

Bestimmung von Hausfäulepilzen mittels DNA-Analyse

A. Steitz

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

- chemoheterotrophe Lebewesen
Energie und C aus org. Molekülen
- daher keine Pflanzen
- keine Tiere, da Pilze vakuolisierte Zellen
mit einer Wand aus Chitin besitzen
- selbständiges Taxon
- wichtige Funktion als Destruent in
Stoffkreisläufen in der Natur



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

➤ abiotische Faktoren

- künstliche Holz Trocknung
- Einwirken von Eisensalzlösungen

➤ biotische Faktoren

- Schimmel
- Bläuepilze (Verblauung)

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

„biotische“ Verbläue

➤ Stammholzbläue

➤ Schnittholzbläue

➤ Anstrichbläue



➤ Stammholzbläue

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Ceratocystis-Arten, *Leptographium lundbergii* und *Discola pinicola*

➤ Schnittholzbläue

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Cladosporium-Arten und *Allantophoma nematospora*

➤ Anstrichbläue

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

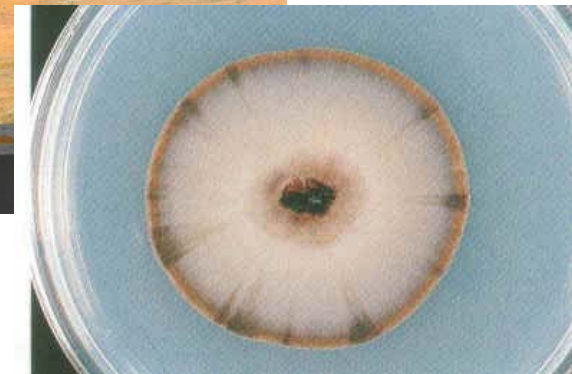
Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Aureobasidium pullulans und *Sclerophoma pityophila*

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

notwendige Umweltbedingungen:

- ausreichend hohe Holzfeuchtigkeit > 20 %
- über längere Perioden
- Temperaturen zwischen 3° C und 38° C

pilzspezifische Enzymsysteme:

- Lignin, Hemicellulosen und Cellulose



Weißfäule

- Cellulose und Hemicellulose



Moderfäule



Braunfäule



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Abbau von Lignin, Hemicellulosen und
Cellulose



Weißfäule

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

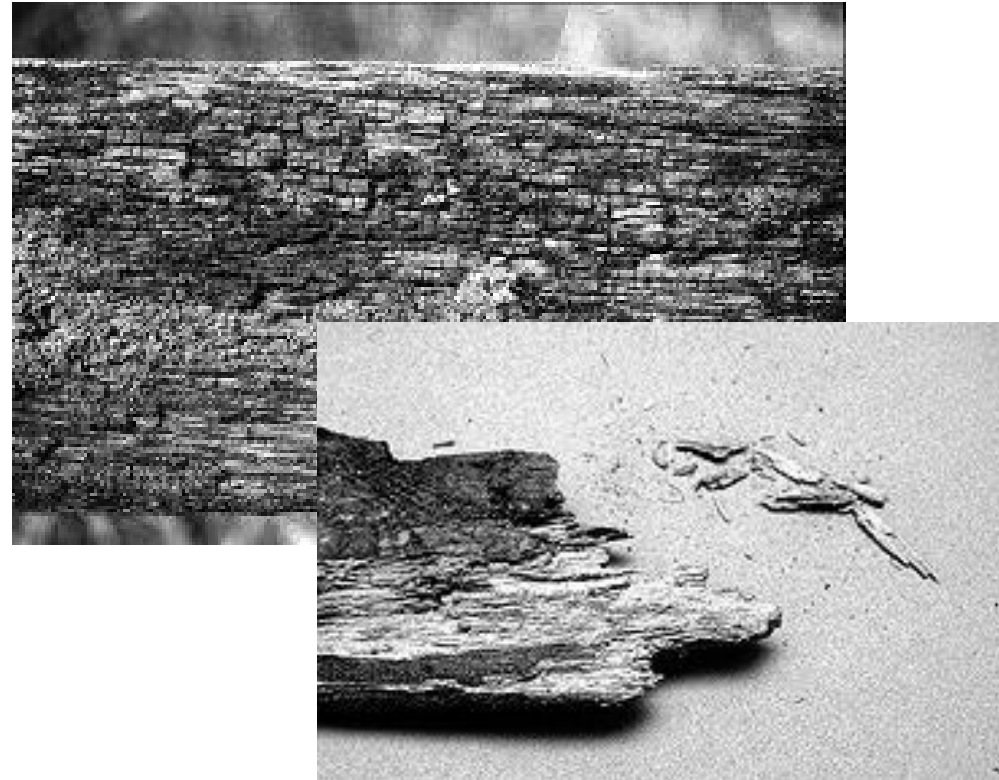
Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Abbau von Cellulose und Hemicellulosen



