

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1 Entwicklungszyklus von <i>Botrytis cinerea</i> . . . . .	6
1.2 <i>B. cinerea</i> als nekrotropes Pflanzenpathogen . . . . .	8
1.3 Problematik der Fungizidresistenzen bei der Bekämpfung von <i>B. cinerea</i> . . . . .	12
1.4 Pilzliche Phytotoxine . . . . .	13
1.4.1 Wirtsspezifische Toxine . . . . .	14
1.4.2 Nichtwirtsspezifische Toxine . . . . .	16
1.4.3 Mykotoxine und deren mögliche Bedeutung für Pathogenitätsprozesse bei Pflanzen . . . . .	18
1.4.4 Phytotoxische Stoffwechselprodukte bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	19
1.4.5 Von Pilzen synthetisierte Phytohormone und deren mögliche Bedeutung für die Etablierung von Infektionen . . . . .	21
1.5 Variabilität bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	23
1.5.1 Sexuelle Variabilität . . . . .	24
1.5.2 Heterokaryose, asexuelle Variabilität, Parasexualität . . . . .	25
1.6 Polyploidie . . . . .	26
1.6.1 Polyploidie bei Pflanzen . . . . .	27
1.6.2 Polyploidie bei Pilzen . . . . .	28
1.7 Problemstellung . . . . .	32
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>34</b>
2.1 Material . . . . .	34
2.1.1 Stämme . . . . .	34
2.1.2 Zellkulturen . . . . .	35
2.1.3 Chemikalien (Bezugsquellen) . . . . .	36
2.1.4 Häufig gebrauchte Puffer und Lösungen . . . . .	36
2.1.5 Nährmedien . . . . .	37
2.2 Methoden . . . . .	38
2.2.1 Kulturbedingungen . . . . .	38
2.2.2 Pathogenitätstest . . . . .	39
2.2.3 Aufarbeitung von Kulturmedien zum Nachweis phytotoxischer Substanzen von <i>B. cinerea</i> . . . . .	40
2.2.4 Vortest zur Prüfung auf Phytotoxizität mit Hilfe von Gurkensamen	41

2.2.5 Prüfung auf Phytotoxizität mit Hilfe pflanzlicher Zellkulturen . . . . .	41
2.2.6 Chlorophyllbestimmung nach Ziegler und Egle (1965) . . . . .	41
2.2.7 Proteinbestimmung nach Lowry et al. (1951) . . . . .	42
2.2.8 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) . . . . .	42
2.2.9 Färbung von Polyacrylamidgelen . . . . .	43
2.2.10 Nachweis von Abscisinsäure (ABA) in Kulturfiltraten von <i>B. cinerea</i> (nach Okamoto et al., 1988) . . . . .	44
2.2.11 DNA-Gehaltsbestimmung (Cytofluorometrie) . . . . .	44
2.2.12 Haploidisierung . . . . .	47
2.2.13 Volumenbestimmung von Sporen und Zellkernen . . . . .	47
2.2.14 Chromosomenzahlbestimmung . . . . .	47
2.2.15 Grauwertbestimmung DAPI-gefärbter mitotischer Chromosomen . .	48
2.2.16 Pulsfeldgelelektrophorese . . . . .	48
2.2.17 Kernzahlbestimmung in Protoplasten . . . . .	50
<b>3 Ergebnisse</b> . . . . .	<b>51</b>
3.1 Untersuchungen zur Pathogenität bei <i>Botrytis cinerea</i> . . . . .	51
3.1.1 Optimierung des Pathogenitätstestes von <i>B. cinerea</i> auf Blättern von <i>Vitis vinifera</i> . . . . .	51
3.1.2 Untersuchungen zur Pathogenität verschiedener Wildisolale von <i>B. cinerea</i> auf <i>Vitis</i> -Blättern . . . . .	53
3.1.3 Untersuchungen zur Pathogenität verschiedener Wildisolale von <i>B. cinerea</i> auf Blättern von <i>Phaseolus vulgaris</i> . . . . .	55
3.2 Untersuchungen zur Toxinsekretion bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	57
3.2.1 Biostest zum Toxinennachweis bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	57
3.2.2 Vergleich verschiedener Kulturbedingungen von <i>B. cinerea</i> im Hinblick auf die Toxizität gegenüber <i>Vitis</i> -Zellsuspensionen . . . . .	61
3.2.3 Toxinsekretion der <i>B. cinerea</i> -Stämme SAS 56, M6a und J33b . .	62
3.2.4 Charakterisierung des Toxins . . . . .	64
3.3 Untersuchungen zur Abscisinsäurebildung bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	67
3.4 Ploidieuntersuchungen bei <i>Botrytis cinerea</i> . . . . .	69
3.4.1 Relative DNA-Gehalte bei Wildstämmen von <i>B. cinerea</i> . . . . .	69
3.4.2 Relative DNA-Gehalte ausgewählter Benomylisolate von <i>B. cinerea</i> .	71
3.4.3 Relative DNA-Gehalte von Benomylisolaten der Stämme B.05.10, M6a.12 und M6a.14 . . . . .	74

