

- (1969); d) J. P. Sibilia, C. Woolf, J. Frank, US-Pat. 3657362 (1972); Chem. Abstr. 77, 4895h (1972); e) H. R. Nychka, L. G. Anello, US-Pat. 3435078 (1969); Chem. Abstr. 70, 114589z (1969); f) H. R. Nychka, R. E. Eyback, DOS 2253534 (1973); Chem. Abstr. 79, 18079y (1973).
- [104] S. Selman, W. S. Smith, Fr. Pat. 1373014 (1964), Du Pont; Chem. Abstr. 62, 13047g (1965).
- [105] a) G. Santini, M. Le Blanc, J. G. Riess, Tetrahedron 29, 2411 (1973); b) F. Jeanneaux, M. Le Blanc, A. Cambon, J. Guion, J. Fluorine Chem. 4, 261 (1974); c) F. Jeanneaux, G. Santini, M. Le Blanc, A. Cambon, J. G. Riess, Tetrahedron 30, 4197 (1974).
- [106] A. Y. Yakubovitch, V. Gogol, I. Borzova, Zh. Prikl. Khim. 32, 451 (1959); Chem. Abstr. 53, 13045i (1959).
- [107] R. N. Haszeldine, J. Chem. Soc. 1952, 2504.
- [108] M. Le Blanc, J. G. Riess, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [109] I. L. Knunyants, L. S. German, B. L. Dyatkin, Izv. Akad. Nauk SSSR, Otdel. Khim. Nauk 1956, 1353; Chem. Abstr. 51, 8037f (1957).
- [110] D. J. Sass, R. A. Van Dyke, E. H. Wood, S. A. Johnson, P. Didisheim, J. Appl. Physiol. 40, 745 (1976).
- [111] a) P. Becher: Emulsions. Theory and Practice. 2. Aufl. Reinhold, New York 1965; b) I. R. Schmolka, Fed. Proc. 29, 1717 (1970).
- [112] H. A. Sloviter, Fed. Proc. 34, 1484 (1975).
- [113] a) Wyandotte Chem. Corp., 1967; b) Péchiney Ugine Kuhlmann, note technique – 227/HU.
- [114] A. K. Price, A. N. Fenster, DOS 2132164 (1972), Allied Chem. Corp.; Chem. Abstr. 76, 72057r (1972).
- [115] P. L. Bartlett, US-Pat. 3644492 (1972), Du Pont; Chem. Abstr. 77, 6026z (1972).
- [116] D. A. Holaday, Fed. Proc. 29, 1815 (1970).
- [117] J. G. Modell, M. K. Tham, J. H. Modell, H. W. Calderwood, B. C. Ruiz, Toxicol. Appl. Pharmacol. 26, 86 (1973).
- [118] L. A. Kiesow, J. B. Shelton, J. W. Bless, Anal. Biochem. 58, 14 (1974).
- [119] H. W. Wallace, W. J. Asher, M. T. Zubrov, T. P. Stein, H. Brooks, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 66, 887 (1973).
- [120] a) V. Ullrich, H. Diehl, Eur. J. Biochem. 20, 509 (1971); b) H. Staudt, F. Lichtenberger, V. Ullrich, ibid. 46, 99 (1974).
- [121] A. A. Beisang, J. Feemster, R. H. Dietzman, H. Uchida, J. E. Carter, E. F. Graham, R. C. Lillehei, Fed. Proc. 29, 1782 (1970).
- [122] B. S. Linn, W. Canaday, M. Breton, F. Gollan, Surg. Forum 18, 278 (1967).
- [123] W. McCullough, J. Jackobs, N. Halasz, Surg. Forum 20, 308 (1968).
- [124] R. P. Geyer, persönliche Mitteilung.

Phytoalexine, chemische Abwehrstoffe höherer Pflanzen?

Von Hans Grisebach und Jürgen Ebel^[*]

Phytoalexine sind Abwehrstoffe mit antimikrobiellen Eigenschaften, die nach einer Infektion von der Pflanze gebildet werden. Diese Verbindungen gehören verschiedenen Naturstoffgruppen an, z. B. Isoflavonoiden, Terpenoiden, Polyacetylenen und Dihydrophenanthrenen. Die Induktion der Phytoalexinbildung kann nicht nur durch lebende Mikroorganismen, sondern auch durch Produkte mikrobiellen Ursprungs (Elicitoren) oder durch Streßbehandlung (Kälte, UV-Licht) bewirkt werden. Der Elicitor aus der Myzelwand des Pilzes *Phytophthora megasperma* var. *sojae* (Pms) ist ein β -1,3-Glucan mit Verzweigungen an C-6. Die Biosynthese der Phytoalexine ist in einigen Fällen in ihren Grundzügen bekannt. Durch Elicitoreinwirkung auf pflanzliches Gewebe steigt die Aktivität der an der Phytoalexinbiosynthese beteiligten Enzyme an. Die Fähigkeit einiger Mikroorganismen, Phytoalexine chemisch zu verändern, könnte mit ihrer Pathogenität zusammenhängen. Die Rolle der Phytoalexine als Abwehrstoffe ist noch nicht eindeutig geklärt.

