

Der Nachweis der Koch'schen Postulate mit einfachen Mitteln

Ein Experiment mit Äpfeln

Vorwissenschaftliche Arbeit verfasst von

Magdalena Schindler

Klasse 8D

Betreuer: OStR. Mag. Gerda Draxler



Februar 2015

pGORG 23, St. Ursula

Franz Asenbauer Gasse 49

1230 Wien

Abstract

Diese Arbeit versucht die Koch'schen Postulate am Beispiel des Erregers der Monilia-Krankheit von Äpfeln mit einfachen, einem Schüler zugänglichen Mitteln, nachzuvollziehen. Diese Postulate verlangen die erfolgreiche Isolierung eines Krankheitserregers von einem befallenen Objekt und seine Kultivierung, sowie die Infektion eines Versuchsobjektes um nachzuweisen, dass dieser Keim ein für ihn spezifisches Krankheitsbild verursacht. Abschließend müssen gleiche Eigenschaften des ursprünglichen und des künstlich gezüchteten Keimes nachgewiesen werden.

Zu diesem Zweck wurden drei Pilze von einem Apfel aus dem Garten isoliert und auf Nährplatten kultiviert, wodurch das erste Postulat erfüllt wurde. Anschließend wurden Versuchsäpfel mit diesen infiziert und die Krankheitsentwicklung beobachtet, um das zweite Postulat zu erfüllen. Zwei von ihnen konnten durch ihr Erscheinungsbild identifiziert werden (Monilia-Fruchtfäule und Botrytis-Fruchtfäule). Durch die Ähnlichkeit des Krankheitsbildes des ursprünglichen Apfels mit dem von einem der Versuchsäpfel wurde das zweite Postulat erfüllt. Die Bestätigung des letzten Postulates erfolgte, indem durch das Mikroskopieren der Pilze gleiche Eigenschaften nachgewiesen werden konnten. Da im gesamten Experiment nur einfache, jedem Schüler zugängliche Mittel verwendet wurden, wurde demonstriert, dass die Koch'schen Postulate auch auf einfachem Weg nachvollziehbar sind.

Vorwort

Auf Grund meines Interesses an praktischen Arbeiten in einem Laborumfeld, wollte ich die Chance nutzen, im Rahmen der vorwissenschaftlichen Arbeit selbst ein Experiment zu planen und durchzuführen. Die Koch'schen Postulate boten sich dafür wegen ihrer Einfachheit besonders an. Ich wollte durch sie meinem Umfeld zeigen, dass Wissenschaft nicht unbedingt kompliziert sein muss mit tausenden chemischen Formeln und verwirrenden Systematiken, sondern auch simpel dargestellt werden kann. Außerdem war es mir wichtig zu zeigen, dass Versuche auch mit leicht zugänglichen Mitteln durchgeführt werden können und dass unser gesamter Alltag von der Wissenschaft bestimmt wird.

Während der Fertigstellung dieser Arbeit wurde ich sehr von meiner Lehrerin Mag. Gerda Draxler unterstützt und daher möchte ich ihr meinen Dank für all die hilfreichen Ratschläge und Hilfestellungen aussprechen. Des Weiteren möchte ich mich bei Dr. Elisabeth Stöger für die Möglichkeit, das Chemie-Labor der Schule zu nutzen, bedanken.

Ich möchte auch meiner Freundin Sandra Ehrenstraßer und meiner Mutter Ursula Schindler für ihre psychische Unterstützung danken.

Wien, 11.02.2015

Inhalt

1	Einleitung.....	5
2	Die Koch'schen Postulate	6
2.1	Die Entstehung der Postulate	8
2.2	Die moderne Form der Postulate.....	10
3	Die Durchführung des Experiments	11
3.1	Herstellung der Nährplatten	11
3.2	Beimpfung der Nährplatten	14
3.3	Infizierung und Bebrütung der Versuchsapfel	15
4	Die Erfüllung der Postulate.....	17
4.1	Das erste Postulat	20
4.2	Das zweite Postulat	20
4.2.1	Der erste Versuchsapfel.....	20
4.2.2	Der zweite Versuchsapfel	22
4.2.3	Der dritte Versuchsapfel.....	23
4.3	Das dritte Postulat.....	25
4.3.1	Der dunkelgrüne Pilz.....	25
4.3.2	Der hellgrüne Pilz.....	26
4.3.3	Der weiße Pilz	28
5	Schlusswort.....	30
6	Literaturverzeichnis	32
6.1	Bücher und Skripte.....	32
6.2	Internetquellen	32
7	Abbildungsverzeichnis.....	35

1 Einleitung

Wie kann man beweisen, dass Krankheiten übertragen werden und nicht aus dem Nichts entstehen? Woher weiß man, dass ein kranker Apfel vom restlichen Obst entfernt werden muss, um dem Verfaulen der anderen Äpfel vorzubeugen? Antwort auf diese und zahlreiche ähnliche Fragen lieferten vor über hundert Jahren die Koch'schen Postulate. Diese stellen Richtlinien dar, um zu beweisen, dass ein bestimmtes Bakterium, ein Virus oder auch ein Pilz genau ein für den Erreger spezifisches Krankheitsbild hervorruft. Obwohl die Postulate auf den ersten Blick sehr simpel wirken, revolutionierten sie die Medizin zu Beginn des 20. Jahrhunderts. Robert Koch gilt auf Grund der Entdeckungen, die er durch die Anwendung seiner Postulate in seiner Forschung machte, für viele als Begründer der Bakteriologie. Um das Experiment, das diese Arbeit behandelt, zu verstehen, werden die Postulate im folgenden Kapitel ausführlicher erklärt.

Das Ziel dieser Arbeit ist es zu zeigen, dass die Koch'schen Postulate auch mit einfachen Mitteln nachvollziehbar sind und nicht nur in einem professionellen Labor zur Anwendung kommen müssen, da übertragbare Krankheiten überall zu finden sind. Um dies zu demonstrieren, wurden ausschließlich für jeden Schüler einfach zugängliche Mittel verwendet. Einige Probleme, welche im Zusammenhang mit dem angestrebten Nachweis auftreten könnten, wie zum Beispiel steriles Arbeiten, werden in der folgenden Arbeit ebenfalls erläutert.

2 Die Koch'schen Postulate

Die Koch'schen Postulate sind die wichtigste Grundlage der medizinischen Bakteriologie und sie besitzen nach wie vor ihre Gültigkeit in Bezug auf den Nachweis von Erregern.¹ Die Postulate wurden von Robert Koch 1876 mit Hilfe des Milzbranderreger experimentell bestätigt und 1884 in seiner Arbeit über Tuberkulose beschrieben,² wofür ihm 1905 der Nobelpreis für Medizin und Physiologie verliehen wurde.³ Die Postulate stellen erstmals einen Zusammenhang zwischen Erregern und Infektionskrankheiten dar, da sie festlegen, welche Bedingungen ein Mikroorganismus erfüllen muss, um als Erreger zu gelten. Koch selbst formulierte seine Postulate auf dem 10. Internationalen Medizinischen Kongress 1890 in Berlin so:

„Wenn es sich nun aber nachweisen ließe:

- *erstens, dass der Parasit in jedem einzelnen Falle der betreffenden Krankheit anzutreffen ist, und zwar unter Verhältnissen, welche den pathologischen Veränderungen und dem klinischen Verlauf der Krankheit entsprechen;*
- *zweitens, dass er bei keiner anderen Krankheit als zufälliger und nicht pathogener Schmarotzer vorkommt; und*
- *drittens, dass er von dem Körper vollkommen isoliert und in Reinkulturen hinreichend oft umgezüchtet, imstande ist, von neuem die Krankheit zu erzeugen;*

dann könnte er nicht mehr zufälliges Akzidens der Krankheit sein, sondern es ließe sich in jedem Falle kein anderes Verhältnis mehr zwischen Parasit und Krankheit denken, als dass der Parasit Ursache der Krankheit ist.“⁴

¹ Vgl. Drews, Gerhart: Mikrobiologie. Die Entdeckung der unsichtbaren Welt. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2010, S. 68 f.

