

Diagnose phytopathogener Bakterien

Einsendung

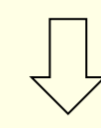
Einsendung von Pflanzenproben (z.B.: ganze Pflanzen, Pflanzenteile, Saatgut) mit dem Verdacht auf Bakterienbefall. Ein vom Auftraggeber ausgefülltes Begleitformular enthält alle nötigen Informationen, die für die Bearbeitung der Probe wichtigen sind.



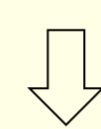
Pflanzenprobe (links, Foto: Brandt) mit Begleitformular (rechts).

Isolierung

Entnahme kleiner Gewebestücke aus den Übergängen von krankem zu gesundem Pflanzengewebe. Zerkleinern in steriler physiologischer Kochsalzlösung (0,8 %).



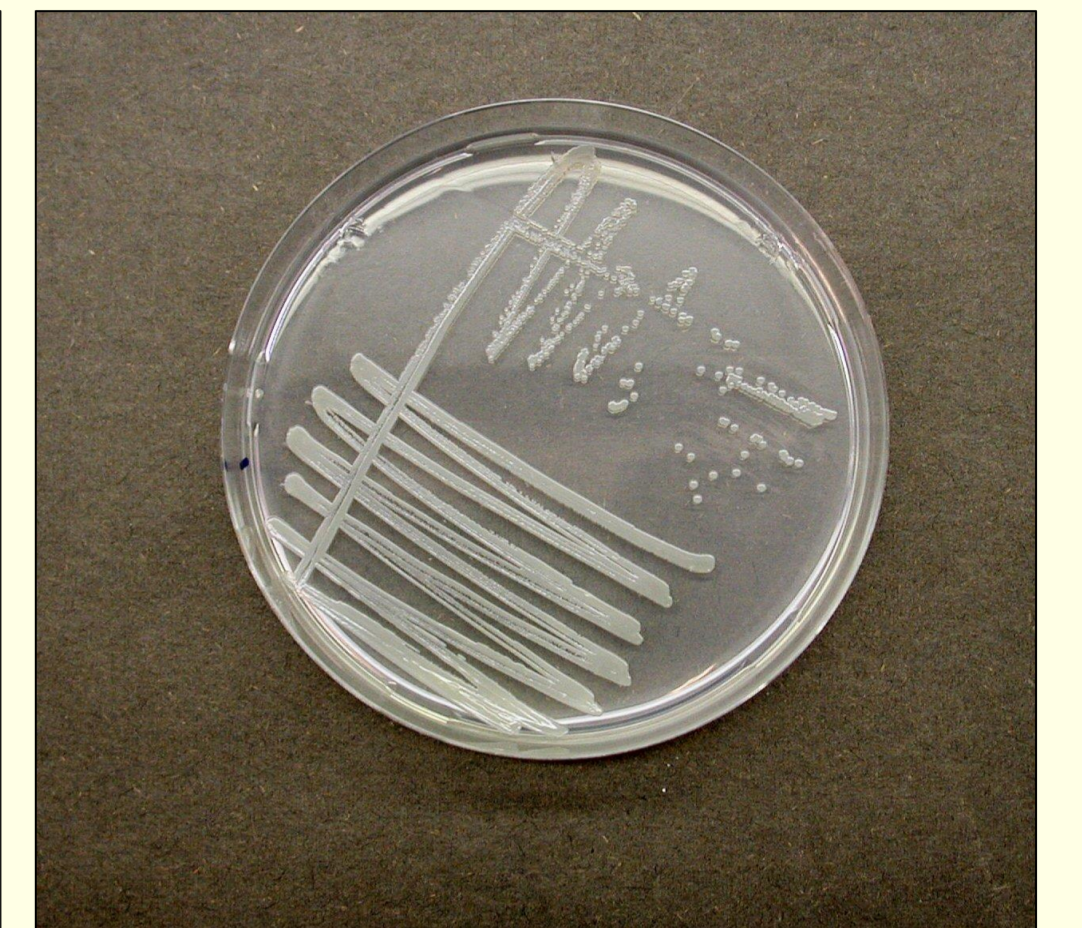
Ausplattierung auf verschiedenen Nährmedien. Bakterien bilden innerhalb von etwa 2 Tagen im Brutschrank bei 28 °C sichtbare Kolonien. Auswertung der Platten, Isolierung von Bakterien-Kolonien, die in ausreichend großer Menge vorkommen und Herstellen von Reinkulturen



Bestimmung der Isolate.



