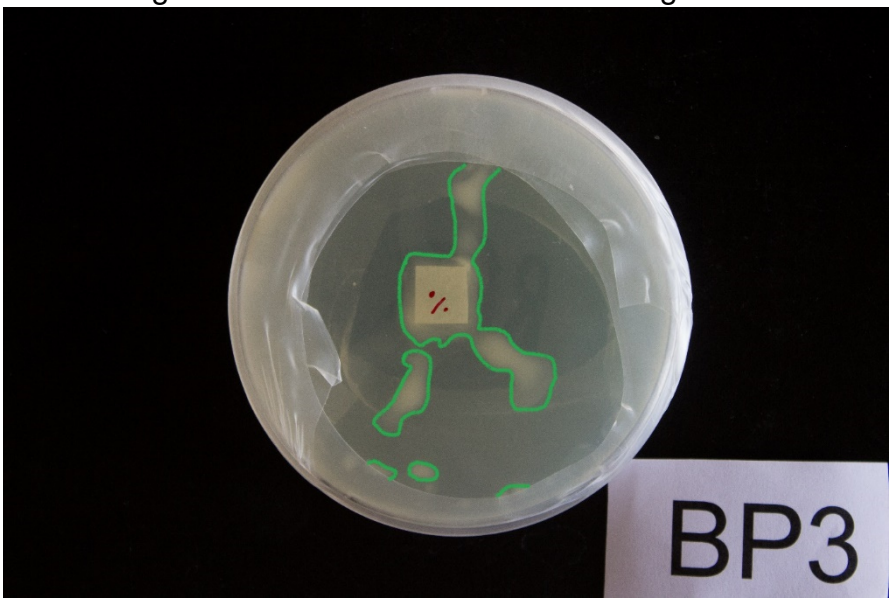


Abbildung 18:BP3 Tag 3 Bearbeitet

Erkennbar ist, dass die Erreger von dem Plättchen und von eigenen Brandherden ausgingen. Die äußeren kleineren Bakterienkulturen sind höchstwahrscheinlich über die Luft oder kleine Staubpartikel in die Petrischale gelangt. Dort waren sie vorher nicht sichtbar, da die Kulturen noch nicht groß genug waren, um von uns erfasst zu werden. Die Bakterien in der Nähe des Filterpapierplättchens stammen wahrscheinlich von diesem oder dem destillierte Wasser. Das Plättchen konnte nur mäßig desinfiziert werden. Wir konnten es weder abflämmen, noch mit Ethanol desinfizieren. Daher legten wir es für ein paar Minuten bei 70°C in den Brutschrank. Bakterien, die diese Temperatur überlebten, wurden anschließend auf den Nährboden übertragen. Aber auch durch das destillierte Wasser, welches wir auf das Plättchen auftrugen konnten die Bakterien in die Petrischale gelangen. Bis zum Tag 7 breiteten sich die Bakterien konstant aus.

2.5.4.2 Ätherische-Öl-Proben

Die Ergebnisse kann man grob in sechs Kategorien zusammenfassen:

1 nicht wirksam:

Bei den Proben 5 und 14 kann an keinem Tag einen Hemmhof erkennen. Es liegt keine antibakterielle Wirkung gegen Erwinia carotovora vor. Die Kandidaten 5 und 14 scheiden direkt aus.

