

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 Pflanzengallen 3

 1.3.1 Evolution und Taxonomie pilzassoziiierter Cecidomyiidae3

 1.3.2 *Macrophomopsis coronillae* in Gallen von *Asphondylia* spp.5

 1.3.3 Stand der Forschung5

 1.3.4 Ziel der Arbeit7

2 **Material und Methoden** 11

2.1 Materialien 11

 2.1.1 Lösungen und Puffer11

 2.1.2 Fixier- und Konservierungsflüssigkeiten, Färbelösungen.....12

 2.1.3 Nährmedien13

 2.1.4 Pilzstämmе16

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 Fruchtkörpern20

 2.4.2 Semidünnschnitte21

 2.4.3 Lichtmikroskopische Untersuchung von Imagines21

2.5 Raster-Elektronenmikroskopie 21

2.6 Transmissions-Elektronenmikroskopie..... 22

 2.6.1 Fixierung, Kontrastierung und Einbettung von Probenmaterial22

 2.6.2 Anfertigung von Ultradünnschnitten.....22

 2.6.3 Nachkontrastierung und Mikroskopie23

2.7 Molekularbiologische Methoden zur Beurteilung der Spezifität von *Macrophomopsis coronillae* 24

 2.7.1 Isolierung genomischer DNA verschiedener *M. coronillae*-Isolate.....24

 2.7.2 Amplifizierung der ITS-Regionen I und II mittels PCR25

 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 *Macrophomopsis coronillae* 30

 2.8.1 Tests zur Bestimmung der Enzymaktivität von *M. coronillae*.....30

 2.8.2 Sprühtest zur Bestimmung der bakteriziden, fungiziden und algiziden Aktivität33

 2.8.3 Dualkulturversuche.....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 gallbewohnenden 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 vergallten 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 *Macrophomopsis coronillae* 111

4.1.1 Isolierung und Vorkommen von *M. coronillae*111

4.1.2 Systematische Stellung von *M. coronillae*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 *M. coronillae* durch *Asphondylia melanopus*120

4.2.3 Wirtsspezifität123

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 *Macrophomopsis coronillae* in tripartiter Assoziation mit *Asphondylia melanopus* und *Lotus corniculatus* 132

5 Zusammenfassung 137

6 Literatur..... 139