² Vgl. ebd., S.48

³ Vgl. Wieland, Melanie: Robert Koch. Pionier der Mikrobiologie. http://www.planet-wissen.de/alltag_gesundheit/sauberkeit/hygiene/hygiene_epidemiologie.jsp. (eingesehen am 26.01.2015)

⁴ Jöstingmeyer, Petra: Eine Checkliste für Erreger. Die Koch'schen Postulate. In: Scinexx (05.07.2005). Düsseldorf: MMCD NEW MEDIA. <http://www.scinexx.de/dossier-detail-243-7.html> (eingesehen am 26.01.2015)

Im Laufe der Zeit wurden die Postulate mehrmals, von Koch und anderen Wissenschaftlern, umformuliert. Allgemein gilt heute:

1. Der Erreger muss aus dem erkrankten Organismus isoliert und eine Reinkultur hergestellt werden.
2. Der auf einem künstlichen Nährboden gezüchtete Keim muss in einem Versuchsobjekt die gleichen Symptome hervorrufen wie bei der ursprünglichen Krankheit.
3. Die aus dem Versuchsobjekt isolierten Keime müssen die gleichen Eigenschaften wie die ursprünglich isolierten Erreger haben.⁵

⁵ Vgl. Drews: Mikrobiologie (2010), S.69

2.1 Die Entstehung der Postulate

Die Ärzte und Wissenschaftler zu Kochs Zeiten standen in Bezug auf Bakterien vor schwerwiegenden Fragen. Es gab Diskussionen darüber, ob eine Krankheit von Mikroorganismen ausgelöst wird oder ob die vorhandenen Mikroorganismen sich erst nach Ausbruch der Krankheit ansiedeln.⁶ Unter anderem gab es auch vermehrt Anhänger der sogenannten „Urzeugung“, die die Meinung vertraten, dass Keime spontan aus dem Nichts am Ort der Infektion entstehen.⁷ Außerdem war nicht bekannt, wie sich Bakterien unterscheiden.⁸

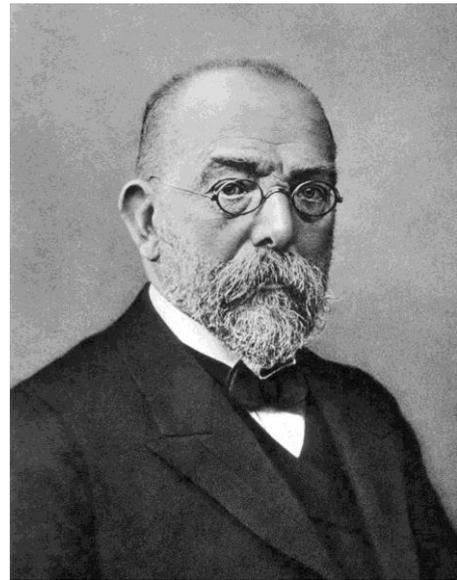


Abbildung 1:
Robert Koch

Anlässlich einer Milzbrandepidemie startete Koch im Jahre 1873,⁹ als einfacher Landarzt in Posen ohne spezielle Vorkenntnisse,¹⁰ seine bakteriologische Forschung.¹¹ In seiner frühen Arbeit „Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis.“ geht er in seiner Versuchsreihe mit Mäusen bereits dem Schema der Postulate entsprechend vor, ohne diese jedoch explizit als verschiedene Schritte zu definieren.¹² Später beschrieb er sie dann in seiner Arbeit über Tuberkulose als „drei Aufgaben, welche also in dem Nachweis der Parasiten, der Isolierung derselben und ihrer erfolgreichen Verimpfung bestehen“.¹³

⁶ Vgl. Drews: Mikrobiologie (2010), S. 68

⁷ Vgl. Gradmann, Christoph: Krankheit im Labor. Robert Koch und die medizinische Bakteriologie. Göttingen: Wallstein Verlag 2005, S.37

⁸ Vgl. ebd., S. 45

⁹ Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S.56

¹⁰ Vgl. ebd., S. 31 f.

¹¹ Vgl. Wieland, Melanie: Dem Milzbrand auf der Spur. Vom Landarzt zum Forscher von Rang. <http://www.scinexx.de/dossier-detail-243-5.html>. (eingesehen am 26.01.2015)

¹² Vgl. Koch, Robert: Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. <http://edoc.rki.de/documents/rk/508-5-26/PDF/5-26.pdf>, S. 6 (eingesehen am 26.01.2015)

¹³ Koch, Robert: Über die Ätiologie der Tuberkulose.

<http://philoscience.unibe.ch/documents/kursarchiv/WS05/koch-a.pdf>. S. 2/447(eingesehen am 26.01.2015)

Die Koch'schen Postulate wurden allerdings schon vor Kochs Versuchen von Jakob Henle, Robert Kochs Lehrer, vorhergesagt, jedoch auf rein theoretischer Basis.¹⁴ Aus diesem Grund sind sie auch unter dem Namen Koch-Henle - oder Henle-Koch - Postulate bekannt. Koch selbst jedoch bezeichnete dieses Vorgehensschema bei seinen Versuchen nie als Postulate. Ursprünglich stammt der Begriff „Koch'sche Postulate“ von seinem Mitarbeiter Friedrich Loeffler.¹⁵ Die Postulate waren zur Zeit ihrer Entdeckung in ständiger Anwendung in Kochs Labor und verbreiteten sich rasch, sie wurden jedoch je nach Versuch oft variiert.¹⁶ Mit der Zeit mussten die Koch'schen Postulate jedoch aus diversen Gründen abgeändert und angepasst werden,¹⁷ worauf im folgenden Kapitel genauer eingegangen wird.

¹⁴ Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S. 39

¹⁵ Vgl. ebd., S. 11

¹⁶ Vgl. ebd., S. 23

¹⁷ Vgl. Jöstingmeyer: Eine Checkliste (2005)

2.2 Die moderne Form der Postulate

Im Zuge seiner Choleraforschung konnte selbst Koch die Postulate nicht vollständig erfüllen, da es ihm nicht möglich war, mit dem Erreger Versuchstiere zu infizieren.¹⁸ Im Laufe der Zeit wurden die Postulate mehrmals abgeändert und sind heute in verschiedenen Formen bekannt.

Vor allem in Bezug auf Viren mussten Änderungen vorgenommen werden, da diese auch bei symptomfreien Menschen anzutreffen sind und außerdem nicht auf einem einfachen Nährmedium kultivierbar sind.¹⁹ Die Weiterentwicklung der Postulate war ebenfalls wichtig, weil manche Erreger verschiedene Wirkungen auf Menschen und Tiere haben, wie beispielsweise das Bakterium *Neisseria gonorrhoeae*,²⁰ woraus sich Probleme bei der Suche nach einem geeigneten Versuchstier ergeben, wie auch Robert Koch schon feststellen musste.²¹ Manche Forscher ergänzen die Koch'schen Postulate daher mit einem zusätzlichen Postulat, das einen Nachweis immunologischer Erreger-Wirt-Beziehungen verlangt.²²

Prinzipiell ist zu sagen, dass die Koch'schen Postulate heute im übertragenen Sinne für alle Vorgänge, die von Mikroorganismen ausgehen, immer noch Gültigkeit haben,²³ obwohl es mittlerweile mehrere Varianten, die teils auch von Koch selbst stammen,²⁴ gibt. Die Identifizierung der Erreger wird heutzutage meistens mit Hilfe von physiologischen, immunologischen und molekulargenetischen Testverfahren durchgeführt.²⁵

¹⁸ Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S. 282

¹⁹ Vgl. Jöstingmeyer: Eine Checkliste (2005).

²⁰ Vgl. ebd.

²¹ Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S. 282

²² Vgl. Jöstingmeyer: Eine Checkliste (2005)

²³ Vgl. Drews: Mikrobiologie (2010), S. 48

²⁴ Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S. 10

²⁵ Vgl. Drews: Mikrobiologie (2010), S. 69

3 Die Durchführung des Experiments

Wie zuvor erwähnt, soll das Folgende den Versuch darstellen, die Koch'schen Postulate mit möglichst einfachen und leicht zugänglichen Mitteln nachvollziehen zu können. Zu diesem Zweck wurde ein verfaulter Apfel aus einem Garten als Versuchsobjekt verwendet. Der Versuchsablauf orientierte sich dabei an einem Versuch eines Vorlesungsskriptes der Technischen Universität München.²⁶ Da keine professionellen Hilfsmittel verwendet wurden, wurden auch die Nährplatten für den Versuch nicht gekauft, sondern mit Hilfe einer Online-Anleitung²⁷ hergestellt.

3.1 Herstellung der Nährplatten

Die Zutaten für den Nährboden sind Agar-Agar (ein pflanzlicher Gelatineersatz), Malzextrakt und fettfreie Rindsuppe, wie in Abbildung 2 zu sehen ist. Alles außer fettfreier Rindsuppe ist in Reformhäusern erhältlich. Da nur Bouillon mit Fettstoffen im normalen Handel verfügbar ist, wurde die Rindsuppe vorab in der Küche mit Rinderknochen gekocht und das Fett



Abbildung 2:
Zutaten zur Herstellung des Nährmediums

durch ein Küchentuch entfernt. Dies ist notwendig, um die Bildung von Fettbläschen an der Oberfläche des Nährbodens zu verhindern.

Die Herstellung des Nährmediums erfolgte im Chemie-Labor der Schule, wodurch die Benutzung von Bunsenbrennern ermöglicht wurde. In einem Erlenmeyerkolben wurden 100ml Leitungswasser mit 1,1g Rindsbouillon, 1,7g Agar-Agar Pulver und 1,5g Malzextrakt vermischt. Um das Pulver besser aufzulösen, wurde die Mischung auf mittlerer Hitze (circa 62°C) erhitzt und mit einem Rührmagnetstäbchen umgerührt.

²⁶ Vgl. Behr, Jürgen: Skript Praktikum Mikrobiologie II. München: Technische Universität München. 2009. http://tmw.wzw.tum.de/fileadmin/Skripten/Skript_Praktikum_MiBi_2_0910.pdf. (eingesehen am 26.01.2015). S. 6 f.

²⁷ Vgl. Frischknecht, Kurt: SGM Grundpraktikum Mikrobiologie SI+SII. Die Anzucht von Mikroorganismen. <http://www.biofachforum.ch/BIOTEXT/Exp1/Kurs1Exp1.htm> (eingesehen am 26.01.2015)

Anschließend wurde der Kolben mit Watte geschlossen und mit Aluminiumfolie abgedeckt.