Moderfäule

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Abbau von Cellulose und Hemicellulosen



Braunfäule

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

einige häufig beobachtete Hausfäulepilze:

- Echter Hausschwamm (*Serpula lacrimans*)
- Brauner Kellerschwamm (*Coniophora puteana*)
- Porenschwämme (*Poria sp.*)
- Blättlinge (*Gloeophyllum sp.*)
- Ausgebreiteter Hausporling (*Donkiopora expansa*)



Porenschwamm-Gruppe und weißer Porenschwamm



Oberflächenmycel



Fruchtkörper



Blättlinge (*Gloephyllum* sp.)



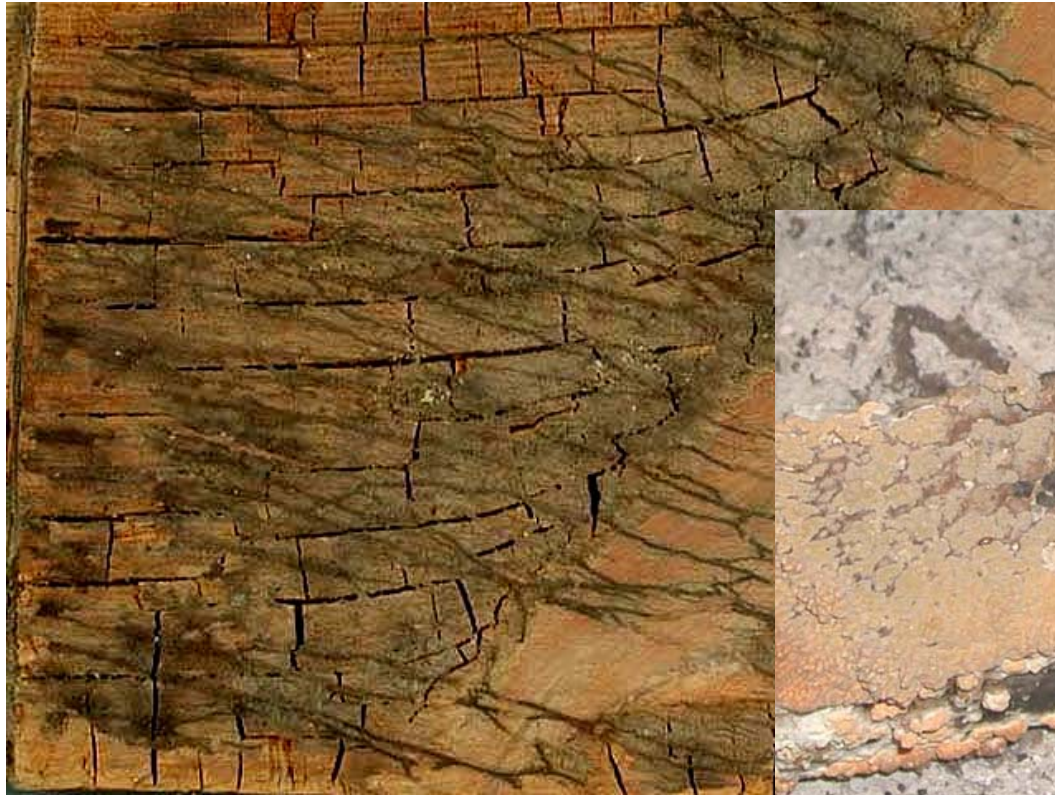
Fruchtkörper



Innenfäule



Brauner Kellerschwamm (*Coniophora puteana*)