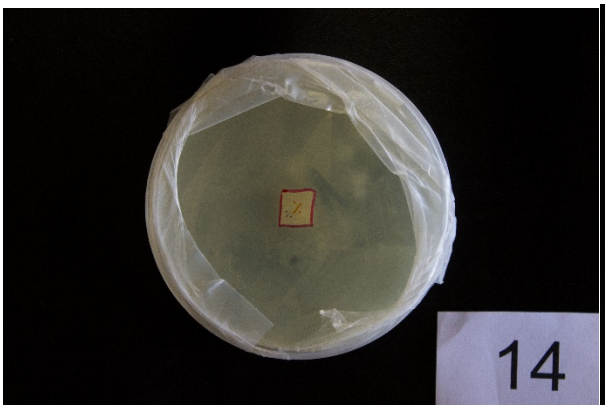


Abbildung 19:Probe 5 Tag3

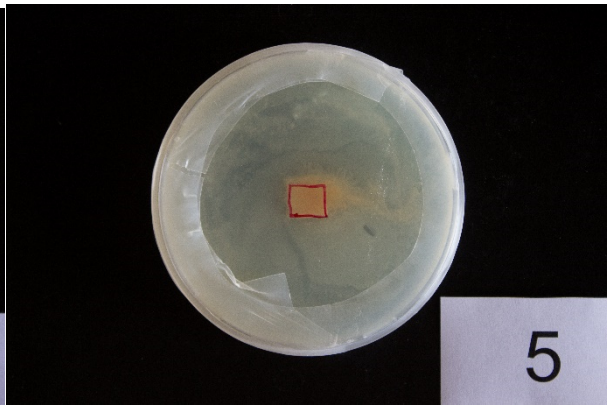


Abbildung 20:Probe 14 Tag3

2 konstant hemmend

Bei den Proben 1 und 7 blieb die Größe des Hemmhofes größtenteils konstant.

Besonders gut bei Probe 1 zu erkennen ist die geringe, aber andauernde antibakterielle Wirkung gegen Erwinia Amylovora. Probe 7 hatte schon nach dem ersten Tag einen großen Hemmhof, dieser verdoppelte sich in den folgenden Tagen noch. Zistrosenkraut scheint eine starke Wirkung gegen den Feuerbranderreger zu haben.

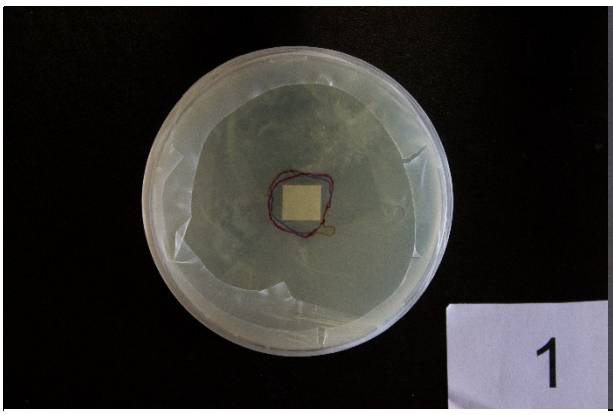


Abbildung 21:Probe 7 Tag 7

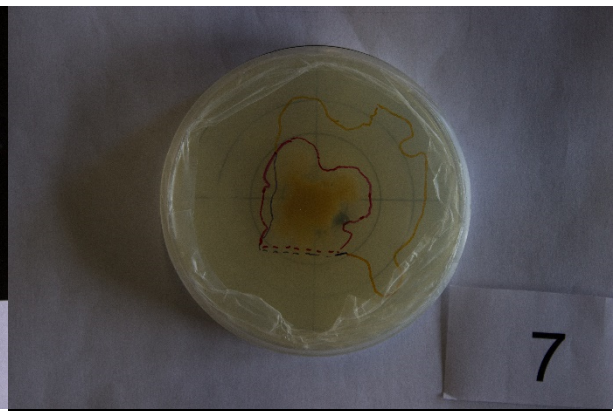


Abbildung 22: Probe 1 Tag7

3 abnehmend hemmend

Die größte Anzahl der Proben ist zwar hemmend, die Wirkung nimmt jedoch schon nach einigen Tagen ab.

Diese drei Proben kann man jedoch noch einmal in ihrer Stärke unterscheiden:

Die schwächste Wirkung hatten Probe 12 und Probe 3. Schon nach zwei Tagen konnte keine antibakterielle Wirkung mehr festgestellt werden. An zweiter Stelle steht Probe Nummer 8: nach dem 2. Tag konnte noch eine schwache antibakterielle Wirkung festgestellt werden. Als zweitbeste wirkte Probe 9, welche auch nach dem 2.Tag einen nennenswerten Hemmhof aufwies. Die am längsten anhaltende antibakterielle Wirkung erzielte Probe 10. Der Hemmhof war am ersten und letzten Tag der größte aus seiner Kategorie.