Das ist notwendig um im nächsten Schritt, dem Autoklavieren, das Nährmedium von der Umgebung abzutrennen und zu verhindern, dass sich Kondenswasser im Medium sammelt. Autoklavieren ist ein Sterilisationsverfahren, das alle im Medium vorhandenen Keime und andere lebende Verunreinigungen abtötet. Zu diesem Zweck gibt es in professionellen



Abbildung 3:
Nährmedium im Dampfkochtopf um autoklaviert zu werden

Labors teure Autoklaven, die im Prinzip funktionieren wie ein Druckkochtopf. Durch zusätzlichen Außendruck wird der Siedepunkt des Wassers erhöht und durch die höhere Temperatur werden mehr Keime abgetötet als bei normalem Auskochen.²⁸ Statt eines Autoklaven wurde also ein Dampfkochtopf verwendet, wie in Abbildung 3 zu sehen ist. In Abbildung 4 ist dieser Vorgang skizziert. Sobald beide roten Ringe auf der Druckanzeige zu sehen sind, wird der Topf luftdicht verschlossen. Das Medium wurde so 30 Minuten lang autoklaviert.

Abbildung 4: entfernt im Zuge der Veröffentlichung
Dampfdrucktopf (Schnellkochtopf) als Ersatzautoklav

²⁸ Vgl. Ebert, Veronika: Skriptum Mikrobiologisches Labor in Kompendium für Biochemie, angewandte Mikrobiologie und Gentechnik. HBLVA für chemische Industrie. 2013, S.10

Das nun sterile Kulturmedium wurde anschließend in möglichst Keim-arter Umgebung in Kunststoffpetrischalen gegossen. Um dies zu ermöglichen wurde auf der in Abbildung 5 gezeigten



Abbildung 5:
Sterilbench-Ersatz

Arbeitsfläche, die zuvor durch Alkohol sterilisiert wurde, mit Handschuhen zwischen zwei Bunsenbrennern gearbeitet. Diese Konstruktion ersetzt eine teure Sterilbench im Labor. Die Bunsenbrenner verhindern durch die heiße strömende Luft, dass Keime auf die Nährplatten gelangen.²⁹ Um diesen Effekt zu nützen, wurden Schritte, die eine sterile Umgebung verlangen, besonders nah an den Bunsenbrennern ausgeführt.

Mit diesem Verfahren wurden 5 Nährplatten hergestellt, die in Abbildung 6 zu sehen sind. Sie wurden für ein paar Tage beobachtet um sicher zu stellen, dass sich keine Keime auf ihnen befinden, die das Experiment verfälschen würden. Da die Platten mit heißem Medium gegossen wurden, befindet sich Kondenswasser auf den Deckeln.



Abbildung 6:
Fertige Nährplatten

²⁹ Vgl. Frischknecht: SGM Grundpraktikum

3.2 Beimpfung der Nährplatten

Nach der Herstellung der Nährplatten, wurden diese 4 Tage lang bebrütet um eine Kontamination auszuschließen. Nach diesem Zeitraum folgte der nächste Schritt: Die Beimpfung der Nährplatten. Dies erfolgte, wie zuvor das Gießen der Nährplatten, zwischen zwei Bunsenbrennern auf einer vorher mit Alkohol desinfizierten Tischplatte. Um die Koch'schen Postulate nachzuweisen,



Abbildung 7:
„Urapfel“

wurde ein Pilz-befallener Apfel vom Komposthaufen eines Gartens verwendet (Abbildung 7), der, weil mehrere Äpfel verwendet wurden, in dieser Arbeit folglich als „Urapfel“ bezeichnet wird. Mit einer Impföse, die vorher an der Bunsenbrennerflamme zwecks Sterilisierung ausgeglüht wurde, wurde von der Oberfläche des Apfels Pilzmaterial abgekratzt und anschließend auf die Nährplatten in geschwungenen Linien gestrichen. Dadurch werden nach und nach die Keime abgestrichen und am Ende der Linie sollte eine möglichst reine Kultur entstehen. Abbildung 8 zeigt die zwei beimpften Nährplatten sowie die Kontrollplatte am Tag der Beimpfung (Tag 0).

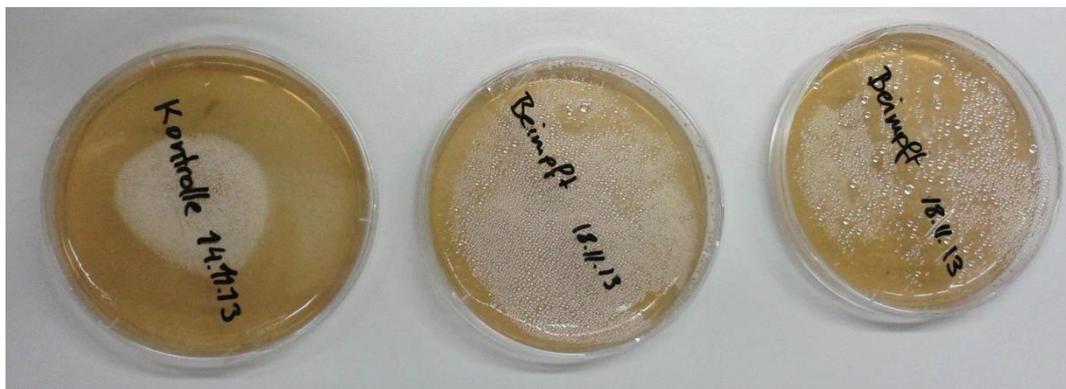


Abbildung 8:
Beimpfte Nährplatten und Kontrollplatte, Tag 0

In den folgenden Tagen bildeten sich verschieden Pilzkulturen auf den beimpften Nährplatten, die Kontrollplatte blieb jedoch steril. Optisch konnten drei Pilze unterschieden werden:

1. Der dunkelgrüne Pilz (Abbildung 9 und 10)
2. Der hellgrüne Pilz (Abbildung 9)
3. Der weiße Pilz (Abbildung 9 und 10)

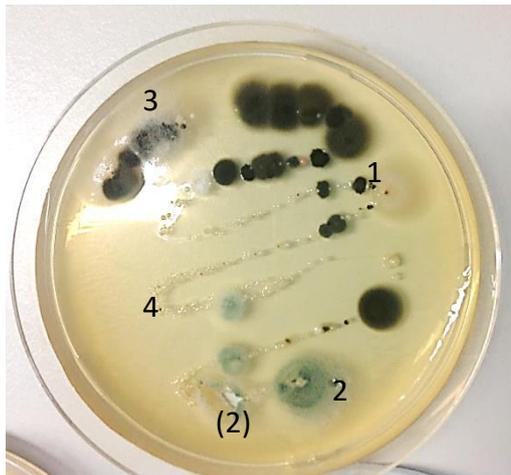


Abbildung 9:
Beimpfte Nährplatte 1, Tag 7

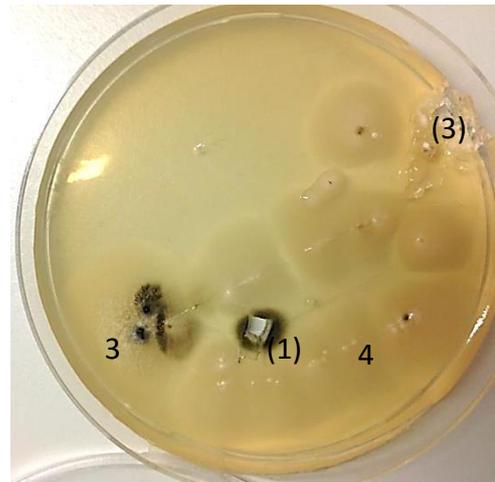


Abbildung 10:
Beimpfte Nährplatte 2, Tag 7

Neben diesen Pilzen wuchsen auch Bakterien (4 in Abbildungen 9 und 10) auf dem Medium, die das Aussehen von glänzenden, Perlen-ähnlichen Kügelchen haben. In der Umgebung der Bakterien fällt auch auf, wie sich der Nährboden durch den Entzug von Nährstoffen farblich verändert (vor allem in Abbildung 10). Durch die Kultivierung der Keime auf der Nährplatte wurden diese erfolgreich vom „Urapfel“ isoliert. Somit wurde das 1. Koch'sche Postulat erfüllt. Das 2. Koch'sche Postulat fordert die Infizierung eines Versuchstieres mit dem Keim.