Oberflächenmycel



Fruchtkörper

Echter Hausschwamm



Oberflächenmycel

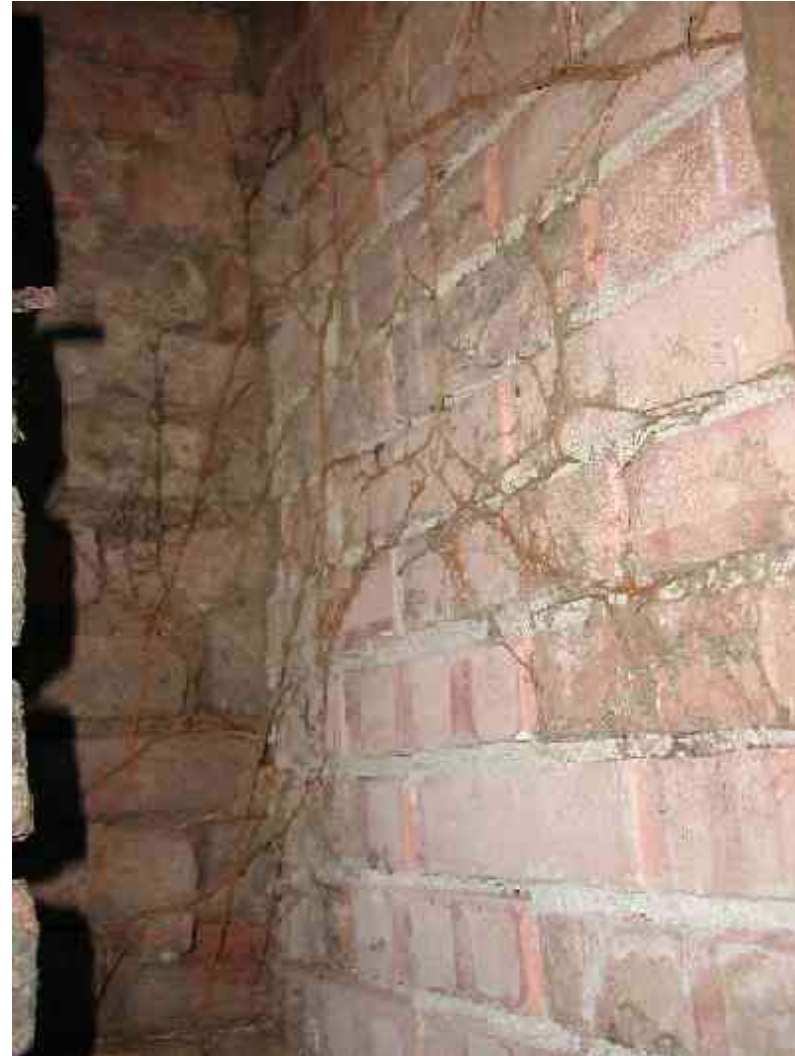


Fruchtkörper



Echter Hausschwamm

Strangmycel kann
holzfreie Bereiche
(Mauer, Fugen,...)
überwachsen und
in trockene Etagen
gelangen



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

**Bekämpfungsmaßnahmen gegen
Pilz- und Insektenbefall**

**Feststellung des Schadorganismus
und Bestimmung des
Befallumfanges**

**Im Zweifelsfall ist wie bei einem
Befall durch den Echten
Hausschwamm vorzugehen**



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Alle - auch die nicht geschädigten - Holzteile sind mindestens 1,5 m über den erkennbaren Befall hinaus zu entfernen.



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Schadensfälle

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Ansehen, Angreifen, Anbeilen

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Endoskopie

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

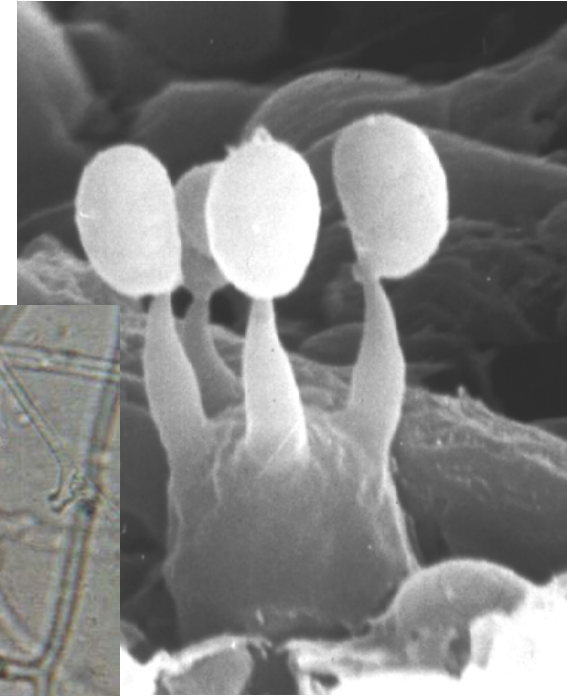
Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Basidiosporen