1. Einführung

Wie Mensch und Tier ist auch die Pflanze zahlreichen Mikroorganismen ausgesetzt. Dabei kommt den phytopathogenen Pilzen und Viren eine besondere Bedeutung als Krankheitserregern zu. Da Pflanzen kein Immunsystem besitzen, stellt sich die Frage, wie sich die Pflanze gegen Krankheitserreger wehren kann. Eine Abwehrmöglichkeit, die auf der induzierten Produktion chemischer Abwehrstoffe durch die Pflanze beruht, soll in diesem Aufsatz behandelt werden.

Bereits Ende des 19. Jahrhunderts wurde angenommen, daß Pflanzen eine erworbene Resistenz besitzen können und auf eine Infektion mit biochemischen Abwehrmechanismen reagieren^[42], aber erst die Untersuchungen von Müller und

Börger über die *Phytophthora*-Resistenz^[*] der Kartoffel^[43] brachten einen entscheidenden experimentellen Fortschritt bei der Aufklärung derartiger Abwehrmechanismen. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Untersuchungen waren: 1. Das Absterben des Parasiten auf den Knollen der resistenten Sorten ist nicht durch einen schon vor der Infektion in den Knollen vorhandenen Stoff bedingt, „sondern durch eine Zustandsänderung bei den mit dem Pilz in Kontakt gelangten Wirtszellen“. 2. Unter Preisgabe der vom Pilz befallenen Gewebeschichten wehrt die Pflanze den Parasiten ab. Während dieser als „Abwehrnekrose“ bezeichneten Reaktion bildet sich ein Abwehrstoff, der als „Phytoalexin“ (phyton = Pflanze, alexein = abwehren) bezeichnet wurde. Phytoalexine können daher als

[*] Prof. Dr. H. Grisebach, Dr. J. Ebel
Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen, Biologisches Institut II der Universität
Schänzlestraße 1, D-7800 Freiburg

[*] Der Pilz *Phytophthora infestans* (Phytiacidae) ist der Erreger der Kartoffelfäule („late blight“). Er war die Ursache der Vernichtung der Kartoffelernte in Irland im Jahre 1845 und den folgenden Jahren, welche eine große Hungersnot zur Folge hatte.

postinfektionell^[*] vom Wirt gebildete Abwehrstoffe mit antimikrobiellen Eigenschaften definiert werden^[44, 171].

Weitere Untersuchungen führten zu der wichtigen Erkenntnis, daß die Intensität der Abwehrreaktion primär von der genetischen Konstitution von Wirtspflanze und Parasit abhängt^[95, 170].

1960 konnte eine Verbindung mit fungitoxischen Eigenschaften durch die Tropfen-Diffusionstechnik^[**] aus Samenschalen der Erbse (*Pisum sativum*), die mit Sporen des Pilzes *Sclerotinia fructicola* infiziert waren, isoliert werden^[46]. Die Verbindung erhielt den Namen Pisatin; ihre Konstitution als Pterocarpan [Tabelle 1, (17)] wurde 1962 von Perrin und Bottomley aufgeklärt^[45].

In den letzten Jahren ist das Gebiet der Phytoalexine intensiv bearbeitet worden. Von den zahlreichen Zusammenfassungen seien hier nur die neueren angeführt^[2a, 2b, 23, 24, 47].

Der vorliegende Aufsatz behandelt vorwiegend die biochemischen Aspekte der Phytoalexine, wobei der Induktionsmechanismus und die Biosynthese im Vordergrund stehen. Weiterhin wird die Rolle der Phytoalexine bei der Infektabwehr diskutiert.

2. Struktur und Vorkommen der Phytoalexine

Phytoalexine sind keine einheitliche Stoffklasse, sondern gehören verschiedenen Naturstoffgruppen an. In Tabelle 1 sind die bisher bekannten Phytoalexine zusammengestellt. Dabei wurden nur solche Verbindungen berücksichtigt, welche den Kriterien des Phytoalexinbegriffs genügen, d. h. Stoffe, die erst postinfektionell in höherer Konzentration auftreten und die das Wachstum von Mikroorganismen inhibieren. Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, gehören zu den Phytoalexinen Isoflavonoide, Sesquiterpene, Furanoterpenoide, Polyacetylene, Dihydrophenanthrene und andere Stoffe. Eine umfassende Übersicht über die Natur und Verbreitung postinfektioneller Abwehrstoffe bei Pflanzen existiert noch nicht, doch zeichnet sich ein Zusammenhang zwischen der chemischen Natur der Phytoalexine und den Pflanzenfamilien ab^[10]. So bilden die Leguminosen im allgemeinen Isoflavonoide, die Solanaceen Diterpene, die Compositen Polyacetylene und die Orchidaceen Dihydrophenanthrene. Ausnahmen wie z. B. das Vorkommen des Furanoacetyls Wyeronsäure (33) in der Saubohne (*Vicia faba*) sind selten. Phytoalexine können daher in einigen Fällen als taxonomisches Merkmal verwendet werden.