3.3 Infizierung und Bebrütung der Versuchsapfel

Wie zuvor beschrieben, wuchsen drei verschiedene Pilze aus dem Keim des „Urapfels“. Es wurde deshalb für jeden dieser Pilze ein eigener Versuchsapfel infiziert. Als Versuchsapfel wurden wieder Äpfel aus dem Garten verwendet, um sicher zu stellen, dass keine Pestizide oder Ähnliches das Experiment beeinflussen. Ein weiteres Kriterium war eine glatte, nicht verletzte Oberfläche, da an Dellen oder Wunden schon Keime auf den Äpfeln vorhanden sein könnten, die die Ergebnisse verfälschen würden. Die Infizierung erfolgte, wie die vorherigen Schritte, zwischen zwei Bunsenbrennern

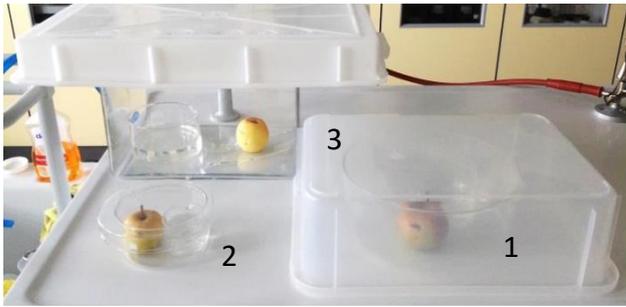


Abbildung 11:
Infizierte Versuchsapfel, Tag 0

Zahlen in Abbildungen 9 und 10) platziert wurden. Vor jeder Infizierung wurde das Skalpell in der Bunsenbrennerflamme ausgeglüht, um noch vorhandene Sporen abzutöten und so eine Vermischung der Pilze zu verhindern. Anschließend wurden die infizierten Äpfel zur Bebrütung in individuelle Glasschalen, gemeinsam mit jeweils einem Schälchen mit Wasser zur Befeuchtung der Luft gelegt. Diese wurden möglichst gut abgedeckt, wie in Abbildung 11 zu sehen ist. Die Äpfel wurden separat bebrütet, um der Ansiedelung mehrerer Pilze auf einem Apfel durch Sporenübertragung durch die Luft vorzubeugen. Versuchsapfel 1 wurde mit dem dunkelgrünen Pilz, Apfel 2 mit dem hellgrünen Pilz und Apfel 3 mit dem weißen Pilz infiziert.

Die Versuchsapfel 2 und 3 bildeten schon nach kurzer Zeit ein Krankheitsbild aus. Der Versuchsapfel 1, der mit dem dunkelgrünen Pilz infiziert wurde, hingegen benötigte etwas länger. Diese Krankheitsbilder, auf welche in dieser Arbeit noch genauer eingegangen wird, sind in Abbildungen 12 bis 17 zu sehen.



Abbildung 12:
Versuchsapfel 1, Tag 4



Abbildung 13:
Versuchsapfel 2, Tag 4



Abbildung 14:
Versuchsapfel 3, Tag 4



Abbildung 15:
Versuchsapfel 1, Tag 21



Abbildung 16:
Versuchsapfel 2, Tag 21



Abbildung 17:
Versuchsapfel 3, Tag 21

auf einer mit Alkohol sterilisierten Arbeitsplatte. In die Versuchsapfel wurden mit einem Skalpell kleine Taschen geschnitten, in die die aus der Nährplatte geschnittenen Pilze (siehe die eingeklammerten

4 Die Erfüllung der Postulate

Der Sinn der Koch'schen Postulate ist zu beweisen, dass ein bestimmter Erreger eine Krankheit verursacht. Um dies zu erfüllen, muss jedoch zuerst das Krankheitsbild des „Urapfels“ definiert werden. Der Apfel, der in den Abbildungen 18 und 19 zu sehen ist, lag bereits auf dem Komposthaufen und weist eine Vielzahl von Parasiten auf. Dementsprechend sind auch verschiedene Krankheitsbilder zu sehen. Die auffälligsten Merkmale sind die zahlreichen weißen bis gelblichen Pusteln auf der Oberfläche und die fast Mumien-ähnliche Ansammlung auf der Unterseite des Apfels (Abbildung 19), sowie die dunkle Farbe.

Diese Merkmale werden primär von der Monilia-Krankheit hervorgerufen. Die weißen Ansammlungen stellen Sporenpolster des Erregerpilzes dar, die charakteristisch für diese Erkrankung sind. Das Krankheitsbild äußert sich entweder in Form von Blütensterben und Spitzendürre, Zweigsterben oder Fruchtfäule.³⁰ Erreger dieser Krankheit ist entweder der Pilz *Monilinia fructigena* oder die diesem sehr ähnlichen Pilze *Monilinia laxa* und *Monilinia cydoniae*. Im Fall des „Urapfels“ handelt es sich vermutlich um den Erreger *Monilinia fructigena* oder *Monilia laxa*, da der Pilz *Monilinia cydoniae* nur bei Quitten vorhanden ist. Doch das Vorhandensein von *Monilia fructigena* ist wahrscheinlicher, da er häufiger an Früchten, vor allem bei Kernobst, zu finden ist als die verwandte Art *Monilia laxa*, die als Hauptverursacher der Spitzendürre gilt.³¹



Abbildung 18:
Die Vorderseite des „Urapfels“



Abbildung 19:
Die Unterseite des „Urapfels“

³⁰ Vgl. Kahl, Erich; Russ, Kurt; Vukovits, Georg; Böhm, Helene (Hrsg. Bundesanstalt für Pflanzenschutz Wien): Wichtige Krankheiten und Schädlinge im Obstbau. 5. Auflage. Wien 1976. S. 27

³¹ Petzoldt, Regina: Monilia-Krankheit der Obstgehölze. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie. Gartenakademie 2009. <http://www.kleingartner-hot.de/monilia.pdf> (eingesehen am 26.01.2015)

Beide Erreger sind allerdings in der Lage die vorliegende Fruchtfäule hervorzurufen, können jedoch auch zusammen auftreten.³² Die Pilze, die Monilia verursachen, zählen zu den Moniliales der Gruppe Fungi imperfecti,³³ da ihre sexuelle Fortpflanzung nicht bei allen Vertretern bekannt ist und so ihr Lebenszyklus unvollständig ist.³⁴ Sie bilden dementsprechend nur Konidien, ungeschlechtliche Sporen, an den Enden der Hyphen ihres Myzels zur Fortpflanzung.³⁵ Diese Konidien verbreiten sich durch die Luft oder selten auch durch Insekten und infizieren die Frucht an kleinen Rissen oder Verletzungen, wie beispielsweise bei Hagelschlägen. Die Infizierung kann auch durch direkt benachbarte infizierte Früchte hervorgerufen werden.³⁶

Abbildung 20: entfernt im Zuge der Veröffentlichung Fruchtmumie (Apfel)

Die Triebinfektion wird durch die Verstopfung der Leitungsbahnen durch den Pilz verursacht. Die Blätter und Blüten sterben so mit dem Zweig ab. Außerdem sondert der Pilz Gifte ab, die zum Absterben von Gewebe führen.³⁷ Die Fruchtfäule der Monilia-Krankheit äußert sich anfangs durch braune, rasch wachsende und nicht einsinkende Faulflecken um die Infektionsnarbe herum, auf welchen sich bald weiße bis gelbliche Sporenpolster, meist ringförmig angeordnet, bilden. Die konzentrischen Kreise entstehen auf Grund des Tag-Nacht-Wechsels.³⁸ Diese Ansammlungen von Konidien ermöglichen die Verbreitung des Pilzes. Befallene Früchte können als zusammengeschrumpfte Mumien am Baum hängen bleiben, wie der Apfel in Abbildung 20. Der Pilz überwintert durch Dauerkörper (Sklerotien) an den Fruchtmumien oder befallenen Ästen und infiziert so im Frühjahr weitere Früchte.³⁹

³² Vgl. Wuttke, Matthias: Steckbrief. Monilia-Spitzendürre und Fruchtfäule am Apfel (Monilia laxa und Monilia fructigena). <http://www.lalf.de/fileadmin/media/PDF/ps/themen/garten/MoniliaKernobst-2014.pdf>. (eingesehen am 26.01.2015)

³³ Vgl. Spektrum Akademischer Verlag: Monilia. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/monilia/43682>. (eingesehen am 26.01.2015)

³⁴ Vgl. Spektrum Akademischer Verlag: Fungi Imperfecti. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/fungi-imperfecti/26037>. (eingesehen am 26.01.2015)

³⁵ Vgl. Niessen, Ludwig: Skript Praktikum Mikrobiologie I. München: Technische Universität München 2009, S. 132

³⁶ Vgl. Kahl, Erich; Russ, Kurt; Vukovits, Georg; Böhm, Helene: Wichtige Krankheiten. 1976, S. 27

³⁷ Vgl. Der Bio-Gärtner: Monilia [Monilia laxa, Monilia fructigena]. 2013. <http://www.bio-gaertner.de/pflanzenkrankheiten/Monilia>. (eingesehen am 26.01.2015)

³⁸ Vgl. Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A. (begründet von Noll, Fritz; Schenck, Heinrich; Schimper, A.F. Wilhelm und Strasburger, Eduard): Strasburger. Lehrbuch der Botanik. 35. Auflage. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg 2002, S. 624

³⁹ Vgl. Kahl, Erich; Russ, Kurt; Vukovits, Georg; Böhm, Helene: Wichtige Krankheiten. 1976, S. 27

Bei Lagerung von befallenen Äpfeln im Dunkeln kann es außerdem zur sogenannten „Schwarzfäule“ kommen.⁴⁰ Dabei verfärbt sich die gesamte Frucht schwarz und es werden fast keine Sporenlager ausgebildet.⁴¹ Wie zuvor erwähnt, entstehen die ringförmigen Anordnungen bei der Monilia-Krankheit durch den Licht-Dunkel-Wechsel. Der „Urapfel“ hingegen hat sein Krankheitsbild in einem Komposthaufen ausgebildet und war deshalb möglicherweise keinem regelmäßigen Tag-Nacht Wechsel ausgesetzt. Dies hatte vermutlich zur Folge, dass keine konzentrischen Anordnungen der Sporenpakete entstanden. Zusätzlich war der „Urapfel“ zum Zeitpunkt der Beobachtungen schon in einem sehr fortgeschrittenen Krankheitsstadium mit sehr vielen Konidienansammlungen, die eine genaue Abgrenzung der Kreise erschwerten.