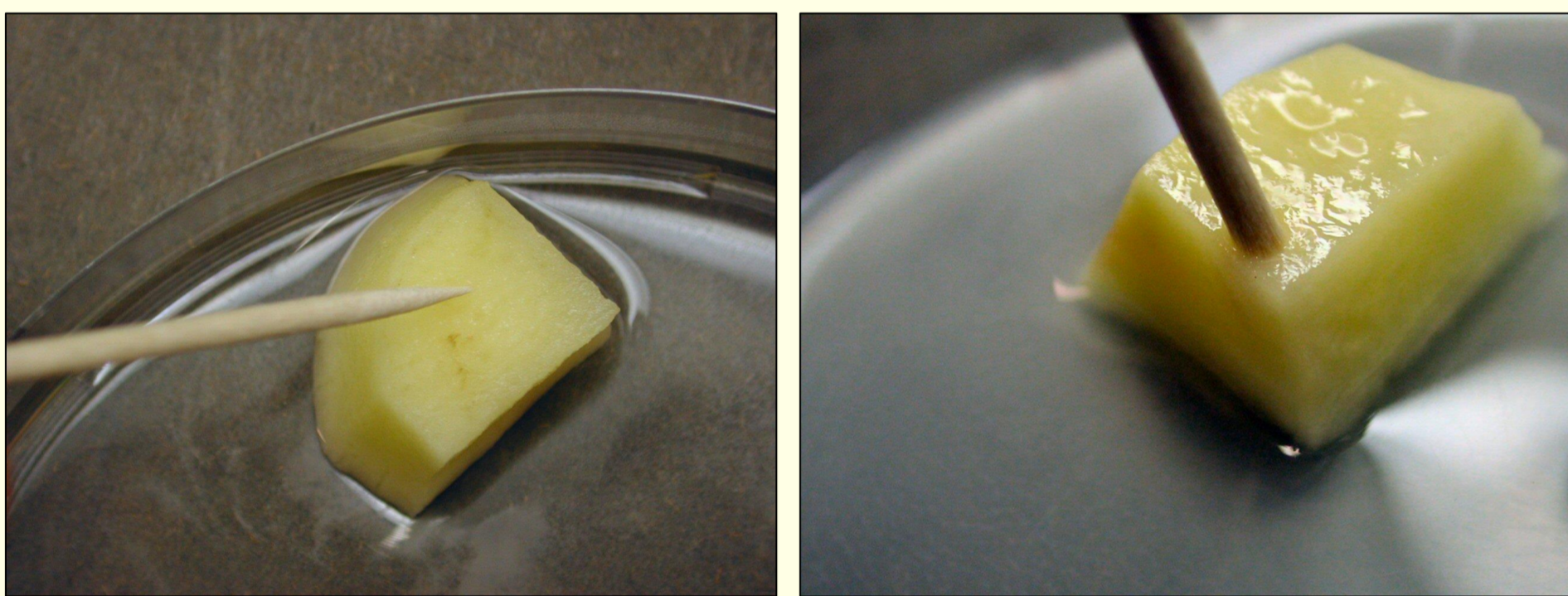
Mörser und Pistill zum Zerkleinern der Pflanzenteile.



Reinkultur eines Bakteriums.

Bestimmung der Isolate (Beispiele)

Kartoffeltest



Weichfäuleerreger zeigen ihr Können auch auf Kartoffelstücken. Links die negative Kontrolle, rechts der Fäuleverursacher *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

Gramreaktion



Unterschiede im Zellwandaufbau der Bakterien. Links grampositive (keinen Faden ziehend), rechts gramnegative Reaktion (Faden ziehend).