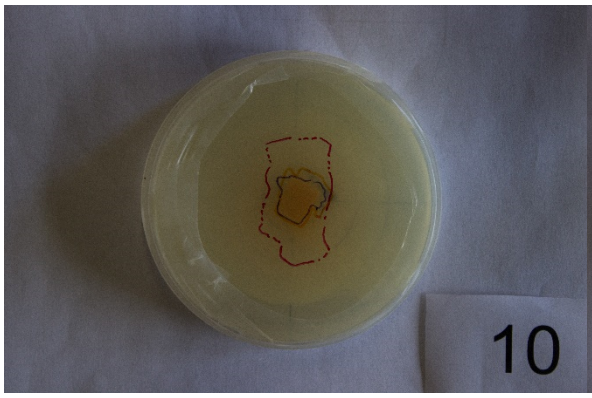


Abbildung 23:längst anhaltende Wirkung

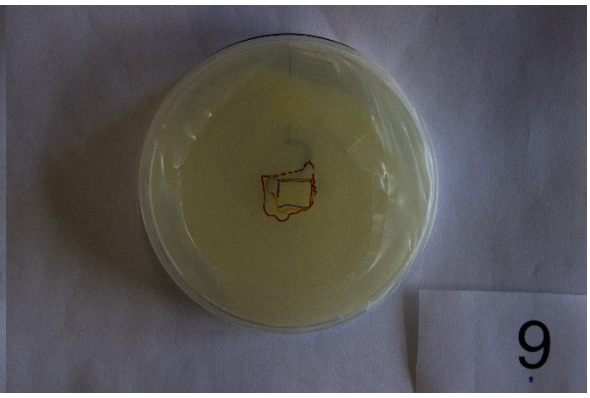


Abbildung 24:geringste antibakterielle Wirkung

Auch zu nennen ist Probe 13, welche nur einen Tag lang die Bakterien hemmt.

Der an den folgenden Tagen vorliegende Hemmhof bildet sich nicht wie erwartet um das Plättchen sondern um eine eigenständige Fläche (vgl. Bild).

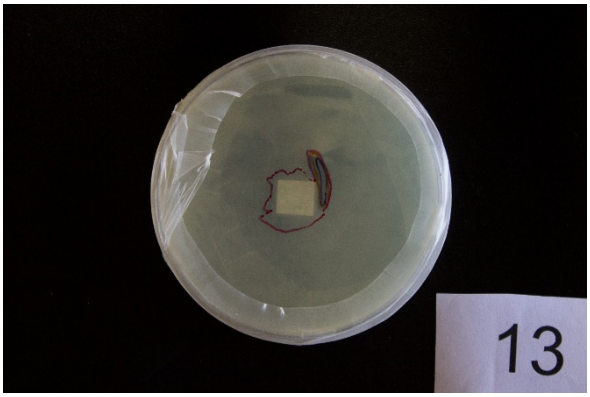


Abbildung 25:Probe 13 Tag 7

4 zunehmend hemmend

Bei Probe 2 und 4 wuchs der Hemmhof. Anscheinend wirken diese Proben hemmend. Die Bakterien konnten an den Ersten Tagen gut wachsen, wurden aber schon bald von dem ätherischen Öl zurückgedrängt.

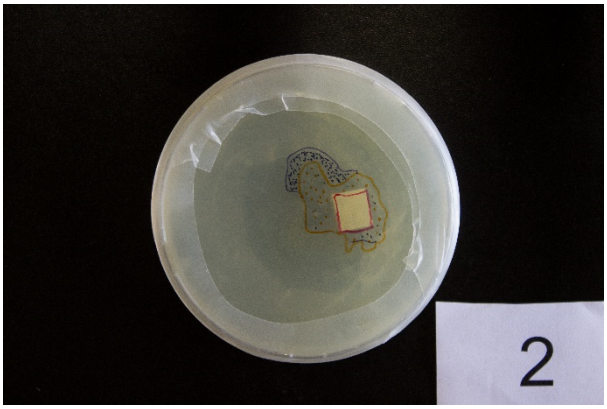


Abbildung 26: Probe 2 Tag 7

5 Probe 11

Probe 11 besteht aus einem nur sehr kurz wirkendem Öl. Es brauch wie die Proben 2 und 4 viel Zeit um zu wirken, doch im Gegensatz zu diesen, verliert es schnell wieder an Wirkung.