Mycelediagnostik



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

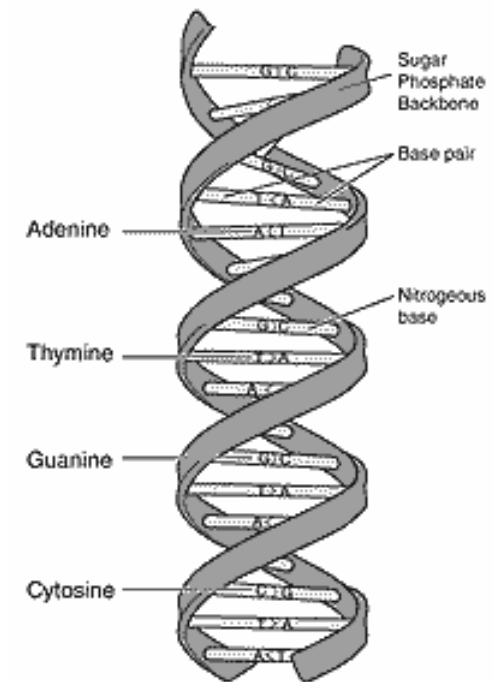
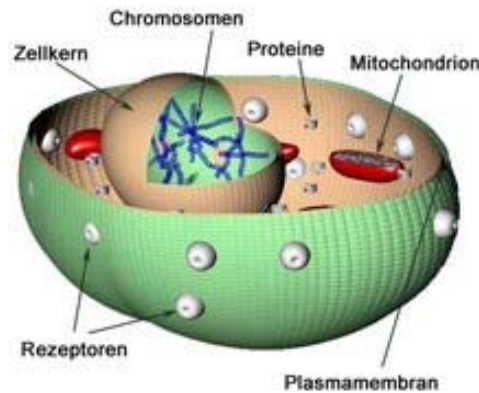
Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Techniken auf der Grundlage der Eiweiße

- SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE)
- Immunologische Verfahren



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Techniken auf der Grundlage der Nukleinsäuren

- RAPD
- RFLP
- Sequenzierung
- PSP



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

DNA-Extraktion

Aufbrechen der Zelle



Lyse



Reinigung der DNA



Fällung der DNA



Elution



für die PCR einsetzbare

DNA



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

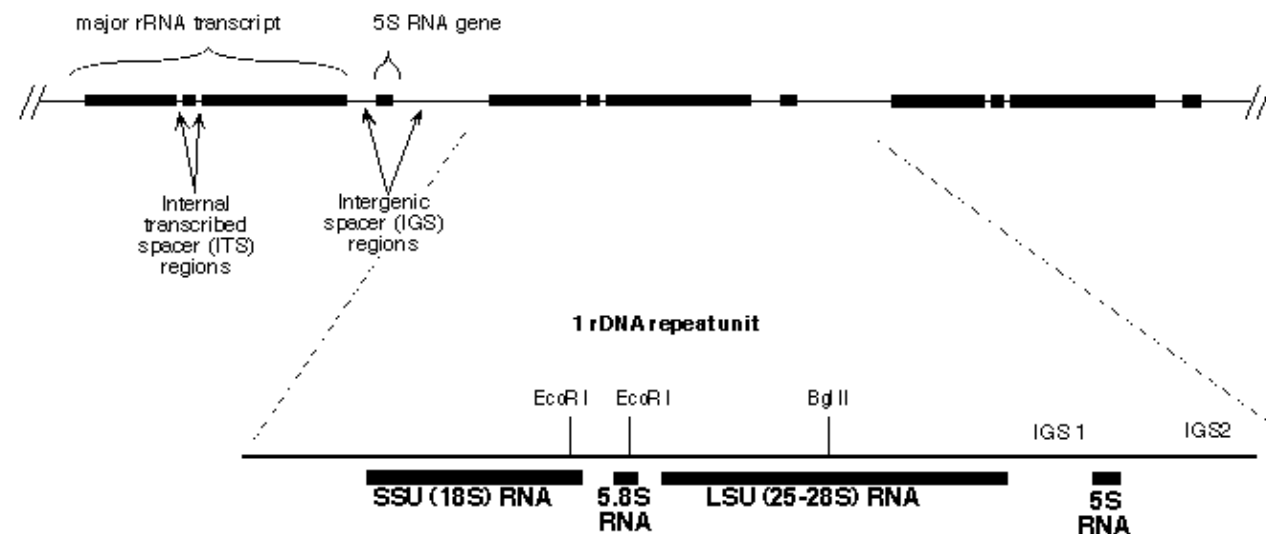
Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Genbereiche, die untersucht werden