Physiologische Tests

Arginindihydrolasetest



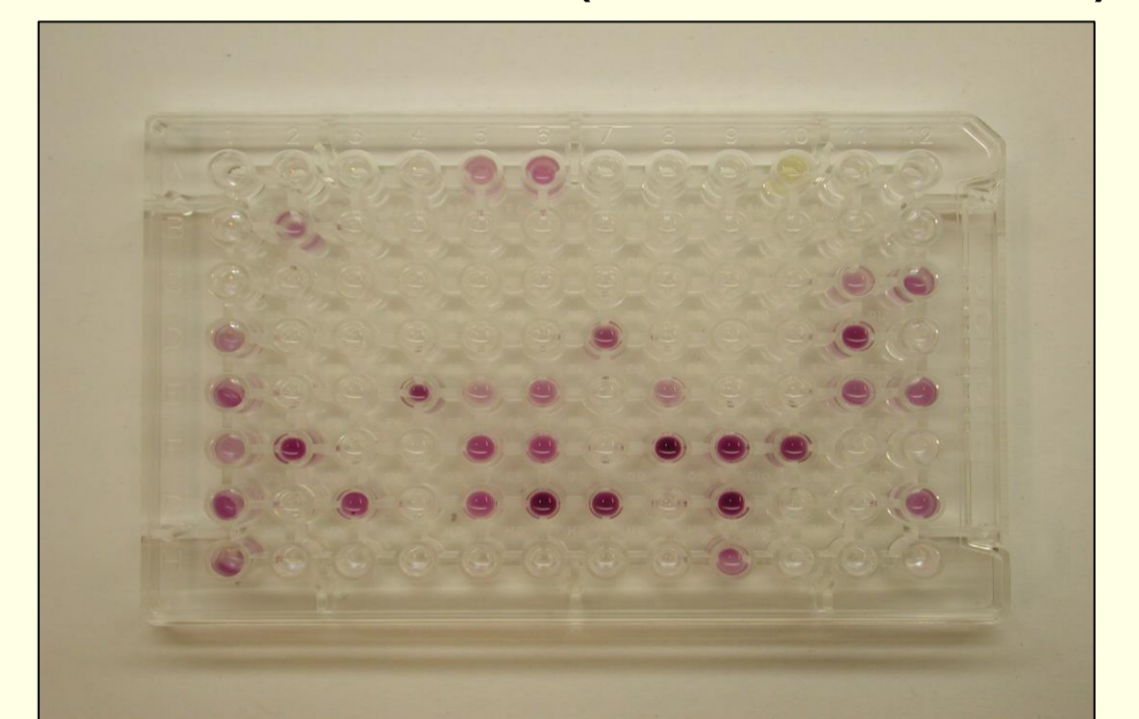
Von links nach rechts: Entwicklung des Farbumschlags eines Arginin-Röhrchens bei einem Arginindihydrolase-positiven Bakterium, d.h. es baut in seinem Stoffwechsel Arginin ab. Dabei entstehende Abbauprodukte führen zu einer Änderung des pH-Werts im Medium, welches sich im Farbumschlag des Indikators von Orange nach Rot äußert.

Fluoreszenz



Einige Bakterienarten scheiden auf speziellen Nährmedien fluoreszierende Substanzen aus, die unter UV-Licht sichtbar gemacht werden können.

BIOLOG™ (Bunte Reihe)



Testsystem zur zeitgleichen Überprüfung von 95 Reaktionen. In jeder Vertiefung der Mikrotiterplatte befindet sich ein anderer Stoff. Nach Zugabe der Bakteriensuspension und entsprechender Inkubation kommt es zu einem Farbumschlag oder nicht. So ergibt sich für jede Bakterienart ein definiertes Farbmuster.

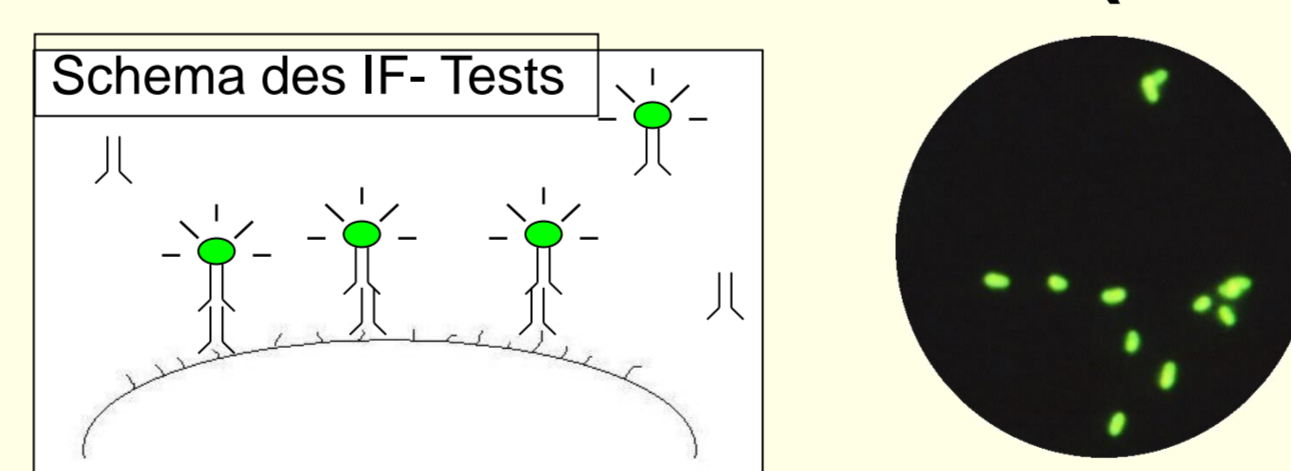
Serologische Tests

Serumagglutinationstest



Bakterien besitzen auf ihrer Oberfläche Strukturen, die mit dem spezifischen Serum agglutinieren (linkes Bild). Rechts zum Vergleich der Test mit einem Bakterium, dem die passenden Strukturen fehlen.