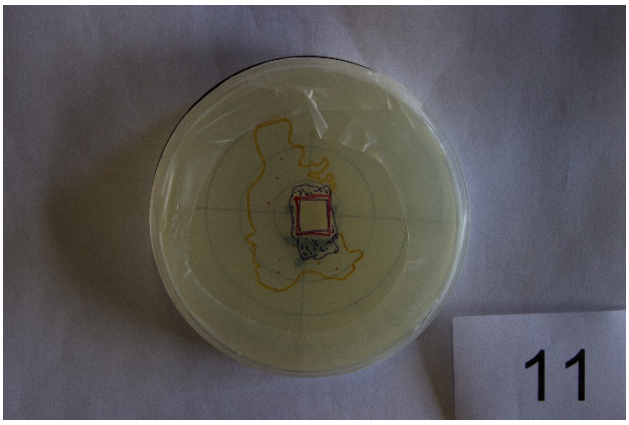
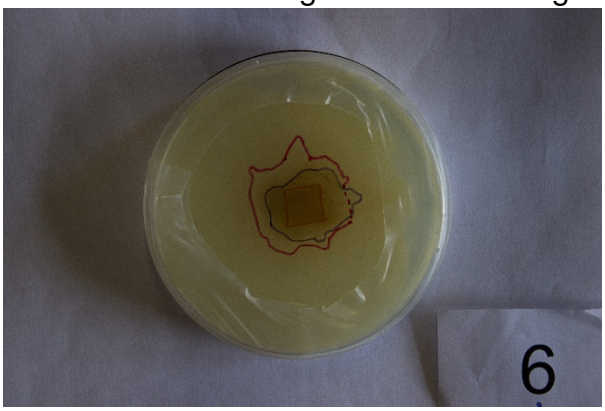


Abbildung 27:Probe 11 Tag 7

6 Probe 6

Probe 6 lässt am ehesten auf einen Messfehler deuten. Am 2. Tag ist der Hemmhof am größten, verschwindet am Folgetag ganz und erreich ungefähr die Hälfte der Größe des ersten Tages. An dem 3.Tag wurde die Probe nicht korrekt gemessen.



Streptomycin

Als Vergleich verwendeten wir eine Probe mit einer Streptomycin-Penicillin-Mischung. Diese blieb bis zum letzten Tag fast erregerfrei. Nur an den Randstellen bildeten sich einige Bakterienkulturnen.

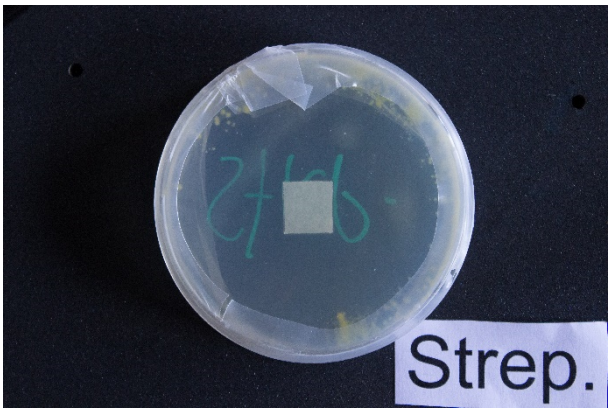


Abbildung 28: Strep. Tag 7

2.3.5 Diskussion

Wir haben diesen Versuch so reproduzierbar wie möglich gemacht. Dennoch war dir Ausführung durch die schulischen Möglichkeiten stark eingeschränkt. So konnten wir für keine große Sterilität sorgen, da wir z.B. in Klassenräumen Versuche durchführen mussten. Auch die Sauberkeit der Gerätschaften hielt sich in Grenzen. Ich suchte zwar stets die saubersten Geräte heraus, doch oftmals wiesen selbst diese Rückstände vorheriger Versuche. Ein weiterer Punkt, der gegen die Reproduzierbarkeit spricht ist das Auftragen der Bakterien. Wie schon in den Ergebnissen erwähnt bleiben die Räder oder einzelne Stellen in der Mitte bakterienfrei. Optimal würden man die Bakterien mit einem Speziellen Gerät oder einen Roboter auftragen lassen. Auch die Nährböden waren nicht optimal. Die Bakterienkulturen sind nicht gut zu erkennen. Diese wären auf einem roten Nährboden besser zu erkennen. Ein Weiterer Punkt wurde bereits in der Diskussion von der Ersten Versuchsreihe angesprochen: das Kondenswasser. Viele Hemmhöfe gehen auf dieses Phänomen zurück. Die Bakterien werden durch Kondenswasser verschoben, haben