Neben der Monilia-Krankheit scheint der „Urapfel“ von Fruchtfäule befallen zu sein, die je nach Verlauf der Krankheit von zahlreichen Erregern hervorgerufen wird.⁴² Auffallende Charakteristiken, um eine Übertragung von Erregern vom „Urapfel“ auf die Versuchsäpfel zu beweisen, sind also die Sporenpakete bei der Monilia-Krankheit und möglicherweise das Auftreten von einer anderen Art der Fruchtfäule. Vor allem der Nachweis des Pilzes *Monilinia fructigena*, beziehungsweise des sehr nahe verwandten Pilzes *Monilinia laxa* soll aus diesem Grund im Fokus des folgenden Kapitels stehen, um die Koch'schen Postulate im Rahmen dieses Experimentes zu erfüllen. Zur Demonstration dessen, ist das folgende Kapitel in die drei, zuvor auf Seite 6 definierten, Postulate gegliedert.

⁴⁰ Vgl. Kahl, Erich; Russ, Kurt; Vukovits, Georg; Böhm, Helene: Wichtige Krankheiten. 1976, S. 27

⁴¹ Vgl. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft: <http://www.lfl.bayern.de/ips/kleingarten/035533/>. (eingesehen am 26.01.2015)

⁴² Vgl. Naef, Andreas; Zoller, Brigitte; Viret, Olivier (Hrsg. Verein Publikationen Spezialkulturen, c/o Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW): Parasitäre Lagerkrankheiten der Äpfel und Birnen. Forschungsanstalt Agroscope Changings-Wädenswil ACW. 2007 <http://www.agroscope.admin.ch/publikationen/einzelpublikation/index.html?lang=de&aid=431&pid=8578>. (eingesehen am 26.01.2015)

4.1 Das erste Postulat

Das erste Koch'sche Postulat besagt, dass der Erreger vom befallenen Organismus isoliert werden muss. Dies geschah durch das zuvor erläuterte Beimpfen der Nährplatten mit Hilfe des „Urapfels“, welcher den Wirt für eine Vielzahl von verschiedenen Mikroorganismen darstellte. Aus diesem Grund ergaben sich verschiedenste Kolonien auf den Nährplatten, von Pilzen bis Bakterien. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Monilia-Krankheit durch einen Pilz hervorgerufen wird, wurden die drei markantesten Pilze der Nährplatte zur Infektion der Äpfel verwendet, während die vorhandenen Bakterien bedeutungslos für den restlichen Verlauf des Experimentes waren.

4.2 Das zweite Postulat

Um das zweite Koch'sche Postulat zu erfüllen, muss der isolierte Keim in einem Versuchstier die gleichen Symptome hervorrufen, die auch die ursprüngliche Krankheit aufwies. Zu diesem Zweck wurden drei Versuchsäpfel mit den vom „Urapfel“ isolierten Pilzen infiziert. Dabei handelte es sich, wie auf Seite 14 dargestellt ist, um einen dunkelgrünen, einen hellgrünen und einen weißen Pilz. Im Laufe des Experiments hat jeder Versuchsapfel unterschiedliche Symptome entwickelt. All diese Symptome waren auch auf dem „Urapfel“ vorhanden, doch ihre starke Überlagerung und Vermischung verhinderte eine eindeutige Identifizierung.

4.2.1 Der erste Versuchsapfel

Der erste Versuchsapfel wurde mit dem dunkelgrünen Pilz der Nährplatte infiziert, welcher, wie in Abbildung 21 zu sehen ist, der auffallendste und größte der Nährplatte war und vor allem zu Beginn der Impflinie auftrat. Nach der Beimpfung jedoch benötigte der erste Versuchsapfel, im Vergleich zu den anderen Äpfeln, die längste Zeit um Symptome auszubilden.



Abbildung 21:
Beimpfte Nährplatte 1, Tag 7

Abbildung 22 zeigt den ersten Versuchsapfel 11 Tage nach der Infizierung, immer noch ohne Anzeichen einer Infektion. Die anderen beiden Versuchsapfel hingegen hatten schon an Tag 4 des Experiments ausgeprägte Krankheitsbilder. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass der erste Versuchsapfel die größte Glasschale zur Bebrütung hatte, wie Abbildung 11 auf Seite 15 zeigt. Dadurch stand ihm vermutlich eine geringere Luftfeuchtigkeit zur Verfügung, was das Wachstum von Pilzen beeinflussen kann. Ein anderer Grund für das verzögerte Auftreten des Krankheitsbildes könnte auch sein, dass eine zu große Menge des Nährbodens mit dem Pilz in den Apfel transferiert wurde. Der Pilz hätte sich in diesem Fall vorerst vom Nährmedium ernährt und den Apfel erst später angegriffen.



Abbildung 22:
Versuchsapfel 1, Tag 11



Abbildung 23:
Versuchsapfel 1, Tag 21

Wie in Abbildung 23 zu sehen ist, bildete sich nach längerer Zeit ein ziemlich starkes Krankheitsbild aus. Der Apfel scheint verfault, da sich die Farbe, im Vergleich zu Abbildung 22, stark verdunkelt hat. Im Laufe der Zeit sank der Apfel zusätzlich langsam in sich zusammen und die Haut warf kleine Falten, was auf Abbildung 24 ersichtlich ist. Besonders auf Abbildung 23 fällt auf, dass die Infektion verschiedene Farben aufwies. Dies könnte bedeuten, dass mehrere Pilze auf dem Apfel vorhanden waren. Der verwendete Apfel war also möglicherweise nicht steril, oder es wurden versehentlich verschiedene Kolonien der Nährplatte entnommen.



Abbildung 24:
Versuchsapfel 1 Tag 23

Da sich kein, für einen bestimmten Erreger spezifisches, Krankheitsbild entwickelt hat, kann der Pilz nicht näher bestimmt werden. Eindeutig ist nur, dass der Apfel durch den Pilz zersetzt wird und dies kann durch verschiedenste Schimmelpilze verursacht werden. Durch die Artenvielfalt von Schimmel ist eine genaue mikroskopische Bestimmung nur nach jahrelangem Studium möglich oder es Bedarf oftmals sogar einer DNA-Analyse.

4.2.2 Der zweite Versuchsapfel

Zur Beimpfung des zweiten Versuchsapfels wurde der, in Abbildung 25 sichtbare, hellgrüne Pilz verwendet. Schon innerhalb kurzer Zeit breitete sich die Infektion des Apfels aus, wie in Abbildung 26, die drei Tage nach der Beimpfung entstand, zu sehen ist.

Als Folge der Infizierung bildete sich eine braune, kreisförmige Fläche um die Impfnarbe herum aus. Diese Fläche vergrößerte sich rasch, wie Abbildung 27 zeigt, bis sie schließlich den gesamten Apfel überzog (Abbildung 28 auf der nachfolgenden Seite). Die braun verfärbte Schale sank ein, während das Fruchtfleisch darunter immer weicher wurde und der Apfel schlussendlich verfaulte. Am Ende des Experiments bildete sich auf der Infektionsnarbe und am Stiel des Versuchsapfels ein weicher, Flaum-ähnlicher Pilzrasen aus und die Fruchtschale wies große Falten auf.

Das vorliegende Krankheitsbild ist typisch für die Graufäule oder Botrytis-Fruchtfäule, die von dem Pilz *Botrytis cinerea*, der Nebenfruchtform von *Sclerotinia fuckeliana*,⁴³ verursacht wird.⁴⁴

Dies wird deutlich bei einem Blick auf Abbildung 29 auf der nächsten Seite, die einen vom Kompetenzzentrum-Obstbau-Bodensee mit Botrytis-Fruchtfäule diagnostizierten Apfel zeigt. Er weist eine große Ähnlichkeit mit dem zweiten Versuchsapfel 9 Tage nach der Infizierung auf, der in Abbildung 27 abgebildet ist.