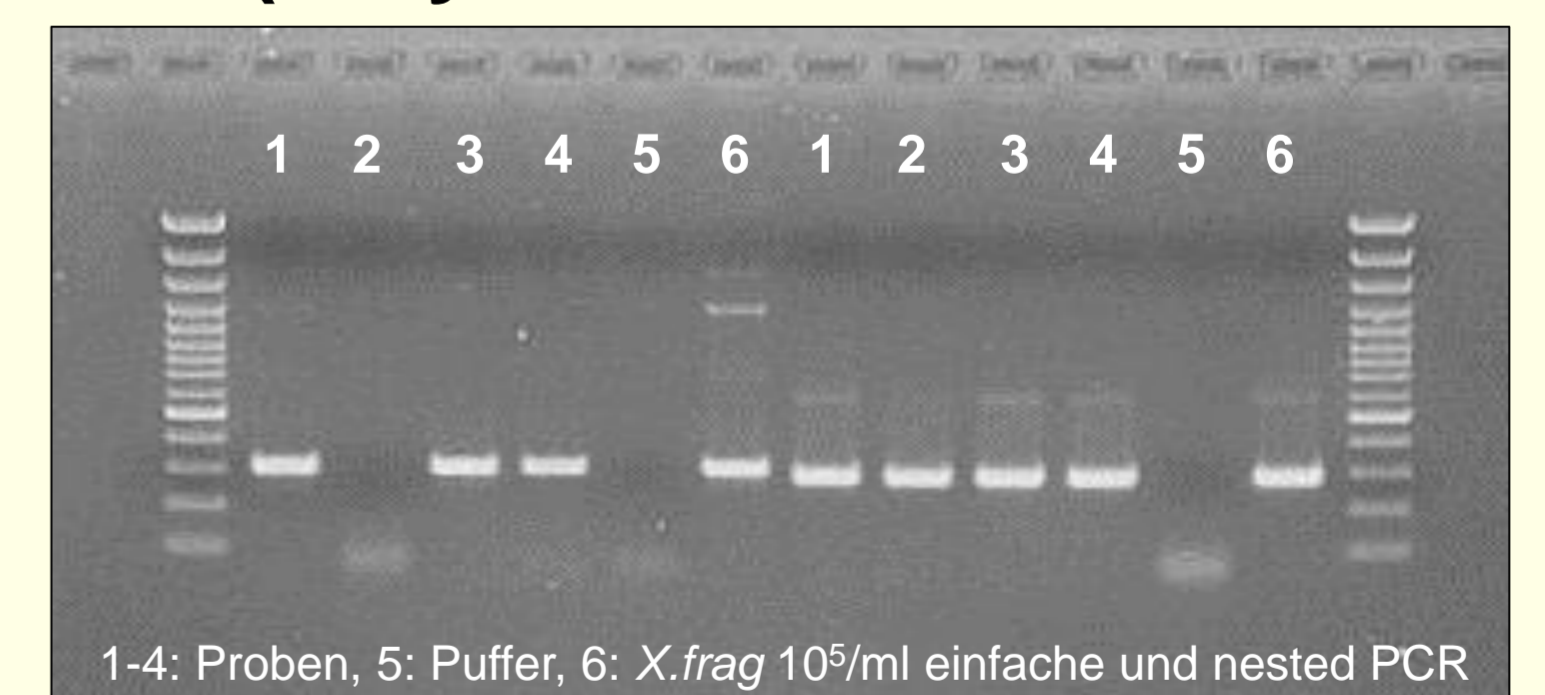
ImmunfluoreszenzTest (IF-Test)



Auf der Bakterienoberfläche liegen Antigene, die eine spezifische Bindung von Antiserum und fluoreszenzmarkiertem Konjugat ermöglichen. Die Färbung wird mit dem Auflichtfluoreszenzmikroskop sichtbar.

Molekularbiologische Tests

PCR (Polymerase-Chain-Reaction)



Nachweis von spezifischer Bakterien-DNA durch Vervielfältigung.

Pathogenitätstest (Koch'sche Postulate)

Dieselbe Pflanzenart wird mit dem fraglichen Bakterienisolat inokuliert. Das Bakterium muss sich im pflanzlichen Gewebe vermehren und die typischen Symptome hervorrufen. Hieraus wird das inokulierte Bakterium erneut isoliert. Ist diese Re-Isolierung erfolgreich, sind die Koch'schen Postulate erfüllt.



Sojapflanzen (links: gesund; rechts: künstlich infiziert mit *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*).