

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	MATERIAL UND METHODEN	8
2.1	Versuchsorganismen und -materialien	8
2.1.1	Pflanzen	8
2.1.2	Pathogen	8
2.1.3	Modelloberflächen	8
2.2	Pflanzenanzucht	8
2.3	Applikationstechniken	10
2.3.1	Sprühinokulation	10
2.3.2	Applikation mittels Pipette	10
2.4	Wachsextraktion	10
2.4.1	Beschichtung von Glas mit Apfelblattwachsen	11
2.5	Gaschromatographie.....	12
2.5.1	Probenvorbereitung	12
2.5.2	Quantitative Analyse der Wachskomponenten	12
2.5.3	Identifizierung der Wachskomponenten	13
2.6	Charakterisierung von Oberflächen	13
2.6.1	Bestimmung der Blattflächen	13
2.6.2	Messung von Zellfläche und -höhe	14
2.6.3	Bestimmung der Hydrophobizität von Oberflächen	14
2.7	Erfassung der Pilzentwicklung	14
2.7.1	Konidiengröße	14
2.7.2	Keimung und Appressorienbildung	15
2.7.3	Keimschlauchwachstum	15
2.7.4	Melaninringausprägung und Eindringungsstelle	15
2.7.5	Primärstroma- und Laufhyphenbildung	16
2.7.6	Bewertung des Pathogenbefalls	16
2.8	Mikroskopische Untersuchungen	16
2.8.1	Durchlicht- und Auflichtmikroskopie	17
2.8.1.1	Präparation	17
2.8.1.2	Farbstoffe	17

2.8.1.3	Mikroskopie	17
2.8.2	Stereomikroskopie	20
2.8.3	Konfokale Lasermikroskopie	20
2.8.3.1	Präparation	20
2.8.3.2	Lektine	21
2.8.3.3	Mikroskopie	22
2.8.4	Transmissionselektronenmikroskopie	22
2.8.4.1	Präparation	22
2.8.4.2	Mikroskopie	24
2.8.5	Rasterelektronenmikroskopie	25
2.9	Untersuchungen zur Haftfähigkeit von Konidien von <i>V. inaequalis</i>.....	25
2.9.1	Allgemeine Vorgehensweise	25
2.9.2	Hemmstoffe und Detergenzien	26
2.9.3	Vorbehandlung der Konidien in Wasser	26
2.9.4	Lösungen zum Abwaschen der appressorialen Haftsubstanz	26
2.10	Biochemische Methoden	27
2.10.1	Aufreinigung von hydrophoben Proteinen.....	27
2.10.2	Bestimmung des Proteingehaltes	28
2.10.3	Methanolfällung	28
2.10.4	Proteingelelektrophorese unter denaturierenden Bedingungen	29
2.10.5	Coomassiefärbung von Polyacrylamidgelen.....	30
2.10.6	Sequenzierung der Proteine	30
2.11	Statistische Auswertung	30
3	ERGEBNISSE	32
3.1	Charakterisierung von Apfelblättern in Abhängigkeit des Entwicklungsstadiums	32
3.1.1	Wachstum von Apfelblättern	32
3.1.2	Struktur von Apfelblattoberflächen	34
3.1.2.1	Topographie	34
3.1.2.2	Zellfläche und -höhe	35
3.1.3	Chemische Charakterisierung der kutikularen apolaren Wachse	36
3.1.4	Hydrophobizität von Apfelblatt- und Modelloberflächen	40
3.2	Charakterisierung der Konidien von <i>V. inaequalis</i>	41
3.2.1	Konidiengröße und -volumen.....	41
3.2.2	Oberflächenbeschaffenheit/Morphologie	42

3.3	Adhäsion von Konidien auf Oberflächen.....	45
3.3.1	Einfluss der Oberfläche.....	45
3.3.2	Entwicklung von haftenden und abgewaschenen Konidien.....	50
3.3.3	Einfluss von Hemmstoffen und Detergenzien	50
3.3.4	Einfluss der Zugabe von SDS	54
3.3.5	Einfluss der vorherigen Inkubation von Konidien in Wasser	55
3.3.6	Einfluss der vorherigen Inkubation von Konidien in Wasser auf deren Entwicklung.....	56
3.4	Art der Anheftung der Konidien von <i>V. inaequalis</i> an Oberflächen.....	57
3.5	Visualisierung und Charakterisierung der Haftsubstanzen	58
3.5.1	Komponenten der Haftsubstanzen	58
3.5.2	Ausprägung und Lokalisierung der Haftsubstanzen	60
3.5.2.1	Ungekeimte Konidien	60
3.5.2.2	Gekeimte Konidien ohne Appressorien	65
3.5.2.3	Gekeimte Konidien mit Appressorien.....	67
3.5.3	Ablösbarkeit der appressorialen Haftsubstanz	72
3.6	Verlagerung von Lipiden während der Entwicklung von <i>V. inaequalis</i>	73
3.7	Einfluss der Oberfläche auf die Entwicklung von <i>V. inaequalis</i>.....	75
3.7.1	Keimung.....	75
3.7.1.1	Zeitlicher Verlauf.....	75
3.7.1.2	Blattinsertion	77
3.7.1.3	Mit Apfelblattwachs beschichtete Glasoberflächen.....	78
3.7.1.4	Modelloberflächen	79
3.7.2	Keimschlauchwachstum.....	79
3.7.2.1	Zeitlicher Verlauf.....	79
3.7.2.2	Blattinsertion	80
3.7.2.3	Mit Apfelblattwachs beschichtete Glasoberflächen.....	81
3.7.2.4	Modelloberflächen	82
3.7.3	Appressorienbildung	83
3.7.3.1	Zeitlicher Verlauf.....	83
3.7.3.2	Blattinsertion	84
3.7.3.3	Mit Apfelblattwachs beschichtete Glasoberflächen.....	87
3.7.3.4	Modelloberflächen	89
3.7.4	Primärstroma- und Laufhyphenbildung auf Apfelblättern.....	90
3.7.5	Symptomentwicklung auf Apfelblättern	91

3.8	Isolierung und Analyse von hydrophoben Proteinen	93
4	DISKUSSION	97
5	Zusammenfassung.....	121
6	Literaturverzeichnis	124