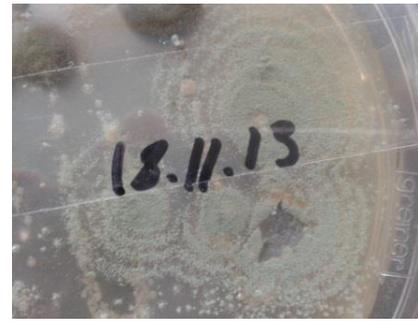


Abbildung 25:
Nährplatte 1, Tag 16



Abbildung 26:
Versuchsapfel 2, Tag 3



Abbildung 27:
Versuchsapfel 2, Tag 9

⁴³ Vgl. Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A.: Strasburger (2002), S. 624

⁴⁴ Vgl. Naef, Andreas; Zoller, Brigitte; Viret, Olivier: Parasitäre Lagerkrankheiten (2007)

Der für diese Krankheit verantwortliche Pilz zählt zur Unterklasse Ascomycetidae der echten Pilze, den Schlauchpilzen.⁴⁵ Der Erreger dringt oft durch kleine Wunden in den Wirt ein, aber er kann auch die intakte Schale des Apfels passieren. Bei ungünstigen Lebensbedingungen bildet der Pilz Dauerkörper (Sklerotien), die sowohl im Boden als auch in abgestorbenen Pflanzenresten überwintern können. Er verbreitet sich durch Sporen in Luft und Wasser oder durch direkte Berührung. Auf Grund der Fähigkeit der Fäulnis sich bei bis zu -1°C zu verbreiten, besteht bei der Lagerung infizierter Äpfel große Ansteckungsgefahr.⁴⁶ Neben seiner Rolle als Schädling wird dieser Pilz jedoch von Winzern als „Edelfäule“ sehr geschätzt, weil er einen sehr hohen Zuckergehalt der Beeren bei trockener Witterung verursacht.⁴⁷



Abbildung 28:
Versuchsapfel 2, Tag 23

**Abbildung 29: entfernt
im Zuge der
Veröffentlichung
Botrytis Fruchtfäule**

4.2.3 Der dritte Versuchsapfel

Der dritte Versuchsapfel wurde mit dem weißen Pilz der Nährplatte infiziert, der sich durch ein fast Watte-ähnliches Aussehen auszeichnete. So wie der zweite Versuchsapfel, wies der dritte Apfel schon sehr bald eine sichtbare Infektion auf, wie in Abbildung 30 zu sehen ist, die 1 Tag nach der Beimpfung entstand. Die Schale des Apfels nahe der Infektionsnarbe verfärbte sich langsam braun und verfaulte.



Abbildung 30:
Versuchsapfel 3, Tag 1

⁴⁵ Vgl. Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A.: Strasburger (2002), S. 624

⁴⁶ Vgl. Kompetenzzentrum Obstbau-Bodensee: <http://www.kob-bavendorf.de/Service/krankheiten-und-physiologische-stoerungen/lagerfaeulen/botrytis-graufaeule>. (eingesehen am 26.01.2015)

⁴⁷ Vgl. Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A.: Strasburger (2002), S. 624

Im weiteren Verlauf bildete sich ein hellbrauner, nicht einsinkender Fleck, der sich langsam ausdehnte. Nach 4 Tagen entstanden erste weiße Sporenpakete über der Impftasche, wie Abbildung 31 zeigt. Diesen ersten Haufen folgten weitere, die sich kreisförmig anordneten, was vor allem eine Woche nach der Infizierung klar erkennbar war (Abbildung 32). Zu diesem Zeitpunkt überzog die braune Fläche auch bereits den gesamten Apfel. Im Laufe der Beobachtungen begann der dritte Versuchsapfel mehr und mehr dem „Urapfel“ zu ähneln, der auf Seite 16 abgebildet ist.

Durch die Beobachtung der Entwicklung der Krankheit des dritten Apfels ist eindeutig, dass es sich bei diesem Pilz um *Monilinia fructigena* oder *Monilinia laxa*, die Erreger der Monilia-Krankheit, handelt. Die nicht einsinkenden braunen Flecken kurz nach dem Ausbruch der Krankheit, sowie die teils ringförmige Anordnung der Sporenpakete während der Mitte der Beobachtung sind für diese Feststellung ausschlaggebend, wie bereits auf den Seiten 16 bis 18 dieser Arbeit beschrieben wurde. Wie zuvor in Bezug auf den „Urapfel“ erwähnt, ist die wenig ringförmige Anordnung der Sporenpakete durch den auch in einem Labor fehlenden Tag-Nacht-Rhythmus erklärbar.

Außerdem ist in Abbildung 33, die 23 Tage nach der Infizierung entstand, eindeutig sichtbar, dass der dritte Versuchsapfel dasselbe Krankheitsbild zeigt wie der „Urapfel“ (vergleiche Seite 16: Abbildung 18 und 19). Der weiße vom „Urapfel“ isolierte Pilz erfüllt damit das 2. Koch'sche Postulat, da er in einem „Versuchstier“ die gleichen Symptome wie die ursprünglich vorhandenen auslöst.



Abbildung 31:
Versuchsapfel 3, Tag 4



Abbildung 32:
Versuchsapfel 3, Tag 7



Abbildung 33:
Versuchsapfel 3, Tag 23

4.3 Das dritte Postulat

Das letzte und vermutlich am schwierigsten zu beweisende Postulat verlangt den Beweis, dass die aus dem Versuchstier isolierten Keime die gleichen Eigenschaften haben wie die ursprünglich isolierten Keime. Zu diesem Zweck wurde jeder isolierte Pilz zuerst nach der Kultivierung auf der Nährplatte mikroskopiert und anschließend ebenfalls nach der Infektion des Versuchsapfels.

4.3.1 Der dunkelgrüne Pilz

Wie bereits erwähnt, konnte der dunkelgrüne Pilz nicht identifiziert werden. In Hinsicht auf seine Eigenschaften ist jedoch bemerkenswert, dass er sowohl auf der Nährplatte als auch am Versuchsapfel selbst ein sehr ähnliches Erscheinungsbild aufweist, wie auf den Seiten 19 und 20 in den Abbildungen 21 und 23 zu sehen ist.

Beim Mikroskopieren des Pilzes vor und nach der Kultivierung auf dem Versuchsapfel fällt auf, dass er in beiden Fällen eher ovale als runde Sporen ausbildete und dass diese sich sehr in der Nähe der Hyphen befanden, was in den Abbildungen dieser und der folgenden Seite deutlich ist. Sie könnten also wie Knospen an ihnen entspringen. Außerdem hat der Pilz in etwa die gleiche Größe auf den verschiedenen Aufnahmen.



Abbildung 34:
Dunkelgrüner Pilz der Nährplatte
(600-fache Vergrößerung)



Abbildung 35:
Dunkelgrüner Pilz des ersten
Versuchsapfels
(600-fache Vergrößerung)



Abbildung 36:
Dunkelgrüner Pilz der Nährplatte
(600-fache Vergrößerung)



Abbildung 37:
Dunkelgrüner Pilz des ersten Versuchsapfels
(600-fache Vergrößerung)

4.3.2 Der hellgrüne Pilz

Wie bereits zuvor erläutert, handelt es sich bei dem hellgrünen Pilz um *Botrytis cinerea*, die Nebenfruchtform des Pilzes *Sclerotinia fuckeliana*. Im Gegensatz zum vorher beschriebenen dunkelgrünen Pilz weist dieser Pilz kaum Gemeinsamkeiten in Bezug auf sein Erscheinungsbild auf der Nährplatte und am Versuchsapfel auf. Nur gegen Ende der Beobachtungen bildete sich ein kleiner Pilzrasen auf der Infektionsnarbe des zweiten Versuchsapfels aus, der dieselbe Farbe wie der hellgrüne Pilz auf der Nährplatte hatte, was in Abbildung 28 auf Seite 22 zu sehen ist. Beim Mikroskopieren jedoch fiel eine große Ähnlichkeit des Pilzes des Versuchsapfels und der Nährplatte auf.

Die gebildeten Sporen waren bei beiden Beobachtungen eher klein und perfekt kugelförmig, wie in den Abbildungen 38 und 39 zu sehen ist. Da es sich bei dem vorliegenden Pilz um eine Nebenfruchtform, das asexuelle Stadium der Hauptfruchtform *Sclerotinia fuckeliana*, handelt,⁴⁸ sind alle hier sichtbaren Sporen ungeschlechtlich gebildete Konidien. Sie waren in großer Zahl vorhanden und entstanden an den, vor allem in Abbildungen 40 und 41 sichtbaren Sporenträgern durch Knospung.⁴⁹ Diese Art der Konidienbildung wird auch blastische Konidiogenese genannt und aufgrund dieser speziellen Köpfchen, auf denen die Sporen entstehen, werden diese auch als Botryoblastokonidien bezeichnet.⁵⁰



Abbildung 38:
Hellgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung)

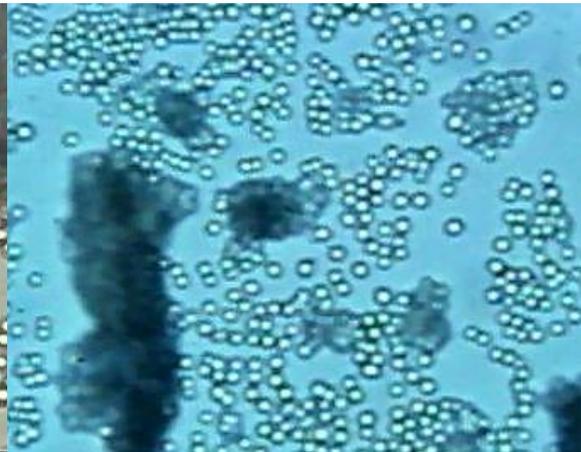


Abbildung 39:
Hellgrüner Pilz des zweiten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung)

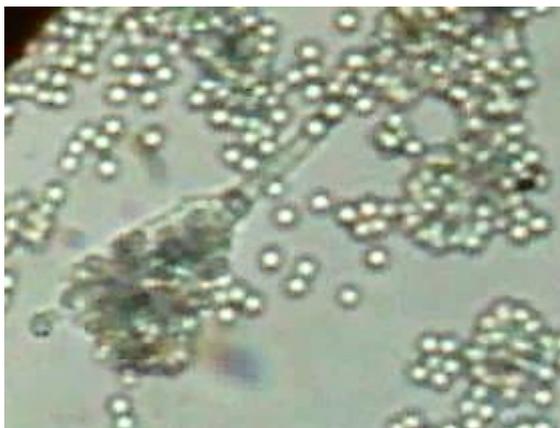


Abbildung 40:
Hellgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung)