Die Gewinnung größerer Mengen von Phytoalexinen aus infiziertem Pflanzengewebe ist meist sehr aufwendig. Nach der Methode von Keen^[77] lassen sich jedoch in vielen Fällen größere Mengen (30–100 mg) dieser Stoffe auf relativ einfache Weise gewinnen. Hierzu werden die zerschnittenen Samen in Gegenwart ihrer am unbehandelten Samen vorhandenen Mikroflora 3–5 Tage lang inkubiert. Die dabei gebildeten

Phytoalexine können nach Extraktion mit organischen Lösungsmitteln durch gebräuchliche Reinigungsverfahren (z. B. präparative Schichtchromatographie) isoliert werden.

3. Induktion der Phytoalexinbildung

Eine große Zahl von Untersuchungen über Wirt-Parasit-Wechselwirkungen hat gezeigt, daß die Fähigkeit, Phytoalexine zu bilden, eine weit verbreitete Eigenschaft von Pflanzen ist. Gewebe aller Pflanzenteile sind befähigt, als Reaktion auf den Befall durch pathogene und nicht-pathogene Mikroorganismen Phytoalexine zu bilden. Pilze^[2a, 47] sind in dieser Hinsicht besonders wirksame Organismen. Als Folge der Infektion der Sojabohne (*Glycine max*) durch *Phytophthora megasperma* var. *sojae* kann Glyceollin (20) von einer Konzentration, die unterhalb der Nachweisgrenze liegt, innerhalb von 24–48 h bis zu Mengen von mehr als 10 % des Trockengewichtes des infizierten Gewebes akkumulieren^[187]. Die meisten Pflanzen scheinen mehrere, häufig strukturverwandte Phytoalexine zu bilden, wie am Beispiel der Bohne (*Phaseolus vulgaris*) und der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) deutlich wird (Tabelle 1).

Die Phytoalexinbildung wird auch bei Infektion pflanzlichen Gewebes durch Bakterien^[89, 90a–c, 146, 188, 189], Viren^[83, 91, 92, 138, 139] und Nematoden^[15, 93] induziert. Nicht nur lebende Mikroorganismen, sondern auch deren zellfreie Kulturfiltrate oder Extrakte können die Phytoalexinbildung induzieren („elicitieren“)^[94–102]. Verbindungen mikrobieller Herkunft, die die Phytoalexinsynthese in Pflanzen stimulieren, wurden Elicitoren genannt^[103]. Die mögliche biologische Bedeutung von Elicitoren der Phytoalexinsynthese für die Abwehrreaktion von Pflanzen gegenüber Mikroorganismen wird in Abschnitt 5 besprochen.

Phytoalexine wurden wiederholt als „Streßverbindungen“ bezeichnet (z. B. ^{190a}), denn ihre Synthese kann neben der zahlreicher anderer primärer und sekundärer Metabolite auch durch Behandlungsarten, die pflanzliche Gewebe schädigen oder vergiften, angeregt werden. So können Kältebehandlung^[104] und Bestrahlung mit UV-Licht^[105, 106] die Phytoalexinsynthese auslösen. Aber auch chemisch so verschiedene Substanzen wie Schwermetallsalze^[94, 100, 107, 108], Polyamine^[109], Ethylen^[110], Antibiotika und Stoffwechsellinhibitoren^[108, 111–115], Fungizide^[116, 117] und Ribonuclease^[96] sind Induktoren. Diese Substanzen wirken wahrscheinlich auf unterschiedliche Art; das Ergebnis ist jedoch in jedem Fall eine tiefgehende Veränderung des Zellstoffwechsels. Unter den als Streßfolge produzierten Verbindungen haben die Phytoalexine deshalb eine besondere Bedeutung erlangt, weil sie wegen ihrer postinfektionellen Bildung und ihrer antimikrobiellen Eigenschaften mit der Abwehrreaktion der Pflanzen gegen potentielle Schädlinge in Zusammenhang gebracht werden (siehe Abschnitt 5). Produzieren Pflanzen mehrere Phytoalexine, so kann die Zusammensetzung des Phytoalexingemisches vom induzierenden Agens abhängen. Beispiele dafür erwähnen VanEtten und Pueppke^(12a), dort Tabelle IV) für Kombinationen von *P. vulgaris* mit vier pathogenen Mikroorganismen. Keen^[177] leitet aus einem ähnlichen Verhalten von *Glycine max*^[177], *Phaseolus lunatus*^[15] und *Glycine wightii*^[78] die Hypothese ab, daß Pflanzen als Antwort auf die Infektion mit einem Mikroorganismus bevorzugt diejenigen Phytoalexine

[*] Es gibt auch präinfektionelle Abwehrstoffe. Diese Gruppe umfaßt fungitoxische Verbindungen, die bereits in der nicht infizierten Pflanze in ausreichender Konzentration vorliegen, um eine Infektion zu verhindern [2b]. Die eindeutige Zuordnung zur Gruppe der prä- und postinfektionellen Abwehrstoffe ist bei einigen Verbindungen problematisch.