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

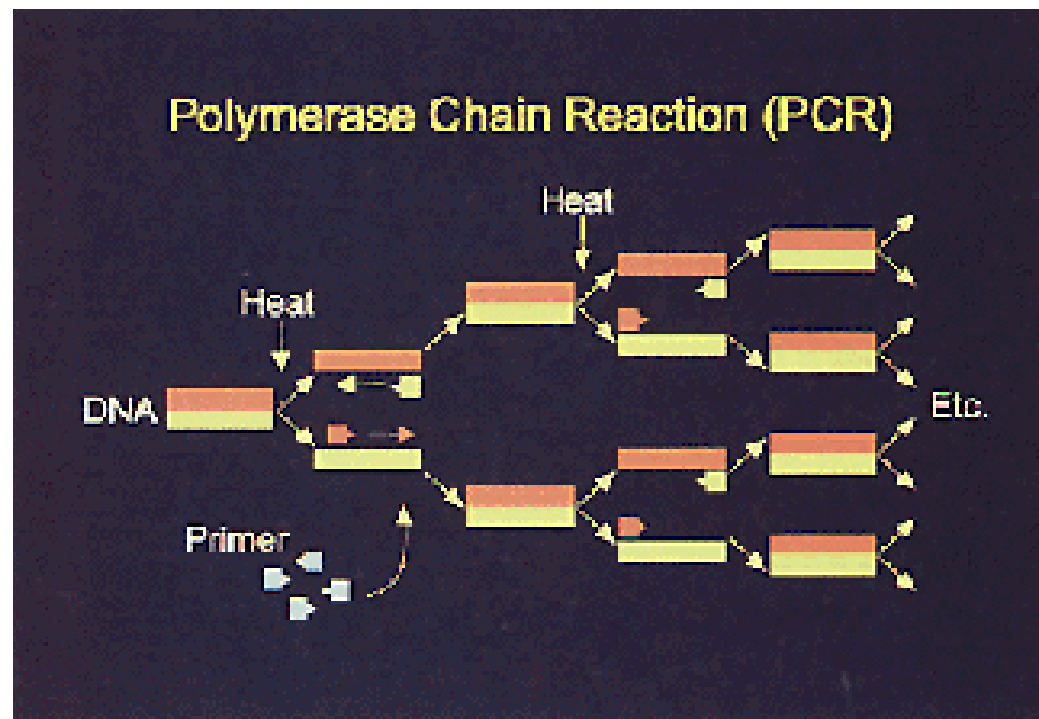
Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

