

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung.....	1
1.1 Die Bedeutung von Pilzen in tripartiten organismischen Interaktionen.....	1
1.2 Die Pflanzengalle als Mikroökosystem.....	2
1.3 Pilzassoziierte Pflanzgallen	3
1.3.1 Evolution und Taxonomie pilzassozierter Cecidomyiidae	3
1.3.2 <i>Macrophomopsis coronillae</i> in Gallen von <i>Asphondylia</i> spp.	5
1.3.3 Stand der Forschung	5
1.3.4 Ziel der Arbeit	7
2 Material und Methoden	11
2.1 Materialien	11
2.1.1 Lösungen und Puffer	11
2.1.2 Fixier- und Konservierungsflüssigkeiten, Färbelösungen.....	12
2.1.3 Nährmedien	13
2.1.4 Pilzstämme	16
2.2 Makroskopische Untersuchung der Fruchtgallen und Isolierung des Pilzmycels	17
2.3 Isolierung von epiphytischen und endophytischen Pilzen.....	18
2.4 Lichtmikroskopische Untersuchungen.....	20
2.4.1 Gefriermikrotomie von asexuellen Fruchtkörpern.....	20
2.4.2 Semidünnnschnitte	21
2.4.3 Lichtmikroskopische Untersuchung von Imagines	21
2.5 Raster-Elektronenmikroskopie.....	21
2.6 Transmissions-Elektronenmikroskopie.....	22
2.6.1 Fixierung, Kontrastierung und Einbettung von Probenmaterial	22
2.6.2 Anfertigung von Ultradünnnschnitten.....	22
2.6.3 Nachkontrastierung und Mikroskopie	23
2.7 Molekularbiologische Methoden zur Beurteilung der Spezifität von <i>Macrophomopsis coronillae</i>	24
2.7.1 Isolierung genomicscher DNA verschiedener <i>M. coronillae</i> -Isolate.....	24
2.7.2 Amplifizierung der ITS-Regionen I und II mittels PCR	25
2.7.3 Klonierung der DNA-Fragmente.....	27
2.7.4 Sequenzierung der ITS-Regionen I und II.....	28
2.8 Untersuchungen zu Physiologie und Antagonismus von <i>Macrophomopsis</i> <i>coronillae</i>	30
2.8.1 Tests zur Bestimmung der Enzymaktivität von <i>M. coronillae</i>	30
2.8.2 Sprühstest zur Bestimmung der bakteriziden, fungiziden und algiziden Aktivität	33
2.8.3 Dualkulturvversuche.....	34
2.9 Laborzucht der Insekten	34

2.10 Versuche zur Etablierung eines <i>in vitro</i>-Systems der Gallenbildung	35
2.10.1 Pflanzenanzucht	35
2.10.2 Versuche zur Gallenbildung	36
3 Ergebnisse	37
3.1 Makroskopische Untersuchung der Fruchtgallen.....	37
3.1.1 Entwicklungsstadien von <i>A. melanopus</i> in Fruchtgallen an <i>L. corniculatus</i>	38
3.1.2 Parasitierung durch <i>Tetrastichus</i> sp.....	40
3.1.3 Häufigkeit des Vorkommens von <i>A. melanopus</i> und <i>Tetrastichus</i> sp. in den Gallen	42
3.1.4 Als Mycel in Gallen an <i>L. corniculatus</i> vorkommende Pilze	44
3.1.5 Korrelation des Auftretens von <i>M. coronillae</i> mit den gälbewohnenden Insekten.....	45
3.1.6 Korrelation mit den Stadien der Insekten.....	46
3.2 Epiphytische und endophytische Pilze aus <i>L. corniculatus</i>	48
3.2.1 Epiphytische Pilze auf <i>L. corniculatus</i>	48
3.2.2 Endophytische Pilze aus gesunden und vergaltenen Pflanzen von <i>L. corniculatus</i>	49
3.3 Untersuchungen zur Morphologie von <i>Macrophomopsis coronillae</i>	52
3.3.1 Morphologie von <i>M. coronillae</i> <i>in vivo</i>	52
3.3.2 Konidiomata an <i>C. scoparius</i> -Gallen	58
3.3.3 Morphologie von <i>M. coronillae</i> <i>in vitro</i>	58
3.4 Molekularbiologische Untersuchungen zur Wirtsspezifität und systematischen Stellung von <i>Macrophomopsis coronillae</i>	66
3.4.1 DNA-Isolation aus <i>M. coronillae</i> -Kulturen.....	68
3.4.2 Amplifizierung der ITS-Bereiche verschiedener Isolate von <i>M. coronillae</i>	68
3.4.3 ITS-Sequenzen.....	68
3.4.4 Molekularbiologische Befunde zur systematischen Stellung von <i>M. coronillae</i>	71
3.4.5 Vergleich der untersuchten Stämme hinsichtlich der Ergebnisse der morphologischen und molekularbiologischen Untersuchungen	72
3.5 Physiologie und Antagonismus von <i>Macrophomopsis coronillae</i>	73
3.5.1 Tests zur Bestimmung des Enzymspektrums von <i>M. coronillae</i>	73
3.5.2 Bakterizide, fungizide und algizide Eigenschaften von <i>M. coronillae</i>	74
3.5.3 Dualkulturversuche	75
3.6 Interaktionen von <i>Macrophomopsis coronillae</i> mit dem pflanzlichen Gallenwirt.....	77
3.6.1 Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Interaktionen	77
3.6.2 Lichtmikroskopische Analyse der Interaktionen.....	80
3.6.3 Transmissionselektronenmikroskopische Analyse ultrastruktureller Merkmale der Interaktionen	84
3.6.4 Zusammenfassung der Ergebnisse aus den licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen	96
3.7 Laborzucht der Insekten.....	100
3.8 Versuche zur Etablierung eines <i>in vitro</i>-Systems der Gallenbildung	102
3.9 Interaktionen von <i>Macrophomopsis coronillae</i> mit <i>Asphondylia melanopus</i> 102	
3.9.1 Korrelation der Mycelmorphologie von <i>M. coronillae</i> <i>in vivo</i> mit den Stadien der Insekten	102
3.9.2 Untersuchungen zum Transport von Verbreitungseinheiten von <i>M. coronillae</i> durch <i>A. melanopus</i>	106

4	Diskussion	111
4.1	Isolierung, Identifizierung und systematische Stellung von <i>Macrophomopsis coronillae</i>	111
4.1.1	Isolierung und Vorkommen von <i>M. coronillae</i>	111
4.1.2	Systematische Stellung von <i>M. coronillae</i>	113
4.2	Spezifität von Macrophomopsis coronillae.....	119
4.2.1	Morphologische Anpassungen an das Gallinsekt.....	119
4.2.2	Zur Frage der Verbreitung von <i>M. coronillae</i> durch <i>Asphondylia melanopus</i>	120
4.2.3	Wirtsspezifität	123
4.3	Interaktionen mit dem pflanzlichen Gallenwirt	123
4.3.1	Mycelwachstum an der Innenseite der Gallenwand.....	124
4.3.2	Ultrastrukturelle Merkmale der Interaktionen.....	124
4.4	Die Bedeutung von <i>Macrophomopsis coronillae</i> in tripartiter Assoziation mit <i>Asphondylia melanopus</i> und <i>Lotus corniculatus</i>	132
5	Zusammenfassung	137
6	Literatur.....	139