schlechtere Wachstumsbedingungen und die ätherischen Öle werden durch das Kondenswasser unregelmäßig verteilt. In einem sterilen Labor hätten man die Nährböden zuerst abkühlen lassen und anschließend verschlossen. Da aber die Gefahr einer Kontamination der Nährböden mit anderen Bakterien oder Pilzen während der Abkühlzeit hoch ist, waren wir gezwungen die Deckel sofort nach dem Befüllen der Petrischalen zu verschließen. Dieser Effekt der Bakterienverschiebung wurde noch dadurch verstärkt, dass wir jeden Tag die Bakterien aus dem Brutschrank unter die Kamera Bewegen mussten. Im Optimalfall würde man die Kamera in den Brutschrank stellen. Nicht zu unterschätzen ist auch das Problem der echten Erwinia Amylovora-Bakterien. Wir müssen für ein sicheres Ergebnis die ätherischen Öle an dem zu bekämpfenden Bakterium testen. Diese Versuche sind nur ein Hinweis darauf, welche Öle sich als Wirksam erweisen könnten.
Auch dass es einige Ergebnisse gab, welche auf dem ersten Blick keine Erklärung boten, zeigt, dass der Versuch noch optimierungsbedürftig ist, er muss mehrmals wiederholt werden, sodass signifikante Ergebnisse bestehen.

2.6 Dreipunkteprogramm

Zur effektiven Bekämpfung nach der Infektion von Erwinia amylovora habe ich ein 3 Punkte Programm entwickelt.

2.6.1 Erste Planung

Da die einzigen Möglichkeiten der Bekämpfung aus Streptomycin und Rodung bestehen, wollte ich ein deutlich besseres Programm zur Bekämpfung von Feuerbrand entwickeln. Da beim Entfernen der befallenen Stellen oft der gesamte Baum gerodet werden muss, sollte die neue Möglichkeit den Erreger an dem Baum bekämpfen. Auch sollte der Baum selbst gegen den Erreger kämpfen können, um so im Folgejahr eine Immunität gegenüber Feuerbrand aufgebaut zu haben. Die neue Methode sollte auch großflächig einsetzbar sein, um so ganze Felder von kontaminierten Pflanzen zu heilen.

Daher teilte ich den Plan in drei Punkte:

Zuerst soll ein Großteil der Bakterien vernichtet werden, um den Baum nicht absterben zu lassen. Auch soll durch die Vernichtung der Erreger dem Immunsystem des Baumes eine reale Chance geben, die überbleibenden Bakterien selbst zu bekämpfen. Der ideale Zeitraum der Bakterienvernichtung liegt im Winter. Dann zieht sich das Bakterium in die äußeren Randzonen der Canker zurück. Die Bakterien sind durch die Temperatur geschwächt und können sich nicht mehr stark vermehren oder andere Pflanzen befallen. Es gibt auch keine Bakterien außerhalb der Bäume, da die Bakterien den Winter nur in Bäumen überwintern können. Wenn man jetzt aktiv ein Präparat auf die Randstellen der Canker gibt, tötet man einen Großteil der Bakterienkultur. Der restliche Teil der Bakterien befindet sich in Den Wassergefäßen des Baumes.

Als zweites sollt die Verbreitung stark eingedämmt werden, damit der Aufwand der Bekämpfung möglichst gering gehalten wird. Und der Erreger nicht noch zusätzliche Bäume befällt. Eine Abschottung der Infizierten Teile zur Außenwelt und vor allem zu Insekten muss gewährleistet werden.

Als drittes muss das Immunsystem des Baumes gestärkt werden, damit es auch gut gegen die Bakterien ankämpfen kann.