PCR = Vervielfachung eines
ausgewählten DNA-Abschnittes

Primer zur Definition der Startstellen



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

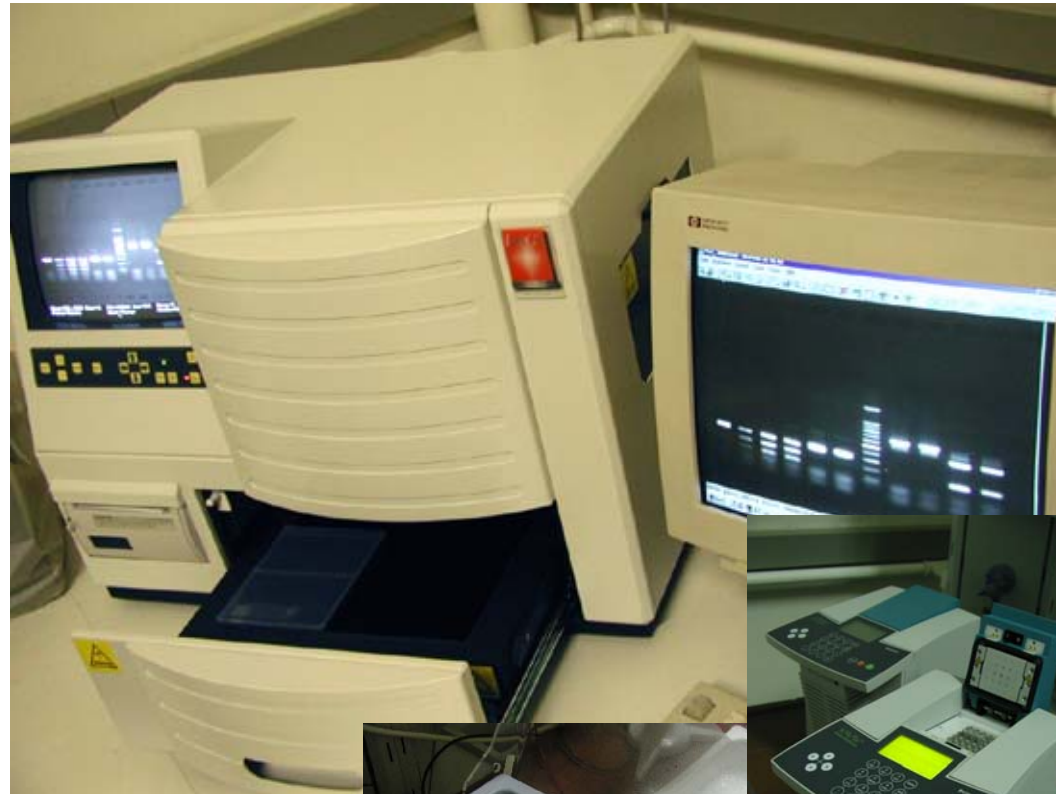
Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Auftrennung der DNA
mit Gelelektrophorese

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

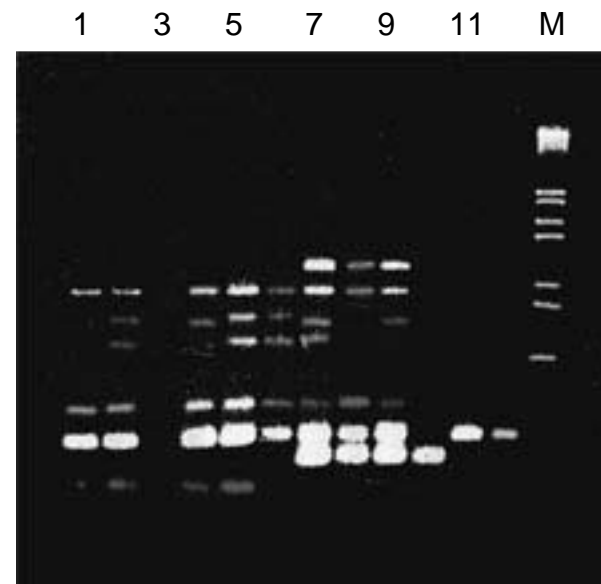
Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Untersuchung von „Randomly amplified polymorphic DNA“ (RAPD)



Unter Verwendung nur eines Primers (10 bp) werden mit der PCR zufällige verschiedene DNA-Abschnitte vermehrt. Die Pilzarten unterscheiden sich durch ihre Fingerprints

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

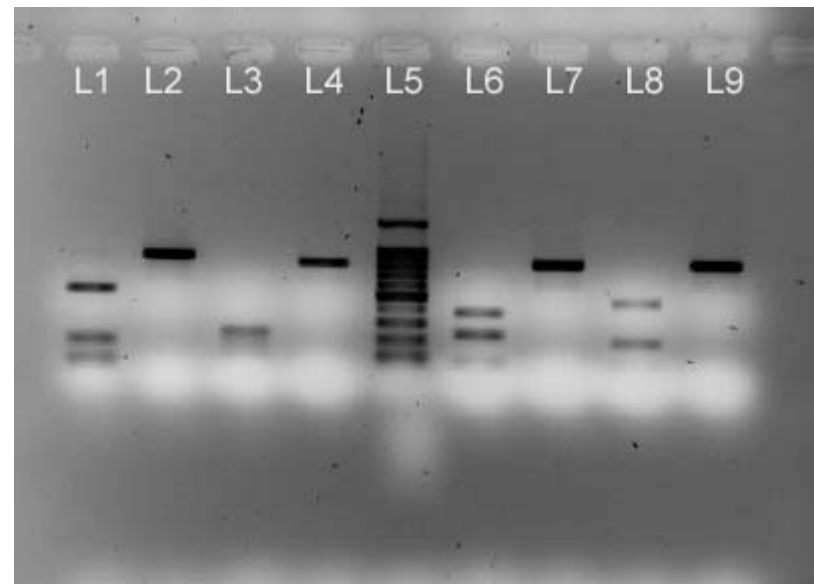
Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Untersuchung von Restriktions- Fragment-Längen- Polymorphismen (RFLP)