[**] Bei der Tropfen-Diffusionstechnik („drop-diffusion technique“) wird eine Sporensuspension des Pilzes als Tropfen auf das betreffende Gewebe (hier das Endocarp (Nährgewebe) der Samenhüllen) aufgebracht. Nach Auslösung der Abwehrreaktion diffundiert ein Teil des gebildeten Phytoalexins in den Tropfen und kann aus den vereinigten Tropfen mit organischen Lösungsmitteln extrahiert werden.

Tabelle 1. Struktur und Vorkommen von Phytoalexinen. (Weitere Literatur findet sich in Übersichtsaufsätzen [2a, 2b, 23, 24].)

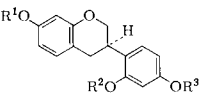
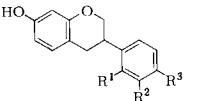
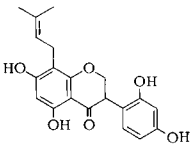
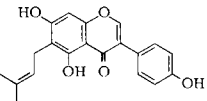
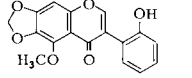
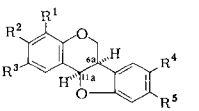
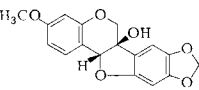
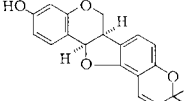
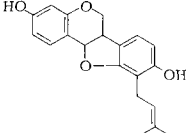
Struktur	Trivialname	Vorkommen
<i>Isoflavonoide</i>		
	(1), $R^1 = R^2 = \text{CH}_3$; $R^3 = \text{H}$ (2), $R^1 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = \text{CH}_3$	Arvesan [1] Sativan [81]
	(3), $R^1 = \text{CH}_3$; $R^2 = \text{H}$; $R^3 = \text{CH}_3$	Isosativan [31]
	(4), $R^1 = R^2 = \text{H}$; $R^3 = \text{CH}_3$	Vestitol [10, 81]
	(5), $R^1 = R^3 = \text{H}$; $R^2 = \text{CH}_3$	Isovestitol [3]
	(6), $R^1 = R^2 = R^3 = \text{H}$	Demethylvestitol [3]
	(7), $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = R^3 = \text{OCH}_3$ (7a), $R^1 = R^2 = \text{OCH}_3$; $R^3 = \text{OH}$ (8), $R^1 = \text{OCH}_3$; $R^2 = \text{Dimethylallyl}$; $R^3 = \text{OH}$	Isomucronulatol [4] Laxifloran [177] 2-O-Methylphaseollidiniso flavan [32]
	(9), $R = \text{H}$ (9a), $R = \text{CH}_3$	Phaseolliniso flavan [5] 2'-O-Methylderivat von (9) [82]
		Buschbohne (<i>Phaseolus vulgaris</i>)
	(10)	Kieviton [5] Buschbohne, Hyacinthbohne [177]
	(10a)	Wighteon [78] <i>Glycine wightii</i>
	(11)	Betavulgarin [6, 7] Runkelrübe (<i>Beta vulgaris</i> , Chenopodiaceae)
	(12), $R^1 = R^3 = R^4 = \text{H}$; $R^2 = \text{OH}$; $R^5 = \text{OCH}_3$	Medicarpin [8] [(-)-Enantiomer, (6aR,11aR)-Konfiguration]
	(13), $R^1 = R^4 = \text{H}$; $R^2 = \text{OH}$; $R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$ (14), $R^1 = R^4 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$ (15), $R^1 = \text{OH}$; $R^4 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = R^5 = \text{OCH}_3$ (16), $R^1 = R^3 = \text{H}$; $R^4 - R^5 = -\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$	(-)-Inermin [8] (Maackiain)
		Zusammen mit (13)–(15) und (17) aus Erbsen. (16) auch aus <i>Trigonella</i> -Arten [10]
	(17)	(+)-Pisatin [a] [45] Erbse (<i>Pisum sativum</i>), Platterbse (<i>Lathyrus</i>) [11]
	(18)	Phaseollin [33] [(6aR,11aR)-Konfiguration] [34] <i>Phaseolus</i> -Arten, Gemeine Kuhbohne (<i>Vigna sinensis</i>)
	(19)	Phaseollidin [5, 12] <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Vigna sinensis</i> [83], Goabohne (<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>) [84], Hyacinthbohne [177]

Tabelle 1.