2.6.2 Zusammenstellung

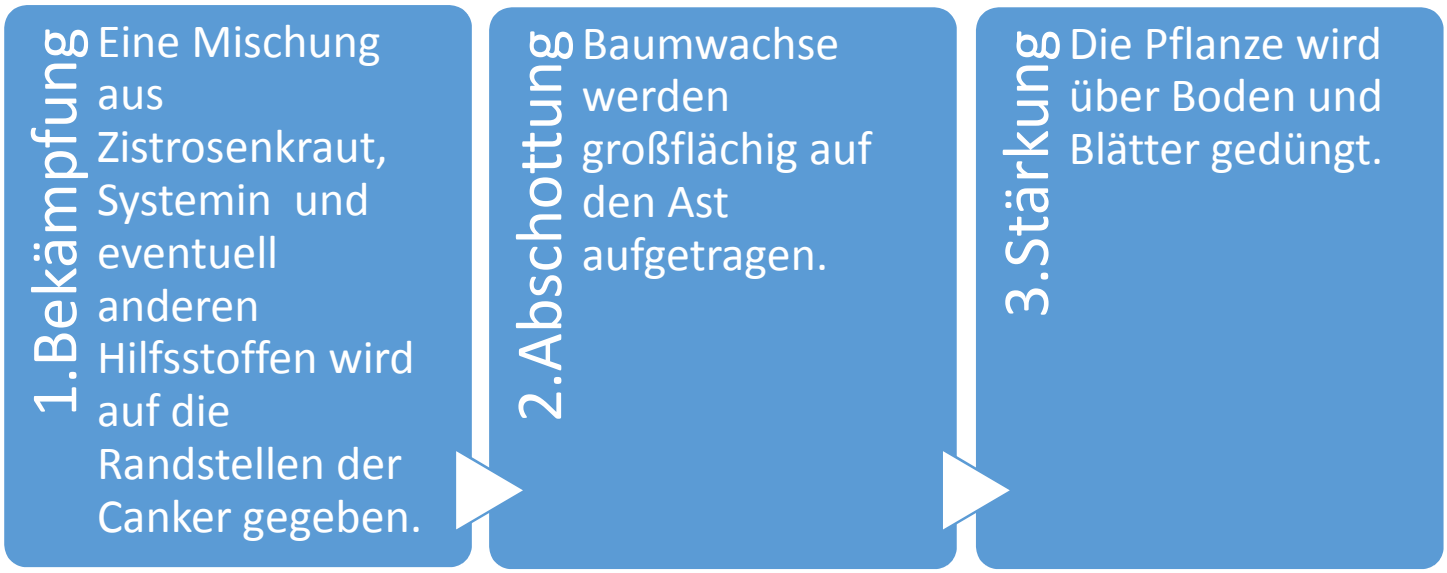
Teil 1 des Planes könnte durch ein ätherisches Öl umgesetzt werden. Es tötet die Bakterien des Cankers. Durch ein einfaches Aufsprühen, sollte das Präparat in die Pflanze eindringen. Die Rinde ist kein Schutzschild mehr, da sie an vielen Stellen aufplatzt. Alle anderen Barrieren der Pflanze, z.B. Wachsschicht etc. sind bereits von den Bakterien vernichtet. So kann das ätherische Öl ungehindert zu den Bakterien vordringen. Besonders eignen würde sich hierfür Zistrosenkraut. Es ist konstant über mehrere Tage wirksam und tötet so die meisten Bakterien ab. Ergänzt konnte dies Präparat noch mit einem Botenstoff für die Bakterien. Dadurch würden die Bakterien noch aus weiter entfernten gebieten zu dem ätherischen Öl laufen. Systemin könnte einer dieser Botenstoffe sein. Er bildet sich bei Verletzung von Pflanzenteilen. Viele Bakterien werden durch ihn angelockt, um so über die Wunde in das Pflanzengewebe einzudringen. Ein weiterer Vorteil von Systemin ist, dass es ein Pflanzlicher Botenstoff ist, und so die Wundheilung einleitet, falls diese noch nicht vollständig von den Bakterien unterdrückt wurde.

Teil 2 könnte durch Baumwachse umgesetzt werden. Diese gibt es im Einzelhandel zu erwerben. Die Wachsschicht um den Ast herum hindert den Bakterienschleim.

Teil 3, die Pflanzenstärkung kann hier auf zwei Arten umgesetzt werden: Zum einen darf die Pflanze nicht durch andere Eingriffe geschädigt werden (andere Bakterien, Pilze oder Parasiten), zum anderen soll die Pflanze gestärkt werden. Der erste Punkt lässt sich nur durch sorgfältige Pflege oder Pestizide umsetzen. Der zweite Punkt durch spezielle Düngemittel. Da die Meisten Pflanzen schon gedüngt werden, würde sich eine Zusätzliche Blattdüngung anbieten. Diese bietet mehrere Vorteile. Da die Feuerbrand-Erreger die Wasserkanäle der Pflanze abschneiden, und somit auch die Mineralzufuhr kann diese weiter gewährleistet werden. Abgeschottete Teilbereiche, wie z.B. einzelne Äste können am Leben erhalten werden. Über die große Fläche der Blätter können vergleichsweise viele Nährstoffe in geringer Zeit aufgenommen werden. Durch die Vielen Nährstoffe wird u.a. das Immunsystem der Pflanze gestärkt.