3.4.4 Ploidieanalysen auf Basis der Messung von 340 Kernen bei ausgewählten Stämmen von <i>B. cinerea</i> . . . . .	75
3.4.5 Grauwertbestimmung von mitotischen Chromosomen . . . . .	80
3.4.6 Überprüfung der cytofluorometrischen Methodik zur Bestimmung relativer DNA-Gehalte mit Hilfe ausgewählter Stämme von <i>Aspergillus niger</i> . . . . .	80
3.4.7 Bestimmung von Sporen- und Kernvolumina bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	82
3.4.8 Analyse von mitotischen Chromosomen bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	86
3.4.9 Pulsfeldgelektrophorese (PFGE) zur Chromosomenanalyse bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	90
3.4.10 Relative DNA-Gehalte von Kreuzungsnachkommen von <i>B. cinerea</i> .	94
3.5 Untersuchungen zur Ploidie bei anderen filmentösen Ascomyceten . . . . .	97
3.5.1 Ploidieanalysen bei Wildstämmen und Benomyl-Derivaten von <i>Cla- viceps purpurea</i> . . . . .	97
3.5.2 Ploidieuntersuchungen bei <i>Gibberella fujikuroi</i> . . . . .	102
3.5.3 Ploidieuntersuchungen bei <i>Gibberella pulicaris</i> . . . . .	104
<b>4 Diskussion</b>	<b>109</b>
4.1 Variabilität in der Pathogenität bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	109
4.2 Toxinsekretion bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	115
4.2.1 Aufarbeitung und Charakterisierung des Toxins . . . . .	115
4.2.2 Mögliche Struktur und Wirkungsweise des 17,2 kD großen Toxins von <i>B. cinerea</i> . . . . .	117
4.2.3 Zielsetzungen zukünftiger Arbeiten hinsichtlich der weiteren Charakterisierung und der Bedeutung des Proteintoxins von <i>B. cinerea</i>	120
4.3 Ploidiestufen bei <i>B. cinerea</i> . . . . .	122
4.3.1 Cytofluorometrische Ploidieanalysen . . . . .	122
4.3.2 Überprüfung der Verlässlichkeit der Ergebnisse cytofluorometrischer Bestimmung relativer DNA-Gehalte . . . . .	126
4.3.3 Mikroskopische Beobachtungen mitotischer Chromosomen von <i>B. cinerea</i> . . . . .	129
4.3.4 Karyotypanalyse verschiedener <i>B. cinerea</i> -Isolate mittels Pulsfeldgelektrophorese (PFGE) . . . . .	131
4.3.5 Entstehung unterschiedlicher Ploidiestufen, Aneuploidie sowie Analyse von Kreuzungsnachkommen hinsichtlich ihrer Ploidieverhältnisse . . . . .	134
4.3.6 Bedeutung der Polyploidie für <i>B. cinerea</i> und Schlußbetrachtung .	137

<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>139</b>
<b>6 Anhang</b>	<b>141</b>
6.1 Relative DNA-Gehalte von Benomylderivaten des Stammes SAS 56 . . . . .	141
6.2 Relative DNA-Gehalte von Benomylderivaten des Stammes M6a . . . . .	142
<b>7 Literaturverzeichnis</b>	<b>143</b>