

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Entwicklungszyklus von <i>Botrytis cinerea</i>	6
1.2	<i>B. cinerea</i> als nekrotrophes 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
2	Material und Methoden	34
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
3	Ergebnisse	51
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 Wildisolate von <i>B. cinerea</i> auf <i>Vitis</i> -Blättern	53
3.1.3	Untersuchungen zur Pathogenität verschiedener Wildisolate 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	Biotest zum Toxinnachweis 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 Benomyisolats von <i>B. cinerea</i>	71
3.4.3	Relative DNA-Gehalte von Benomyisolaten 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	Pulsfeldgelelektrophorese (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 filamentösen Ascomyceten	97
3.5.1	Ploidieanalysen bei Wildstämmen und Benomyl-Derivaten von <i>Claviceps purpurea</i>	97
3.5.2	Ploidieuntersuchungen bei <i>Gibberella fujikuroi</i>	102
3.5.3	Ploidieuntersuchungen bei <i>Gibberella pulcaris</i>	104
4	Diskussion	109
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 Pulsfeldgelelektrophorese (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

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