Vergleiche: [20][21][22]

2.6.3 Der fertige Plan



2.6.4 Diskussion

Diese Arte der Feuerbrandbekämpfung ist sehr aufwendig, im Vergleich zu anderen Methoden aber umweltschonender. Der größte Vorteil besteht darin, dass die Pflanze im Folgejahr immun ist. Es besteht ein deutlich geringeres Risiko erneut mit Feuerbrand infiziert zu werden.

3 Fazit

Feuerbrand ist eine nicht zu unterschätzende Pflanzenkrankheit.

Es muss noch viel über diese Krankheit in Erfahrung gebracht werden, und eine umweltverträgliche, effektive, kostengünstige und gezielt wirkende Behandlung gegen Feuerbrand erforscht werden.

3.1 Persönliche Erkenntnisse, Kritische Rückschau

Aus den Versuchen habe ich gelernt, dass man stets die größt mögliche Sterilität einhalten muss, um solche Versuche reproduzierbar gestalten zu können. Es erfordert viel Planung und Timing so viele Proben in der kurzen Zeit der Mittagspause anzufertigen.

4 Anhang

4.1 Quellen

4.1.1 Inhaltsquellen

[1]: Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft.

http://feuerbrand.jki.bund.de/

http://feuerbrand.jki.bund.de/

[2]: Autonome Provinz Bozen Südtirol- Abteilung Landwirtschaft

http://www.provinz.bz.it/de/default.asp

http://www.provinz.bz.it/landwirtschaft/themen/feuerbrand.asp

[3]: Michael Vermeulen

http://www.feuerbrand.de/feuerbrand/

http://www.feuerbrand.de/feuerbrand/feuerbrand/allgemein.html

[4]: Julius Kühn-Institut-Prof. Dr. Wilhelm Jelkmann

http://feuerbrand.jki.bund.de/

http://feuerbrand.jki.bund.de/index.php?menuid=28

[5]: EPPO

(European and Mediterranea Plant Protection Organisation)

http://www.eppo.int/

http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Erwinia_amylovora/ERWIAM_ds.pdf

[6]: Institut für Pflanzenschutz - Dr. Helmut Tischner

http://www.lfl.bayern.de/

http://www.lfl.bayern.de/ips/kleingarten/035205/

[7]: Christian Hannemann

http://www.karteikarte.com

http://www.karteikarte.com/card/899197/feuerbrand-infektionswege-3

[8]: Advanco GmbH - **Marcel Klitzsch**

http://www.hausgarten.net/

http://www.hausgarten.net/pflanzenschutz/krankheiten/feuerbrand-symptome.html

[9]: ARBOFUX

http://www.arbofux.de/index.html

http://www.arbofux.de/feuerbrand.html

Allgemein ausführlich

[10]: Hochschule Weihenstephan-Triesdorf - Prof. Dr. h.c. Hermann Heiler

http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/informationen/p_23285.pdf

Symptome, verwechselubngsmöglichkeiten, erkennung abgrenzung

[11]: Kanton Nidwalden

http://www.nw.ch/de/

http://www.nw.ch/dl.php/de/0cjk9-xfui3h/Feuerbrand-Wirtspflanzen.pdf

[12]: Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft – Dr.Wolfgang Zeller (1974)

Seite 11 bis 22

http://www.bba.de/veroeff/mitt/pdfs/mitt158.pdf

[13]: Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft – Dr.Wolfgang Zeller (1974)

http://www.bba.de/veroeff/mitt/pdfs/mitt158.pdf

[14]: Leibniz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von

Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

http://www.dsmz.de/

http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium1.pdf

[15]: Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft.

http://www.hortipendium.de/Willkommen_bei_Hortipendium

http://www.hortipendium.de/Erwinia_carotovora

[16]: UniProt

http://www.uniprot.org/

http://www.uniprot.org/taxonomy/29471

[17]: MicrobeWiki

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/MicrobeWiki

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Erwinia_carotovora

[18]: Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI) Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit

http://pflanzengesundheit.jki.bund.de/

http://pflanzengesundheit.jki.bund.de/index.php?menuid=60&reporeid=230

[19]: Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Westerwald-Osteifel, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Eifel, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Mosel, Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen-Nahe-Hunsrück und Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Westpfalz.