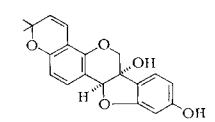
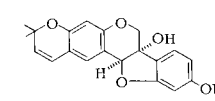
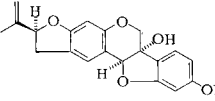
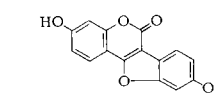
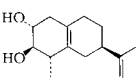
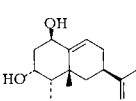
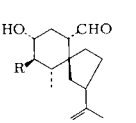
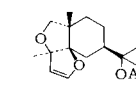
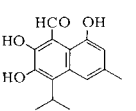
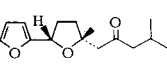
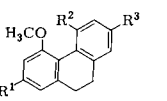
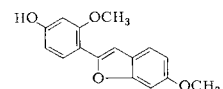
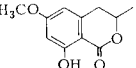
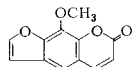
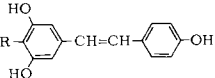
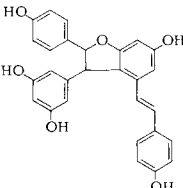
Struktur	Trivialname	Vorkommen
	(20) Glyceollin [13]	Sojabohne (<i>Glycine max</i>)
	(21) Isomer von Glyceollin [14]	Sojabohne
	(22) Isomer von Glyceollin [14]	Sojabohne
	(23) Cumöstrol [b] [15]	Limabohne (<i>Phaseolus lunatus</i>)
<i>Sesquiterpene (Übersicht siehe auch [90a])</i>		
	(24) Rishitin [35, 36]	Kartoffelknollen (<i>Solanum</i> -Arten), Tomaten (<i>Lycopersicum esculentum</i>)
	(25) Capsidiol [22, 37]	Paprikafrüchte (<i>Capsicum frutescens</i>)
	(26), R = H (27), R = OH	Lubimin [38] 4-Hydroxylubimin [c] [39]
	(28) Phytuberin [40]	Kartoffeln
	(29) Hemigossypol [41, 19]	Baumwolle (<i>Gossypium</i> -Arten, Malvaceae)
<i>Furanoterpenoide</i>		
	(30) Ipomeamaron [25]	Süßkartoffel (<i>Ipomoea batatas</i> , Convolvulaceae)
<i>Polyacetylene</i>		
$\text{CH}_3-\text{CH}^L-\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_3-\text{CH}^L-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{OH}$ (31)	Safinol [26, 85] [(2 <i>R</i>)-Konfiguration]	Färberdistel (<i>Carthamus tinctorius</i> , Compositae)
$\text{CH}_3-\text{CH}^L-\text{CH}-(\text{C}\equiv\text{C})_4-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{OH}$ (32)	Dehydrosafinol [26]	
$\text{C}_2\text{H}_5-\text{CH}^L-\text{CH}=\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}^L-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{R}$ (33), R = H (34), R = CH ₃	Wyeronsäure [27, 28] Wyeron	Saubohne (<i>Vicia faba</i>)
$\text{C}_2\text{H}_5-\text{CH}^L-\text{CH}=\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}^L-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{CH}_3$ (35)	Wyeron-4,5-epoxid [29]	
<i>Dihydrophenanthrene</i>		
	(36), R ¹ = OCH ₃ ; R ² = H; R ³ = OH (37), R ¹ = R ² = OH; R ³ = H (38), R ¹ = OCH ₃ ; R ² = OH; R ³ = H	Knollen von Orchideenarten (Orchidaceae)

Tabelle 1.

Struktur	Trivialname	Vorkommen
<i>Verschiedene</i>		
 (39)	Vignafuran [d] [16]	Kuhbohne (<i>Vigna unguiculata</i>)
 (40)	[17]	Karotten (<i>Daucus carota</i>)
 (41)	Xanthotoxin [18]	Pastinak (<i>Pastinaca sativa</i>)
 cis- und trans-(42), R = H cis- und trans-(43), R = Dimethylallyl	Resveratrol [86] [87]	Afrikanische Erdnuß (<i>Arachis hypogaea</i>) Amerikanische Erdnuß
 (44)	ε-Viniferin [e] [88]	Weinstock (<i>Vitis vinifera</i>)

[a] Da Pisatin (17) im Gegensatz zu den meisten natürlichen Pterocarpanen rechtsdrehend ist, wird (6aS,11aS)-Konfiguration angenommen.

[b] Cumöstrol (23) wird nach Infektion mit dem Nematoden *Pratylenchus scribneri* akkumuliert. Es hemmt die Motilität dieses Nematoden, besitzt aber keine fungitoxische Wirkung.

[c] Die Fungitoxizität von (27) scheint geringer zu sein als von Katsui et al. [39] angegeben [90a].

[d] Vignafuran (39) könnte aus einem Pterocarpin [vgl. (12)] durch Verlust des C-2 gebildet werden.

[e] Resveratrol (42), das auch im Weinstock vorkommt, dürfte die Vorstufe von ε-Viniferin (44) sein. (44) wirkt bedeutend stärker fungitoxisch als (42) [88].

akkumulieren, welche die stärkste Hemmwirkung gegenüber diesem Organismus zeigen. Dagegen ist die Antwort auf einen abiotischen Elicitor wie CuCl₂ weniger selektiv.

Es ist eine attraktive Hypothese, daß Pflanzen Produkte mikrobiellen Ursprungs erkennen und dadurch die Induktion der Phytoalexinsynthese vermittelt wird^[118]. Erste Berichte über von Mikroorganismen synthetisierte Elicitoren bezogen sich auf Untersuchungen mit Präparaten unbekannter Zusammensetzung^[94–102]. Cruickshank und Perrin^[119] isolierten und charakterisierten einen Elicitor von *Monilinia fructicola*, einem Fruchtparasiten. Dieser Elicitor, Monilicolin A, ist ein Peptid mit einem Molekulargewicht von ungefähr 8000, das bei Verabreichung in geringen Konzentrationen (ca. 10^{−9} mol/l) die Synthese der Phytoalexine Phaseollin (18) und Phaseollidin (19) in der Bohne (*Phaseolus vulgaris*) stimuliert^[119]. Die Bohne ist jedoch kein Wirt dieses Pilzes. In anderen Nichtwirten des Pilzes wie der Saubohne (*Vicia faba*) oder der Erbse (*Pisum sativum*) stimuliert Monilicolin A die Phytoalexinsynthese nicht^[119]. Die physiologische Bedeutung von Monilicolin A in der Krankheitsresistenz ist noch ungeklärt, da bisher kein Wirt von *M. fructicola* beschrieben wurde, der auf diesen Elicitor reagiert.

