



1 In jeder Zelle ist das gesamte Erbgut als DNA enthalten. Diese spezifische Information wird für die Analyse benötigt.

Was sucht Kommissar DNA in der Holzforschung?

Warum Genetische Fingerabdrücke und Verwandtschaftstests am Institut Einzug hielten

A. Steitz

Sie schafft Klarheit in so mancher Familienangelegenheiten und kein Kriminalist – egal ob er reale Verbrecher jagt oder seiner Tätigkeit in den CSI-Labors dieser Welt nachgeht – kommt ohne sie aus: der DNA-Analyse. An der HFA kommt sie vor allem im Kampf gegen holzerstörende Pilze zum Einsatz.

DNA (*Deoxyribonucleic acid*, oder *Desoxyribonukleinsäure*) als Basis des Lebens ist in jedem Organismus zu finden, so auch in holzerstörenden Pilzen und im Material (Holz, Mauer, ...), auf dem der Pilz wächst. Mit der DNA-Analyse ist es möglich aus nur geringem Probenmaterial (Myzel, Mauerwerk bzw. Holz mit Myzelspuren) DNA zu extrahieren, diese zu reinigen und zu vervielfachen, um anschließend Pilz-DNA zu detektieren und Schädlinge wie den Echten Hausschwamm (*Serpula lacrymans*) zu identifizieren.

Molekularbiologische Erfassung von Hausfäule

Die eindeutige systematische Begutachtung eines Schadpilzes ist von wirtschaftlicher Relevanz, da davon der Sanierungsaufwand für ein befallenes Gebäude abhängig gemacht werden kann. In der Praxis ist es nicht immer möglich, vorhandenes Pilzmaterial oder überwachsene Baustoffe einem Schadpilz zuzuordnen. Weiters ist eine Bestimmung mit traditionellen Methoden wie die Isolation des Pilzes auf Agarmedien

sehr zeitaufwändig, so dass sich mit der DNA-Analyse ein Verfahren anbietet, das sich der Untersuchung der pilzspezifischen DNA bedient und mit der es möglich ist, vergleichsweise rasch eine eindeutige Aussage über den Schadpilz zu gewinnen. Da für die DNA-Untersuchungen nur wenig Probenmaterial notwendig ist, stellt sie eine ideale Technik für Fälle, mit nur wenig Ausgangsmaterial dar. Dies kommt vor allem im Bereich des Denkmalschutzes zum Tragen, da hier üblicherweise nur geringe Mengen von Untersuchungsmaterial entnommen werden können.

Weitere Vorteile der DNA-Untersuchung liegen in der hohen Spezifität und der absoluten Objektivität der Untersuchung. Die im Rahmen eines Projektes an der



2 Ein Übeltäter: Der charakteristische Fruchtkörper eines Hausschwamms.



3 Ein Tatort: Mauermaterial und uncharakteristische Myzelreste für die DNA-Analyse.

Holzforschung Austria erarbeiteten molekularbiologischen Nachweismethoden erfassen vier wichtige Vertreter der Hausfäule. Der Echte Hausschwamm (*Serpula lacrymans*), der Wilde Hausschwamm (*Serpula himantioides*), der Weiße Porenschwamm (*Antrodia vaillantii*) sowie der Braune Kellerschwamm (*Coniophora puteana*) können anhand ihrer „genetischen Fingerabdrücke“ erkannt werden.

Sukzession von Mikroorganismen

Mit der DNA-Analyse ist es aber nicht nur möglich, einen Organismus zu identifizieren, sondern auch die zeitliche Abfolge – die sogenannte Sukzession – einer Besiedlung von Mikroorganismen zu untersuchen. Der Vorteil einer molekularbiologischen Untersuchung liegt hier darin, dass auf den gesamten bestehenden DNA-Pool – also auf die DNA aller Mikroorganismen – eines Lebensraumes zugegriffen werden kann. Es sind keine dazwischengeschalteten, oft als „selektionierend“ diskutierten Kulturtechniken notwendig, die die Analyse verfälschen. Aus diesem DNA-Pool kann das Auftreten von Bakterien, Pilzen oder Moderfäule untersucht werden.