Abbildung 41:
Hellgrüner Pilz des zweiten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung)

⁴⁸Vgl. Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A.: Strasburger (2002), S. 624

⁴⁹Vgl. Silverside, A.J.: *Botrytis cinerea* Pers.. 'Grey Mould'. http://bioref.lastdragon.org/anamorphic_fungi/Botrytis_cinerea.html. (eingesehen am 26.01.2015)

⁵⁰Vgl. Niessen, Ludwig: Skript (2009), S. 132 und 133

4.3.3 Der weiße Pilz

Der dritte und letzte Versuchsapfel wurde mit dem weißen Pilz infiziert, der sich als *Monilinia laxa* oder *Monilinia fructigena* erwies, wie zuvor auf Seite 22 beschrieben wurde. Damit konnte das zweite Koch'sche Postulat erfüllt werden. Für die Erfüllung des dritten Postulats konnten kleine Gemeinsamkeiten auch in Bezug auf das äußere Erscheinungsbild des Pilzes, vor allem jedoch im Hinblick auf die Mikroskopaufnahmen festgestellt werden. Wie bereits auf Seite 22 beschrieben wurde, hatte der weiße Pilz auf der Nährplatte ein flauschiges, Watte-ähnliches Erscheinungsbild. Dasselbe bildete sich auch auf der Impfnarbe des dritten Versuchsapfels aus, wie in den Abbildungen 31 und 32 auf Seite 23 dieser Arbeit zu sehen ist.

Im Mikroskop betrachtet fiel besonders auf, dass überraschend wenige Sporen auf den ersten Blick sichtbar waren, im Gegensatz zu den Pilzen, auf die zuvor eingegangen wurde. Dies war sowohl bei den Aufnahmen der Nährplatte als auch bei denen des Versuchsapfels der Fall. Das ist darauf zurückzuführen, dass der Monilia-Erreger in Ketten aneinander

Abbildung 42: entfernt im Zuge der Veröffentlichung

Sporenketten des Monilia-Erregers

gereichte Sporen hat, wie in Abbildung 42 zu sehen ist.⁵¹ Da *Monilinia laxa* und *Monilinia fructigena* sich ausschließlich ungeschlechtlich vermehren, handelt es sich hierbei wie bei dem zuvor beschriebenen Pilz um Konidien. Auch in diesem Fall entstehen sie durch eine blastische Konidiogenese, bei der ein Teil einer Zelle zur Konidie wächst und dann von dieser durch eine Zellwand abgegrenzt wird (=Knospung).⁵² Der Monilia-Erreger hat, wie bereits erwähnt, Konidienketten. Bei ihnen handelt es sich um Blastokonidien,⁵³ die durch fortgesetzte Sprossung entstehen, wobei die jüngste Zelle an der Spitze der Kette entsteht. Diese können sich verzweigen und verlängern.

⁵¹Vgl. Mycologue publications: The fifth Kingdom – Chapter 4b. A Survey of Ascomycetous Holomorphs. 2010. <http://www.mycolog.com/CHAP4b.htm>. (eingesehen am 26.01.2015)

⁵²Vgl. Niessen, Ludwig: Skript (2009), S. 132

⁵³Vgl. Spektrum Akademischer Verlag: Moniliales. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/moniliales/43686>. (eingesehen am 26.01.2015)



Abbildung 43:
Weißer Pilz der Nährplatte (400-fache Vergrößerung)



Abbildung 44:
Weißer Pilz des dritten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung)

Diese Konidienketten sind in Abbildung 43 und besonders gut in Abbildung 44 zu sehen. In der rechten Abbildung ist eindeutig zu erkennen, dass die Spitze ein noch kleinerer Auswuchs ist, der sich schon bald vergrößern wird. Im gesamten Myzel sind viele dieser Sporenketten vorhanden, sowohl in der Probe der Nährplatte als auch in der Probe des Versuchsapfels.

Das dritte Postulat konnte so gut wie es mit den zur Verfügung stehenden Mitteln möglich ist, erfüllt werden. Vor allem der hellgrüne und der weiße Pilz boten auffällige Gemeinsamkeiten der Mikroskopaufnahmen der Nährplatte und ihres jeweiligen Versuchsapfels. Der Vergleich wurde vor allem vereinfacht, weil ihre Art identifiziert werden konnte. Der weiße Pilz konnte als *Monilia*-Erreger mit Hilfe seines offensichtlichen Krankheitsbildes alle drei Postulate erfüllen. Er wurde vom „Urapfel“ isoliert und auf einer Nährplatte kultiviert und er verursachte dasselbe Krankheitsbild des „Urapfels“ in einem Versuchsapfel. Abschließend ließen sich im mikroskopischen Vergleich des ursprünglichen Erregers und des Erregers des Versuchsapfels auch die gleichen Eigenschaften nachweisen.

5 Schlusswort

Ziel dieser Arbeit war es zu demonstrieren, dass die Koch'schen Postulate auch mit sehr einfachen Mitteln nachvollziehbar sind. Wie im vorhergehenden Kapitel beschrieben, erfüllte das durchgeführte Experiment an Hand der Monilia-Krankheit jedes einzelne Postulat. Dadurch wurde auch die Fragestellung beantwortet, da keine teuren oder aufwendigen Maschinen oder Hilfsmittel verwendet wurden.

Die Nährplatten für den Versuch wurden mit für jeden zugänglichen Zutaten selbst hergestellt, wie auf Seiten 10 bis 12 erläutert wurde. Um das Medium zu sterilisieren, wurde an Stelle eines teuren Autoklavens ein einfacher, in fast jedem Haushalt vorhandener Druckkochtopf verwendet. Ein großes Problem stellte anfangs die Sterilität beim Gießen der Platten und beim anschließenden Beimpfen dar. Diese konnte allerdings erfolgreich durch zwei Bunsenbrenner auf der Arbeitsplatte, die zuvor mit Alkohol desinfiziert wurde, gewährt werden. Außerdem wurden bei jeglicher Arbeit mit den Händen selbstverständlich Handschuhe getragen.

Eine Auffälligkeit des Experimentes war, dass der erste Versuchsapfel sehr viel länger brauchte um ein Krankheitsbild auszubilden. Dies hätte vermutlich durch einheitliche Gefäße verhindert werden können, es beeinflusst jedoch nicht das Ergebnis des Experimentes, da die Wachstumszeit der Pilze keine Rolle spielte. Da für den ersten Pilz auch keine spezifische Erkrankung festgestellt werden konnte, spielte er ohnehin eine geringe Rolle für die Erfüllung der Postulate.

Problematisch war durch die eingeschränkten Mittel auch die Erfüllung des letzten Postulats, da dieses meistens nur durch klinische Tests bewiesen werden kann. Die Verwendung eines Mikroskops stellte daher den professionellsten Lösungsweg dar, obwohl Pilze sehr schwer zu unterscheiden und kategorisieren sind.

Trotz dieser kleinen Hindernisse wurden durch das Experiment eindeutig die Postulate erfüllt und das Ziel dieser Arbeit wurde erreicht. Man kann also sehen, dass Wissenschaft nicht nur hinter streng verschlossenen Türen stattfinden muss, sondern auch beispielsweise in der eigenen Garage Platz finden kann, was zahlreiche Biohacker schon bewiesen haben. Zur Zeit der Entdeckung der Postulate standen immerhin bestenfalls die einfachen Mittel von heute, sowie ein paar handgemachte, heutzutage als exotisch geltende Apparaturen zur Verfügung.⁵⁴

⁵⁴Vgl. Gradmann: Krankheit (2005), S.33

6 Literaturverzeichnis

6.1 Bücher und Skripte

Bresinsky, Andreas; Kadereit, Joachim u. A. (begründet von Noll, Fritz; Schenck, Heinrich; Schimper, A.F. Wilhelm und Strasburger, Eduard): Strasburger. Lehrbuch der Botanik. 35. Auflage. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg 2002.

Drews, Gerhart: Mikrobiologie. Die Entdeckung der unsichtbaren Welt. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 2010.

Ebert, Veronika: Skriptum Mikrobiologisches Labor in Kompendium für Biochemie, angewandte Mikrobiologie und Gentechnik. HBLVA für chemische Industrie 2013.

Gradmann, Christoph: Krankheit im Labor. Robert Koch und die medizinische Bakteriologie. Göttingen: Wallstein Verlag 2005

Kahl, Erich; Russ, Kurt; Vukovits, Georg; Böhm, Helene (Hrsg. Bundesanstalt für Pflanzenschutz Wien): Wichtige Krankheiten und Schädlinge im Obstbau. 5. Auflage. Wien: 1976.

Niessen, Ludwig: Skript Praktikum Mikrobiologie I. München: Technische Universität München 2009.