Albersheim et al.^[118, 120–123] isolierten einen Elicitor von *Phytophthora megasperma* var. *sojae* (abgekürzt Pms), dem Erreger von Stamm- und Wurzelfäule der Sojabohne (*Glycine max*). Der Pms-Elicitor induziert die Synthese des Glyceollins (20) in Kotyledonen^[120], Hypokotylen^[120] und Zellsuspensionen^[123] der Sojabohne^[*]. Die Gewebe der Sojabohne reagieren sehr empfindlich auf geringe Mengen des Pms-Elicitors. Es genügen Konzentrationen von ungefähr 1 µg/ml, um die Glyceollinakkumulation zu stimulieren. Zwischen Glyceollin (20) und den von Lyne et al.^[14] isolierten strukturisomeren Verbindungen (21) und (22) aus infizierten Sojabohnen, die ähnliche antimikrobielle Eigenschaften wie Glyceollin besitzen, wurde in diesem Zusammenhang nicht differenziert, da sie unter den Bedingungen der biologischen Tests für den Pms-Elicitor nicht getrennt erfaßt wurden.

Der Pms-Elicitor ist ein Strukturpolysaccharid der Myzelwand von Pms. Er läßt sich mit Wasser unter Erhitzen teilweise aus der Myzelwand lösen und kann auch aus dem zellfreien Kulturfiltrat von Pms, in das er vermutlich durch Autolyse eines Teils des Pilzmyzels abgegeben wird, isoliert werden. Hinweise auf die Polysaccharidnatur des Pms-Elicitors ergaben sich aus seiner Hitzestabilität, der Unempfindlichkeit gegenüber pH-Extremen, der Resistenz gegen Pronase und der Heterogenität des Molekulargewichtes^[118].

Eine weiterführende Charakterisierung ergab, daß die elicitoraktiven Moleküle β-1,3-Glucane sind, die an C-6 einiger Glucosylreste zusätzliche Zuckerreste tragen können. Das durchschnittliche Molekulargewicht des aus der Myzelwand extrahierten Elicitors beträgt 100000. Exo-β-1,3-glucanase aus

[*] Kotyledonen (Keimblätter) und Hypokotyl (Sproßabschnitt zwischen Wurzelansatz und Keimblättern) sind Teile des Keimlings.

Euglena gracilis hydrolysiert ungefähr 90 % des Glucans zu hochverzweigten Fragmenten mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 10000. Diese Fragmente behalten den größten Teil der Elicitoraktivität des hochmolekularen Materials. Um die elicitorwirksame Komponente des Glucans noch genauer zu beschreiben, wurde die Pms-Myzelwand mit Säure partiell hydrolysiert. Aus dem Hydrolysat konnten Oligosaccharide aus etwa acht Glucosylresten isoliert werden, die die kleinsten elicitoraktiven Verbindungen^[118].

Die Periodatoxidation des Elicitorpräparates bewirkte einen fast vollständigen Verlust der Aktivität im biologischen Test^[122]. Durch Reduktion mit NaBH₄ und anschließende Säurehydrolyse unter milden Bedingungen wurde jedoch ein beträchtlicher Teil der Elicitoraktivität zurückgewonnen. Dieser Befund legt nahe, daß Periodat die Elicitoraktivität durch Modifizierung endständiger Glycosylreste beseitigt hat. Die partielle Säurehydrolyse führte zur Freisetzung neuer endständiger Glycosylreste und damit zur Reaktivierung^[118].

Es wurden Elicitoren mit gleicher biologischer Aktivität aus drei unterschiedlich pathogenen Stämmen von Pms isoliert^[121, 122]. Abbildung 1 zeigt die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Akkumulation von Glyceollin in Hypokotylen der Sojabohne, die mit lebendem Myzel eines virulenten Pms-Stammes, eines avirulenten Pms-Stammes oder den aus diesen Stämmen isolierten Elicitoren inkubiert wurden^[121]. In allen drei Fällen beginnt der Glyceollingehalt in den Hypokotylen 6–9 Stunden nach Inkubationsbeginn stark anzusteigen. In der Zeit zwischen 9 und 15 Stunden setzt sich der Anstieg in allen drei Fällen gleich stark fort. Der Befund, daß der gereinigte Pms-Elicitor die Glyceollinsynthese in gleichem Maße wie das Pms-Myzel induziert, läßt vermuten, daß der Elicitor die Myzelkomponente ist, die von der Pflanze erkannt wird^[118]. Der Pms-Elicitor sollte daher ein hervorragendes Agens in einem Modellsystem zum Studium der Regulation der Phytoalexinsynthese in der Sojabohne sein.

