

INHALTSVERZEICHNIS

1	Zusammenfassung	1
	Summary	3
2	Einleitung	5
2.1	Konkurrenz – Parasitismus – Kommensalismus – Symbiose	5
2.2	Nicht Myzetozyten-assoziierte Endosymbiosen.....	7
2.3	Myzetozyten-assoziierte Endosymbiosen	9
2.4	Evolution von Bakterien-Insekten-Symbiosen.....	13
2.5	Kospeziation von nicht Myzetozyten-assoziierten Bakterien mit ihren Wirtstieren.....	14
2.6	Kospeziation von Myzetozyten-assoziierten Bakterien mit ihren Wirtstieren.....	15
2.7	Endosymbionten von Ameisen.....	18
2.8	Die Gattung <i>Camponotus</i> : Vorkommen – Koloniestruktur – Lebensgewohnheiten.....	19
2.9	Zielsetzung	21
3	Materialien	22
3.1	Geräte	22
3.2	Verbrauchsmaterialien.....	22
3.3	Chemikalien, Antibiotika, Enzyme	23
3.4	Bakterienstamm und Plasmid	23
3.5	Bakterien- und Zellkulturmedien	23
3.6	Oligonukleotide	25
3.7	Ameisen.....	27
4	Methoden	28
4.1	Histologie	28
4.1.1	Versuchstiere	28
4.1.2	Präparation von unterschiedlichen Geweben	28
4.1.3	Fixierung für die Licht- und Elektronenmikroskopie.....	29
4.1.4	Entwässerung.....	29
4.1.5	Eponeinbettung.....	30
4.1.6	Herstellung und Färbung von lichtmikroskopischen Schnitten.....	30
4.1.7	Herstellung und Kontrastierung von Ultradünnschnitten.....	31
4.2	<i>In situ</i> -Hybridisierung	32
4.2.1	Herstellung von Gefrierschnitten für DNA <i>In situ</i> -Hybridisierungen.....	33
4.2.2	DIG-Markierung der Oligonukleotidsonden.....	33
4.2.3	<i>In situ</i> -Hybridisierung von Gefrierschnitten	34
4.2.4	Fixierung und Einbettung von Gefrierschnitten für die Elektronenmikroskopie	37

4.3	Isolierung, Klonierung und Analyse der 16S rDNA	38
4.3.1	Herstellung von Darm-Rohlysaten.....	38
4.3.2	Polymerase-Kettenreaktion	38
4.3.3	Reinigung der PCR-Produkte	39
4.3.4	Agarose-Gelelektrophorese	39
4.3.5	Ligation.....	40
4.3.6	Transformation.....	40
4.3.7	Herstellung kompetenter Zellen.....	40
4.3.8	Isolierung von Plasmid-DNA aus <i>E. coli</i>	40
4.3.9	DNA-Spaltung mit Restriktionsendonukleasen	41
4.3.10	Automatische Sequenzierung	41
4.3.11	Erstellung eines phylogenetischen Stammbaumes der Symbionten und ihrer Wirte	42
4.4	Fütterungen mit Antibiotika	43
4.4.1	Vorbereitung der Ameisen	43
4.4.2	Antibiotika-Konzentrationen.....	43
4.4.3	Durchführung der Fütterungen.....	44
4.5	Isolierung und Kultivierung der Symbionten.....	45
4.5.1	Isolierung von Endosymbionten aus Mitteldärmen.....	45
4.5.2	Kultivierung in verschiedenen Nährmedien.....	45
4.5.3	Insektenzellkultur	46
4.5.4	Einfrieren und Auftauen von Zellen.....	46
4.5.5	Zählen von Zellen.....	47
4.5.6	Splitten von Schneider's <i>Drosophila</i> -Zellen und SF9-Zellen	47
4.5.7	Infektion von Schneider's <i>Drosophila</i> -Zellen oder SF9-Zellen mit isolierten Endosymbionten.....	47
5	Ergebnisse	48
5.1	Phylogenetische Charakterisierung der Endosymbionten.....	48
5.1.1	Charakterisierung der 16S rDNA-Sequenzen der Endosymbionten der Ameisen.....	49
5.1.1.1	Phylogenetischer Stammbaum der <i>Camponotus</i> -Endosymbionten.....	49
5.1.1.2	Phylogenetischer Stammbaum der <i>Camponotus</i> -Endosymbionten und ihrer nächstverwandten Bakteriennachbarn.....	52
5.1.1.3	Intervenierende DNA-Sequenzen (IVS) innerhalb der <i>rrs</i> Gene der Symbionten.....	53
5.1.1.4	Untersuchung der Struktur des rDNA-Operons der <i>Camponotus</i> -Symbionten	54
5.1.2	Charakterisierung der COI-Sequenzen der Wirtsameisen.....	56
5.1.2.1	Phylogenetischer Stammbaum der <i>Camponotus</i> -Ameisen.....	56
5.1.3	Vergleich der phylogenetischen Stammbäume der <i>Camponotus</i> -Endosymbionten und ihren Wirtsameisen.....	58

5.2	Histologische Untersuchung der Endosymbiose.....	60
5.2.1	Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen verschiedener Gewebepräparate adulter Ameisen.....	61
5.2.1.1	Mitteldarmpräparate	61
5.2.1.2	Ovarienpräparate.....	64
5.2.1.3	Spermathekapräparate.....	66
5.2.2	Detektion der Endosymbionten durch <i>In situ</i> -Hybridisierungen innerhalb verschiedener Entwicklungsstadien der Ameisen.....	67
5.3	Fütterversuche mit Antibiotika.....	71
5.3.1	Kontrollversuch mit der Ameisenart <i>Camponotus floridanus</i>	71
5.3.2	Gefressene Antibiotikamengen bei drei unterschiedlichen <i>Camponotus</i> -Arten.....	75
5.4	Isolierung und Kultivierung der Endosymbionten.....	77
5.4.1	Isolierung der <i>Camponotus</i> -Endosymbionten.....	77
5.4.2	Kultivierbarkeit der <i>Camponotus</i> -Endosymbionten in Flüssigkulturen.....	78
5.4.3	Infektionsversuche mit <i>Camponotus</i> -Endosymbionten an Insektenzellen.....	79
6	Diskussion	81
6.1	Phylogenetische Charakterisierung der Endosymbionten.....	81
6.2	Histologische Untersuchungen der Endosymbiose	85
6.3	Rolle der Endosymbionten.....	92
6.4	Isolierung und Kultivierung der Endosymbionten.....	98
6.5	Benennung einer neuen Symbiontengattung.....	100
7	Literaturverzeichnis	102
8	Abkürzungsverzeichnis	111
9	Anhang	112