6.2 Internetquellen

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft:

<http://www.lfl.bayern.de/ips/kleingarten/035533/>. (eingesehen am 26.01.2015)

Behr, Jürgen: Skript Praktikum Mikrobiologie II. München: Technische Universität München 2009.

http://tmw.wzw.tum.de/fileadmin/Skripten/Skript_Praktikum_MiBi_2_0910.pdf. (eingesehen am 26.01.2015)

Der Bio-Gärtner: Monilia [Monilia laxa, Monilia fructigena]. 2013. <http://www.bio-gaertner.de/pflanzenkrankheiten/Monilia>. (eingesehen am 26.01.2015)

Frischknecht, Kurt: SGM Grundpraktikum Mikrobiologie SI+SII. Die Anzucht von Mikroorganismen.

<http://www.biofachforum.ch/BIOTEXT/Exp1/Kurs1Exp1.htm>. (eingesehen am 26.01.2015)

- Jöstingmeyer, Petra: Eine Checkliste für Erreger. Die Koch'schen Postulate. In: Scinexx (05.07.2005). Düsseldorf: MMCD NEW MEDIA. <http://www.scinexx.de/dossier-detail-243-7.html>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Koch, Robert: Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. <http://edoc.rki.de/documents/rk/508-5-26/PDF/5-26.pdf>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Koch, Robert: Über die Ätiologie der Tuberkulose. <http://philoscience.unibe.ch/documents/kursarchiv/WS05/koch-a.pdf>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Kompetenzzentrum Obstbau-Bodensee: <http://www.kob-bavendorf.de/Service/krankheiten-und-physiologische-stoerungen/lagerfaeulen/botrytis-graufaeule>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Mycologue publications: The fifth Kingdom – Chapter 4b. A Survey of Ascomycetous Holomorphs. 2010. <http://www.mycolog.com/CHAP4b.htm>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Naef, Andreas; Zoller, Brigitte; Viret, Olivier (Hrsg. Verein Publikationen Spezialkulturen, c/o Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW): Parasitäre Lagerkrankheiten der Äpfel und Birnen. Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW 2007 <http://www.agroscope.admin.ch/publikationen/einzelpublikation/index.html?lang=de&aid=431&pid=8578>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Petzoldt, Regina: Monilia-Krankheit der Obstgehölze. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie. Gartenakademie 2009. <http://www.kleingaertner-hot.de/monilia.pdf> (eingesehen am 26.01.2015)
- Silverside, A.J.: Botrytis cinerea Pers. . 'Grey Mould'. http://bioref.lastdragon.org/anamorphic_fungi/Botrytis_cinerea.html. (eingesehen am 26.01.2015)
- Spektrum Akademischer Verlag: Fungi Imperfecti. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/fungi-imperfecti/26037>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Spektrum Akademischer Verlag: Monilia. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/monilia/43682>. (eingesehen am 26.01.2015)
- Spektrum Akademischer Verlag: Moniliales. Spektrum Akademischer Verlag 1999. <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/moniliales/43686>. (eingesehen am 26.01.2015)

Wieland, Melanie: Dem Milzbrand auf der Spur. Vom Landarzt zum Forscher von Rang.
<http://www.scinexx.de/dossier-detail-243-5.html>. (eingesehen am 26.01.2015)

Wieland, Melanie: Robert Koch. Pionier der Mikrobiologie. http://www.planet-wissen.de/alltag_gesundheit/sauberkeit/hygiene/hygiene_epidemiologie.jsp.
(eingesehen am 26.01.2015)

Wuttke, Matthias: Steckbrief. Monilia-Spitzendürre und Fruchtfäule am Apfel (Monilia laxa und Monilia fructigena).
<http://www.lalf.de/fileadmin/media/PDF/ps/themen/garten/MoniliaKernobst2014.pdf>. (eingesehen am 26.01.2015)

7 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Robert Koch Quelle: http://en.wikipedia.org/wiki/Robert_Koch (eingesehen am 25.01.2014)	8
Abbildung 2: Zutaten zur Herstellung des Nährmediums Aufgenommen am 14.11.2013	11
Abbildung 3: Nährmedium im Dampfkochtopf um autoklaviert zu werden Aufgenommen am 14.11.2013	12
Abbildung 4: Dampfdrucktopf (Schnellkochtopf) als Ersatzautoklav Quelle: Frischknecht, Kurt: SGM Grundpraktikum Mikrobiologie SI+SII. Die Anzucht von Mikroorganismen. http://www.biofachforum.ch/BIOTEXT/Exp1/Kurs1Exp1.htm (eingesehen am 25.01.2015)	12
Abbildung 5: Sterilbench-Ersatz Aufgenommen am 14.11.2013	13
Abbildung 6: Fertige Nährplatten Aufgenommen am 14.11.2013	13
Abbildung 7: „Urapfel“ Aufgenommen am 18.11.2013	14
Abbildung 8: Beimpfte Nährplatten und Kontrollplatte, Tag 0 Aufgenommen am 18.11.2013	14
Abbildung 9: Beimpfte Nährplatte 1, Tag 7 Aufgenommen am 25.11.2013	15
Abbildung 10: Beimpfte Nährplatte 2, Tag 7 Aufgenommen am 25.11.2013	15
Abbildung 11: Infizierte Versuchsäpfel, Tag 0 Aufgenommen am 25.11.2013	16
Abbildung 12: Versuchsapfel 1, Tag 4 Aufgenommen am 29.11.2013	16
Abbildung 13: Versuchsapfel 2, Tag 4 Aufgenommen am 29.11.2013	16
Abbildung 14: Versuchsapfel 3, Tag 4 Aufgenommen am 29.11.2013	16

Abbildung 15: Versuchsapfel 1, Tag 21 Aufgenommen am 16.12.2013	16
Abbildung 16: Versuchsapfel 2, Tag 21 Aufgenommen am 16.12.2013	16
Abbildung 17: Versuchsapfel 3, Tag 21 Aufgenommen am 16.12.2013	16
Abbildung 18: Die Vorderseite des „Urapfels“ Aufgenommen am 18.11.2013	17
Abbildung 19: Die Unterseite des „Urapfels“ Aufgenommen am 18.11.2013	17
Abbildung 20: Fruchtmumie (Apfel) Quelle: Christoph Hoyer. http://pflanzenenschutzdienst.rp-giessen.de/pflanzenchutzinfothek/obst/apfel/schaeden-an-fruechten/monilia-fruchtfaeule/ (eingesehen am 25.01.2015)	18
Abbildung 21: Beimpfte Nährplatte 1, Tag 7 Aufgenommen am 25.11.2013	20
Abbildung 22: Versuchsapfel 1, Tag 11 Aufgenommen am 6.12.2013	21
Abbildung 23: Versuchsapfel 1, Tag 21 Aufgenommen am 16.12.2013	21
Abbildung 24: Versuchsapfel 1 Tag 23 Aufgenommen am 18.12.2013	21
Abbildung 25: Nährplatte 1, Tag 16 Aufgenommen am 4.12.2013	22
Abbildung 26: Versuchsapfel 2, Tag 3 Aufgenommen am 28.11.2013	22
Abbildung 27: Versuchsapfel 2, Tag 9 Aufgenommen am 4.12.2013	22
Abbildung 28: Versuchsapfel 2, Tag 23 Aufgenommen am 18.12.2013	23

Abbildung 29: Botrytis Fruchtfäule Quelle: Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee. http://www.kob-bavendorf.de/Service/krankheiten-und-physiologische-stoerungen/lagerfaeulen/botrytis-graufaeule/botrytis-fruchtfaeule-1/view (eingesehen am 25.01.2015)	23
Abbildung 30: Versuchsapfel 3, Tag 1 Aufgenommen am 26.11.2013	23
Abbildung 31: Versuchsapfel 3, Tag 4 Aufgenommen am 29.11.2013	24
Abbildung 32: Versuchsapfel 3, Tag 7 Aufgenommen am 2.12.2013	24
Abbildung 33: Versuchsapfel 3, Tag 23 Aufgenommen am 18.12.2013	24
Abbildung 34: Dunkelgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 25.11.2013	25
Abbildung 35: Dunkelgrüner Pilz des ersten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 4.12.2013	25
Abbildung 36: Dunkelgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 25.11.2013	26
Abbildung 37: Dunkelgrüner Pilz des ersten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 4.12.2013	26
Abbildung 38: Hellgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 25.11.2013	27
Abbildung 39: Hellgrüner Pilz des zweiten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 4.12.2013	27
Abbildung 40: Hellgrüner Pilz der Nährplatte (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 25.11.2013	27
Abbildung 41: Hellgrüner Pilz des zweiten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung) Aufgenommen am 4.12.2013	27
Abbildung 42: Sporenketten des Monilia-Erregers Quelle: Mycologue publications. 2010. http://www.mycolog.com/CHAP4b.htm (eingesehen am 25.01.2015)	27

Abbildung 43: Weißer Pilz der Nährplatte (400-fache Vergrößerung)	
Aufgenommen am 25.11.2013	29
Abbildung 44: Weißer Pilz des dritten Versuchsapfels (600-fache Vergrößerung)	
Aufgenommen am 4.12.2013	29

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich diese vorwissenschaftliche Arbeit eigenständig angefertigt und nur die im Literaturverzeichnis angeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Wien, 11.02.2015

Ort, Datum

Magdalena Schindler

Zustimmung zur Aufstellung in der Schulbibliothek

Ich gebe mein Einverständnis, dass ein Exemplar meiner vorwissenschaftlichen Arbeit in der Schulbibliothek meiner Schule aufgestellt wird.

Wien, 11.02.2015

Ort, Datum

Magdalena Schindler