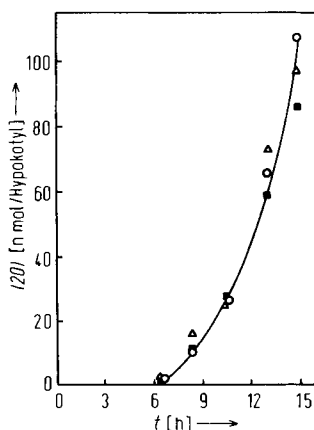


Abb. 1. Akkumulation des Glyceollins (20) nach Behandlung von Hypokotylen der Sojabohne mit dem Pms-Elicitor oder mit lebendem Pms-Myzel. ■, Pms-Elicitor; ○, Myzel eines avirulenten Pms-Stammes; △, Myzel eines virulenten Pms-Stammes (kann die Pflanze innerhalb von 24 h töten).

Die Biosynthese des Glyceollins (20) verläuft wahrscheinlich über die zentrale Zwischenstufe der Flavonoidbiosynthese, das Flavanon (vgl. Abb. 2 und Abschnitt 4). Induktionsversuche mit dem Pms-Elicitor an Zellkulturen^[123] und Kotyledonen^[64a, 64b] der Sojabohne ergaben, daß die Bildung des Glyceollins von einer starken Steigerung der Aktivität der Enzyme des allgemeinen Phenylpropanstoffwechsels (Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL), Zimtsäure-4-Hydroxylase, 4-Cuma-

rat:CoA-Ligase) und der Flavanon-Synthase (FS) (Abb. 2) begleitet war. Eine gesteigerte Aktivität der PAL wurde sowohl bei anderen Wirt-Parasit-Wechselwirkungen^[59, 69, 124–129] als auch in mechanisch verwundeten Pflanzengeweben, in denen die Synthese von Phenylpropanverbindungen und die Aktivität von Enzymen des allgemeinen Phenylpropanstoffwechsels stimuliert wird^[124, 130–133], festgestellt. Diese Beobachtungen ließen Zweifel aufkommen, ob die in Wirt-Parasit-Systemen gemessenen Steigerungen der PAL-Aktivität nicht ganz oder teilweise durch mechanische Verwundung des Pflanzengewebes verursacht worden waren^[190].

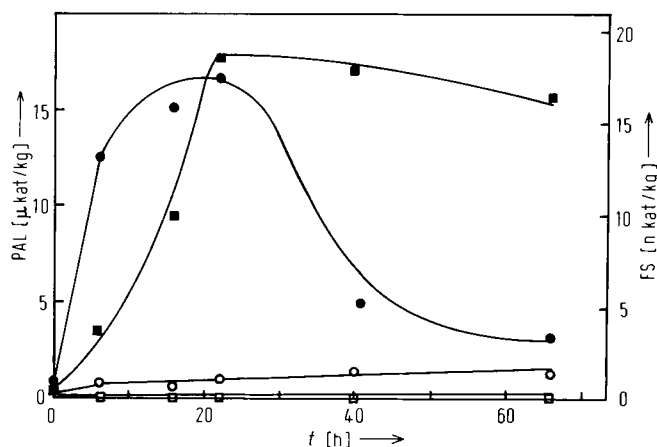


Abb. 2. Zeitabhängigkeit der elicitorinduzierten Änderung der Aktivitäten von Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL, ●) und Flavanon-Synthase (FS, ■) in verwundeten Kotyledonen der Sojabohne. (Offene Symbole: Kontrollversuch mit verwundeten Kotyledonen ohne Elicitor.)

Induktionsversuche mit mechanisch verwundeten Kotyledonen der Sojabohne zeigten jedoch, daß die Aktivität der Enzyme PAL und FS nur in den zusätzlich mit Pms-Elicitor behandelten verwundeten Kotyledonen drastisch gesteigert war (Abb. 2). Auch die Induktionsversuche mit Sojazzellkulturen, deren Kulturmedium der Elicitor beigemischt wurde, zeigten eine von einer mechanischen Verwundung unabhängige Steigerung der PAL-Aktivität und der Glyceollinakkumulation^[123].

Eine für die Kontrolle der Phytoalexinbildung bedeutende Frage ist, ob die in den Sojakotyledonen durch den Pms-Elicitor stimulierte Glyceollinsynthese mit der gemessenen Steigerung der Enzymaktivitäten zusammenhängt. Die gleichzeitige Inkubation der Sojakotyledonen mit dem Elicitor und einem kompetitiven Inhibitor der PAL, einem Derivat der α -Amino-oxy- β -phenylpropionsäure^[184], verringerte die Glyceollinakkumulation um ungefähr 60 %, während die gemessenen in-vitro-Aktivitäten der Enzyme des allgemeinen Phenylpropanstoffwechsels denen der Proben ohne Inhibitor entsprachen^[64b]. Daher ist zu vermuten, daß die elicitorstimulierte Glyceollinsynthese zumindest teilweise durch die erhöhten Aktivitäten der Enzyme des allgemeinen Phenylpropanstoffwechsels kontrolliert wird.