http://www.pflanzenschutz.rlp.de/Internet/global/inetcntr.nsf/dlr_web_full.xsp?src=RHIX494MBJ&p1=B5SY910TWX&p3=40L256730S&p4=98Q87H66RX

http://www.pflanzenschutz.rlp.de/Internet/global/themen.nsf/211702bf9d526db3c125708a00564840/157741db7c0b2244c1256f580033776b?OpenDocument

[20]: Genossenschaft für umweltgerechtes Leben

http://www.aevu-europe.com/

http://www.aevu-europe.com/ziel-7.html

[21]: Universität Ulm

https://www.uni-ulm.de/

https://www.uni-ulm.de/uploads/media/Phytohormone05.pdf

[22]: Advanco GmbH

http://www.hausgarten.net/

http://www.hausgarten.net/pflanzen/baumlexikon/wundverschluss-bei-baeumen.html

4.1.2 Bildquellen

Abbildung 1:Erwinia Amylovora:

http://classconnection.s3.amazonaws.com/107/flashcards/1476107/png/erwinia_amylovora1335303153954.png

Abbildung 2: Verschiedene Infektionswege**:(von links nach rechts)**

http://static.a-z.ch/__ip/0cOQNa1N5EaxeQJjV30XMfVkq68/c4b377b52996f1a5af082de542a33f73cb227d2e/assetRelationTeaser-detail/aargau/kanton-aargau/feuerbrand-im-aargau-dank-kaelte-kein-befall-von-obstbaeumen-126919338

http://www.gabot.de/typo3temp/pics/e73dbb1218.jpg
http://www.feuerbrand.it/info/fileadmin/user_upload/Feuerbrand/krankheitssym/holz/befallholz1.jpg

Abbildung 3:Primärinfektion: (von links nach rechts)

http://www.1a-photoshop.de/news/wp-content/bilder/apfelbluete.jpg

https://idw-online.de/pages/de/newsimage?id=47784&size=screen

http://www.feuerbrand-bodensee.org/feuerbrand/feuerbrand-apfelbaum.jpg

http://www.pressetext.com/news/lowres//20081119034

Abbildung 4: Infektionszyklus**:(von oben nach unten)**

https://idw-online.de/pages/de/newsimage?id=47784&size=screen

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/39/Plumpollen0060.jpg/300px-Plumpollen0060.jpg

http://www.feuerbrand.it/info/fileadmin/user_upload/Feuerbrand/krankheitssym/holz/befallholz4.jpg

http://www.pressetext.com/news/lowres//20081119034

Abbildung 5: Bakterienschleim an Frucht:
http://www.fotocommunity.de/pc/pc/display/13571412

Abbildung 6: Triebinfektion:
http://www.feuerbrand.de/feuerbrand/images/content/gross/quer/03-bild4.jpg

Abbildung 7: Frühzeitige Verfärbung(links)

http://www.feuerbrand.de/feuerbrand/feuerbrand/bilder.html

Abbildung 8:Fruchtmumien:
http://www.feuerbrand.de/feuerbrand/feuerbrand/symptome.html

4.2 Fachtermini

florale Nektarien:

Florale Nektarien sind an Blüten gelegene Saftdrüsen. Sie sondern Nektar aus.

Vergleiche: http://universal_lexikon.deacademic.com/107012/Nektarien

Taxonomische Klassifikation

Eine Taxonomische Klassifikation ist ein Verfahren, nachdem Objekte geordnet werden. Die Kriterien, nach denen die Objekte geordnet werden heißen Taxa.

Vergleiche: http://www.mare-mundi.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=39:was-ist-systematik-was-ist-taxonomie&catid=14:systematik&Itemid=56

endophytisch

beschreibt, dass etwas in dem Pflanzengewebe seines Wirtes ist.

fakultativ anaerob

Fakultativ anaerobe Bakterien können mit und ohne Sauerstoff überleben.

Niederstämme

Niederstämme sind Bäume, bei denen die Baumkrone schon ab 80 cm bis 1 Meter beginnt.

Vergleiche: http://www.zorn-baumschulen.de/download/Hochstamm2011-04.pdf