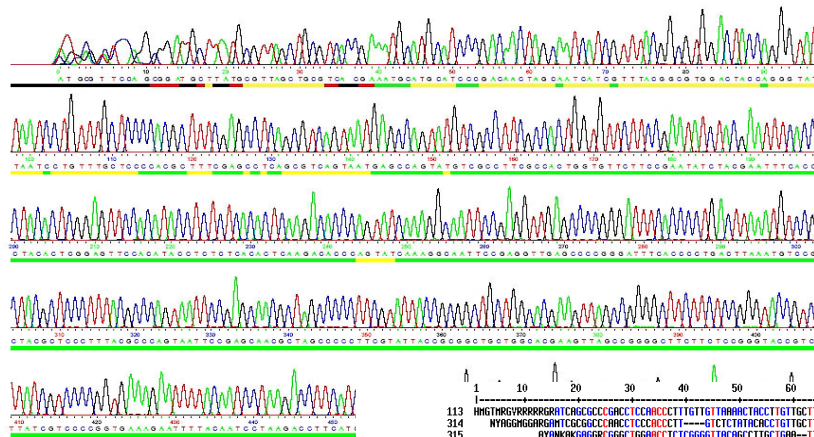


Verwendung universeller Primer mit anschließendem Restriktionsverdau, in dem Restriktionsenzyme die DNA in Fragmente schneiden und ein charakteristisches Muster (Fingerprint) sichtbar wird.

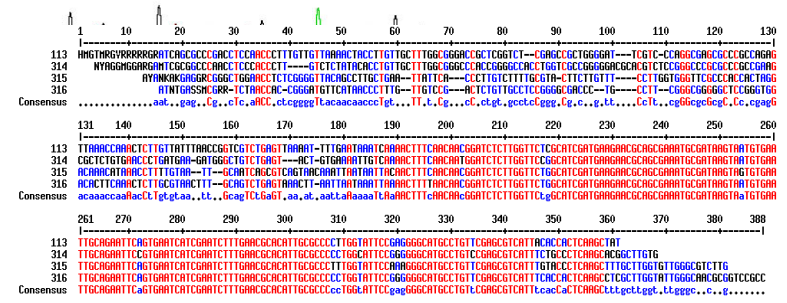
- Einleitung
- Holz verfärbende Pilze
- Holz zerstörende Pilze
- Hausfäule
- ÖNORM B 3802-3
- Schadensfälle
- Schadensanalyse
- Molekularbiologie
- Methode

Zusammenfassung

Untersuchung der Sequenz der rDNA (Sequenzierung)



Sequenzierung



Alignment

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

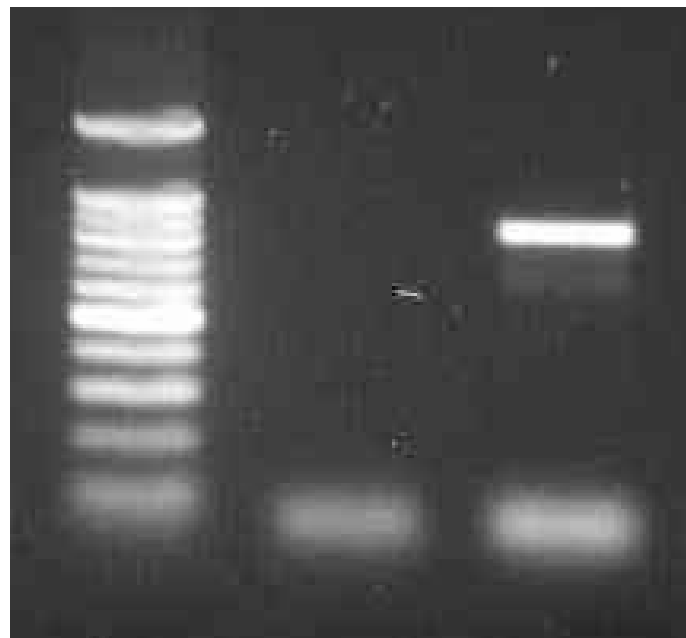
Methode

Zusammenfassung

PCR mit pilzspezifischen oder
artspezifischen Primer (PSP)