An der HFA wurden in einem bereits abgeschlossenen Projekt zeitliche Korrelationen zwischen der mikrobieller Sukzession und dem Wirkstoffabbau bei imprägnierten Leitungsmasten untersucht. Dabei wurden auch Veränderun-

gen in der mikrobiellen Artenvielfalt innerhalb der Bakterien- und Pilzpopulation im angrenzenden Boden mittels einer speziellen Technik (t-RFLP – *Terminal Fragment Length Polymorphism*) beobachtet. Mit dieser Technik kann ein „genetischer Fingerabdruck“ der Bakterien- und Pilzpopulation im Boden zu einem bestimmten Zeitpunkt untersucht und auch mit anderen Zeitpunkten und Standorten verglichen werden.

Oberflächenbewuchs von Algen, Pilzen und Bakterien

Auch Aufwuchs auf allen natürlichen und technischen Oberflächen kann untersucht werden. So werden auch Fassadenanstriche relativ rasch von Mikroorganismen besiedelt. Eine optimale biozide Ausrüstung der Anstrichsysteme zu finden und eine Methode zu entwickeln, die eine schnelle Beurteilung der biologischen Wirksamkeit der Biozide auf der Anstrichoberfläche gestattet, waren Ziele von Untersuchungen. Dabei konnten mit der Molekularbiologie geeignete Marker für Bakterien, Blaualgen (*Cyanobakterien*) und Algen adaptiert werden. Mit dieser spezifischen PCR-Technik können Untersuchungen von Anstrichsystemen unternommen und dabei die Proben direkt aus dem Fassadenmaterial gezogen werden.

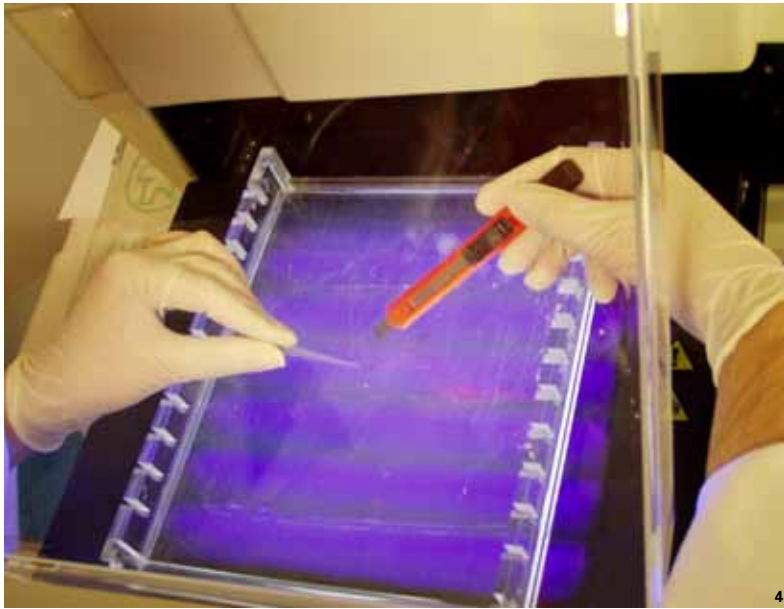
Frühe Erkennung

Im Rahmen eines derzeit laufenden Pro-

jektes wird beschichtetes modifiziertes Holz nach Freilandexponierung mit molekularbiologischen Methoden auf Schimmel- und Bläuepilze untersucht. Dafür wurden Marker für charakteristische Schadorganismen entwickelt bzw. modifiziert. Anhand von regelmäßigen DNA-Untersuchungen der Freilandproben kann ein Befall bereits zu einem Zeitpunkt festgestellt werden, an dem noch keine makroskopischen bzw. mikroskopischen Spuren sichtbar sind. Dabei ist auch eine Sukzession von Vertretern der Schnittholzbläue über Anstrichbläue usw. erkennbar. Da in diesem Pro-

Wissen: DNA-Analyse

Für eine DNA-Analyse werden nur kleinste Probenmengen benötigt. Dabei kann es sich um Pilzmyzel, Mauermaterial, Holz oder Prozesswässer handeln. Nach dem Zerkleinern des Materials werden die zu untersuchenden Zellen mechanisch und chemisch aufgebrochen und die DNA extrahiert. Die PCR (Polymerase Chain Reaction) ist das Herzstück der DNA-Analytik: Hier werden die DNA-Abschnitte vervielfältigt, wobei zwischen einzelnen Gruppen von Organismen und Gattungen unterschieden werden kann. Diese amplifizierte DNA wird auf ein Gel aufgetragen und eine elektrische Spannung angelegt. Diese Spannung trennt die einzelnen Fragmente in Banden auf anhand derer die Organismen detektiert werden können. Die durch diesen Prozess gewonnene und vervielfachte DNA kann auch für tiefer gehende Fingerprinttechniken – wie z.B. DGGE oder t-RFLP – verwendet werden.



