



Tedson Ngwenya (Autor)

Möglichkeiten der Krankheitsbekämpfung durch den Einsatz von Inhibitoren polysaccharidabbauender Enzyme am Beispiel von *Fusarium graminearum* [anam.] Schwabe - Weizen



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/646>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	4
2.1	Chemikalien und Geräte	4
2.1.1	Chemikalien	4
2.1.2	Geräte	5
2.2	Nährmedien	5
2.3	Stammhaltung und Herkunft der Pilzisolat	8
2.4	Enzymologische Methoden	8
2.4.1	Bestimmung der Enzymaktivität in Mikrotiterplatten	8
2.4.2	Enzymextraktion aus befallenen Pflanzenproben	10
2.5	Produktion verschiedener Hydrolasen <i>in vitro</i>	11
2.5.1	In Strohextrakt-Medium	11
2.5.2	In modifiziertem Czapek-Dox Medium	12
2.6	Enzyminhibitoruntersuchungen	12
2.6.1	Pilzwachstum auf Kulturmedien mit unterschiedlichen C-Quellen in Gegenwart der Inhibitoren	13
2.6.2	Herstellung des Inokulums	13
2.7	Testung des Einflusses der Inhibitoren auf das Pilzwachstum ad / in planta	15
2.7.1	Bodeninokulation mit <i>Fusarium graminearum</i> über Weizenstroh	15
2.7.2	Bodenvorbereitung	15
2.7.3	Weizenkörnerbehandlung mit Inhibitoren	15
2.8	Testung des Einflusses der Amylase- und Cellulaseinhibitoren auf das Wachstum des Blattparasiten <i>Blumeria graminis f.sp. tritici</i>	17
2.9	Pilznachweis mit dem Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	17
2.9.1	Durchführung des ELISA	18

3	Ergebnisse	20
3.1	Optimierung der Aktivitätsbestimmung verschiedener mikrobieller Hydrolasen	20
3.2	Hemmbarkeit mikrobieller Amylasen und Cellulasen durch die Amylase-Inhibitoren Acarbose und Miglitol und den Cellulase-Inhibitor Natriumhexachlorpalladat	23
3.2.1	Optimierung der Vorinkubationszeit und der Konzentration des Cellulase-Inhibitors (Natriumhexachlorpalladat)	23
3.2.2	Optimierung der Vorinkubationszeit und der Hemmkonzentration des Amylase-Inhibitors (Acarbose)	26
3.2.3	Optimierung der Vorinkubationszeit und der Hemmkonzentration des Amylase-Inhibitors Miglitol	26
3.3	Produktion polysaccharidabbauender Enzyme durch <i>Fusarium graminearum</i> unter <i>in vitro</i> -Bedingungen	27
3.3.1	Enzymproduktion in Strohextraktmedium (SEM)	27
3.3.2	Enzymproduktion im Czapek-Dox-Medium mit verschiedenen C- und N-Quellen	30
3.4	Aktivität verschiedener polysaccharid- und proteinabbauender Enzyme in Extrakten von mit <i>Fusarium graminearum</i> infizierten Weizenpflanzen	31
3.5	Einfluss der Amylase-Inhibitoren Acarbose und Miglitol und des Cellulase-Inhibitors Natriumhexachlorpalladat auf die Enzymaktivität verschiedener Amylasen und Cellulasen	32
3.6	Einfluss der Inhibitoren auf das Wachstum von <i>Fusarium graminearum</i> <i>in vitro</i>	38
3.6.1	Einfluss des Cellulase-Inhibitors auf das Wachstum von <i>Fusarium graminearum</i>	39
3.6.2	Einfluss des Amylase-Inhibitors Acarbose auf das <i>in vitro</i> -Wachstum von <i>Fusarium graminearum</i>	42
3.6.3	Einfluss des Amylase-Inhibitors Miglitol auf das Wachstum von <i>Fusarium graminearum</i>	44

3.7	Korrelation zwischen Cellulaseaktivität und der mittels ELISA ermittelten Pilzmenge (Fusarium-Protein-Äquivalenten) in mit <i>F. graminearum</i> befallenen Weizenpflanzen	46
3.8	Einfluss der Amylase- und Cellulase-Inhibitoren auf die Infektion von Weizenpflanzen mit <i>Fusarium graminearum</i> unter Gewächshausbedingungen	47
3.8.1	Einfluss der Inhibitoren auf den <i>Fusarium graminearum</i> -Befall infizierter Weizenjungpflanzen bei Wachstum auf Faltenfilterpapier	47
3.8.2	Einfluss der Inhibitoren auf den <i>Fusarium graminearum</i> -Befall infizierter Weizenpflanzen bei Wachstum in Erdsubstrat.	53
3.9	Einflüsse von Amylase- und Cellulaseinhibitoren auf das Wachstum des Blattparasiten <i>Blumeria graminis f.sp. tritici</i>	57
4	Diskussion	60
4.1	Wirkung der Inhibitoren	65
4.2	Hemmung des Pilzwachstums auf / in der Pflanze	68
5	Ausblick	76
6	Anhang	77
6.1	Suche nach synthetischen antifungalen Peptiden	77
6.1.1	Herkunft der Peptide	78
6.2	<i>In vitro</i> -Untersuchungen zum Einfluss von Peptiden auf das Pilzwachstum	78
6.2.1	Anzucht des Pilzmaterials	78
6.2.2	Herstellung von Myzel – und Sporensuspension	79
6.2.3	Versuchsansatz in Mikrotiterplatten	80
6.2.4	Messung der optischen Dichte und Inkubation der Pilzkulturen	81
6.3	Testsystem zum Einfluss von Peptiden auf den Befall von Weizen durch biotrophe Pilze	82
6.3.1	Herstellung von Benzimidazolagar für die Erhaltung der Blattvitalität	82
6.3.2	Versuchsdurchführung	82

6.4	Untersuchung der Phytotoxizität von Peptiden	83
6.5	Untersuchung zur Cellulase-Inhibition ausgewählter Peptide	86
6.6	Ergebnisse	86
6.6.1	<i>In vitro</i> -Hemmung des Pilzwachstums	86
6.6.2	Ergebnis zur Phytotoxizität der Peptide	91
6.7	Cellulase-Inhibition durch Peptide	93
7	Zusammenfassung	95
8	Literaturverzeichnis	98