→ ja / nein-Aussage

nein ja



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

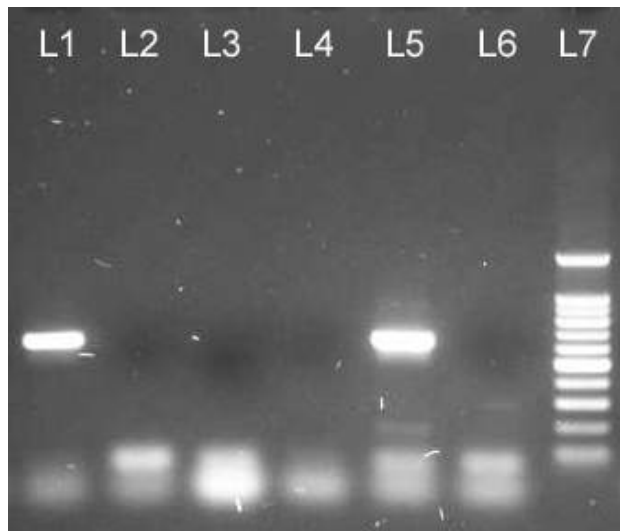
Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Pilzbeschreibung:

Häutiges Oberflächenmycel auf Mauerwerk

**Echter
Hausschwamm ?**

Nr. Primer

L1 + Kontr.

L2 - Kontr.

L3 Serp.lacr.

L4 Serp.him.

L5 Con.put.

L6 Antr.vaill.

L7 100bp-M.

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Pilzbeschreibung:

Wattiges Oberflächen-
mycel auf Holz

**Echter
Hausschwamm ?**

Nr. Primer

L1 Antr.vaill.

L2 Con.put.

L3 Serp.lacr.

L4 Serp.him.

L5 100bp-M.

L6 - Kontr.

L7 + Kontr.

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

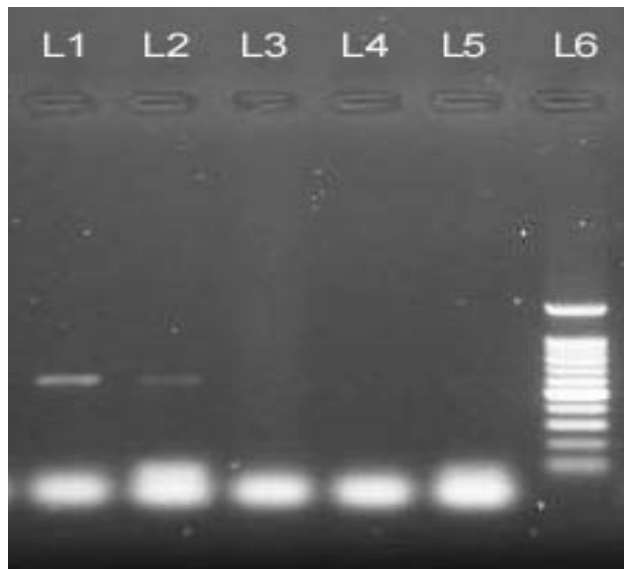
Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung



Pilzbeschreibung:

feines Pilzmycel an der
Deckenunterseite;
Strangmycel oberhalb
der Putzschicht

**Echter
Hausschwamm ?**

Nr. Primer

L1 **Serp.lacr.**

L2 **Serp.lacr.**

L3 Serp.him.

L4 Con.put.

L5 Antr.vaill.

L6 100bp-M.

-/+ Kontrolle
nichtabgebildet

Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

Leistungsfähigkeit der Methode

- ✓ von der Morphologie des Ausgangsmaterial unabhängig
- ✓ auch mit nur wenig Ausgangsmaterial ist eine Analyse möglich (z.B. Denkmalschutz)
- ✓ keine Reinkulturen erforderlich
- ✓ schnelles Ergebnis
- ✓ Methode mit hoher Spezifität



Einleitung

Holz verfärbende Pilze

Holz zerstörende Pilze

Hausfäule

ÖNORM B 3802-3

Schadensfälle

Schadensanalyse

Molekularbiologie

Methode

Zusammenfassung

➤ Bauschadensanalyse:

Ansehen - Angreifen - Anbeilen (direkte Methode)

bautechnische Endoskopie (indirekte Methode)

➤ makroskopische Pilzbestimmung

Standort und Klimabedingungen

Fruchtkörper, Mycelien

➤ mikroskopische Pilzbestimmung

➤ DNA-Analyse