4

4 Der genetische Fingerabdruck einer Bakterienpopulation, dessen Genmaterial für weitere Untersuchungen entnommen wird.



5

5 Ergebnis einer DGGE-Untersuchung, das unter UV-Licht betrachtet wird..

jekt verschiedene modifizierte Hölzer und Beschichtungssysteme untersucht werden, sollen die Ergebnisse der Molekularbiologie mitunter als Grundlage zur Bewertung von Beschichtungssystemen dienen.

Holzlagerung

Die Entwicklung von Mikroorganismen stellt auch im Bereich der Holzlagerung nach wie vor eine wichtige Thematik dar. In einer Auftragsarbeit wurden an verschieden gelagertem Holz DNA-Untersuchungen durchgeführt. Die Beurteilung der Lagerungsmethoden bezüglich dem Auftreten von Bläuepilzen und Bakterien stand im Vordergrund dieser Arbeit. Hier zeigte sich, dass auch auf diesem Gebiet die DNA-Techniken eine sensitive und rasche Untersuchungsmöglichkeit darstellen.

Zunehmend finden Fingerprint-Techniken auch im Bereich der Abwasseruntersuchungen Anwendung. Der weit überwiegende Teil der Mikroorganismen auf der Erde lebt in Flocken, Filmen oder Schlämmen. Diese Form der Lebensweise, „Biofilm“ genannt, gibt ihnen unter anderem Schutz gegen externe Einflüsse wie z.B. auch vor Bioziden.

Mikroorganismen in Biofilmen

Die Entwicklung von Biofilmen in Industrieanlagen wurde mit Hilfe einer Fingerprinttechnik (DGGE – *Denaturing gradient gel electrophoresis*) untersucht und

mit korrespondierenden Parametern in Relation gesetzt. Durch eine weitere Klonierungstechnik konnten die am Aufbau des Biofilms beteiligten Bakterien identifiziert werden und die Industrieanlagen nach ihrem Besiedlungsmuster verglichen werden. Es zeigte sich, dass die Anlagen je nach Verfahren eigene Biotope darstellten. Diese Biofilme waren zum Teil aus spezialisierten Organismen, die miteinander mehr oder weniger verwandt waren, aufgebaut. Referenzorganismen aus der hauseigenen Pilz- und Bakteriensammlung, die für standardisierte Wirksamkeitsprüfungen eingesetzt werden, müssen eine bestimmte Virulenz und bestimmte Holzabauraten haben, die routinemäßig überprüft werden. Früher wurden in den meisten internationalen Instituten Stammsammlungen von Pilzen mittels ihrer Kolonieform und der Myzelmorphologie mikroskopisch bestimmt. Dabei kam es häufig zu Verwechslungen und Fehlern. An der HFA werden als Prüforganismen eingesetzte Pilze mit Hilfe der DNA-Analyse einer Identitätskontrolle unterzogen.

Der Fachbereich Molekularbiologie widmet sich bereits seit einiger Zeit holzschutzespezifischen Fragestellungen – für ausgewählte Holzzerstörer konnte eine eindeutige Nachweismethode ent-

wickelt werden. Weitere Pilze, wie Bläuepilze und Schimmelpilze sollen in Zukunft noch hinzukommen.

Kundenspezifische Anforderungen

Der bisherige Einsatz der Molekularbiologie in holzrelevanten Bereichen zeigte, dass die DNA-Analyse ein sehr sensitives Verfahren darstellt, um Mikroorganismen auch frühzeitig an Oberflächen, in der Erde, in aquatischem Milieu oder in Biofilmen zu identifizieren. Weiters wurden PCR-basierende Methoden – „Fingerprints“ wie z.B.: DGGE und t-RFLP – für das Monitoring von mikrobiellen Gemeinschaften (Bakterien, Pilze) in aquatischen Systemen (natürliche Wässer, Prozesswässer,...), sowie in Biofilmen, Boden, Fassaden und Holz etabliert. Durchgeführt werden Forschungsprojekte und kundenspezifische Auftragsarbeiten in den verschiedensten Bereichen, in denen Mikroorganismen involviert sind.

„Der genetische Fingerabdruck ist objektiv und präzise.“

Kontakt:

Mag. Andrea Steitz,
Tel. 01/798 26 23 – 37,
a.steitz@holzforschung.at