Das Vorkommen polysaccharidartiger Elicitoren und deren Wirkung auf die Phytoalexinsynthese sind nicht auf das System Pms/Sojabohne beschränkt. Ähnliche Glucane wie die aus Pms werden in den Wänden einer großen Anzahl von Pilzen gefunden^[185]. Glucane aus Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*)^[118], aus der Myzelwand von *Colletotrichum lindemuthianum*^[134] und aus *Phytophthora* spp.^[135] stimulieren die Phytoalexinsynthese in der Sojabohne, Bohne und Kartoffel.

Die Vorgänge, die der Wirkung des Pms-Elicitors und den gesteigerten Aktivitäten von Enzymen des Phenylpropanstoffwechsels auf molekularer Ebene zugrunde liegen, sind noch unbekannt. Es ist bemerkenswert, daß der Pms-Elicitor die PAL-Aktivität in Zellkulturen des Bergahorns (*Acer pseudo-platanus*) und der Petersilie (*Petroselinum hortense*) ebenfalls steigert^[123].

Tabak (*Nicotiana* spp.) bildet nach Virusinfektion eine Reihe verschieden substituierter Zimtsäuren und Benzoesäuren, deren Ester sowie Cumarine^[136,137] und Sesquiterpene^[138,139]. Nähere Angaben über die antimikrobiellen Eigenschaften der Zimtsäurederivate und Cumarine und deren Bedeutung als Phytoalexine in diesem Wirt-Parasit-System fehlen. Trotzdem sollen hier einige neuere Arbeiten über die nach Virusinfektion beobachtete Steigerung des Phenylpropanstoffwechsels erwähnt werden. In virusinfizierten Blättern, die lokale Nekrosen bilden, wurde ein starker Anstieg der Aktivitäten der PAL, Zimtsäure-4-Hydroxylase und O-Methyltransferase beobachtet^[140-142]. In diesem Fall rührt die erhöhte Enzymaktivität von einer gesteigerten Synthesegeschwindigkeit des Enzyms durch die Virusinfektion her^[125]. Zu einer ähnlichen Ansicht gelangten Tanaka und Uritani^[132] für die durch mechanische Verwundung in Wurzeln der Süßkartoffel (*Ipomoea batatas*) gesteigerte Aktivität der PAL.

4. Biosynthese und Metabolismus der Phytoalexine

4.1. Isoflavonoide

Die überwiegende Zahl der bisher bekannten Phytoalexine gehört zur Gruppe der Isoflavonoide. Diese wiederum sind eine Untergruppe der Flavonoide, über deren Biosynthese umfassende Übersichten aus neuerer Zeit existieren^[48,49].

Zum Verständnis der folgenden Ausführungen soll zunächst der Stoffwechselweg zu den Flavonoiden skizziert werden. Für die Biosynthese des Flavonoidgerüsts werden die Coenzym-A-Ester von 4-Hydroxyzimtsäure (4-Cumarsäure) und Malonsäure benötigt. Zimtsäure selbst entsteht durch Eliminierung von Ammoniak aus L-Phenylalanin, katalysiert durch PAL. Nach Hydroxylierung zur 4-Hydroxyzimtsäure kann diese durch eine Ligase in Gegenwart von ATP und Coenzym A zum CoA-Ester aktiviert werden. Das Enzym Flavanon-Synthase (FS)^[50] katalysiert dann die Kondensation von 4-Cumaroil-CoA mit 3 Molekülen Malonyl-CoA zum Flavanon Naringenin (45), das eine zentrale Position im Flavonoidstoffwechsel einnimmt (Abb. 3).

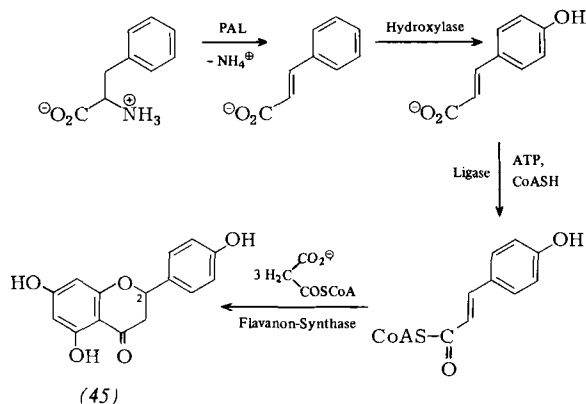


Abb. 3. Biosyntheseweg von L-Phenylalanin zum Flavanon Naringenin (45). PAL = Phenylalanin-Ammonium-Lyase.

Mit isotenmarkiertem Naringenin wurde bewiesen, daß sich Isoflavone, z. B. (46), mit dem gleichen Substitutionstyp wie dieses Flavanon durch 1,2-Arylumlagerung aus (–)-(2S)-Naringenin bilden^[51]. Die Biosynthese der 5-Desoxyisoflavone, z. B. (47), geht vom 4',7-Dihydroxyflavanon aus^[52] (Abb. 4). Bisher kennt man keine Enzyme für die Synthese des Dihydroxyflavanons und für die Umlagerung von Flavanonen in Isoflavone.

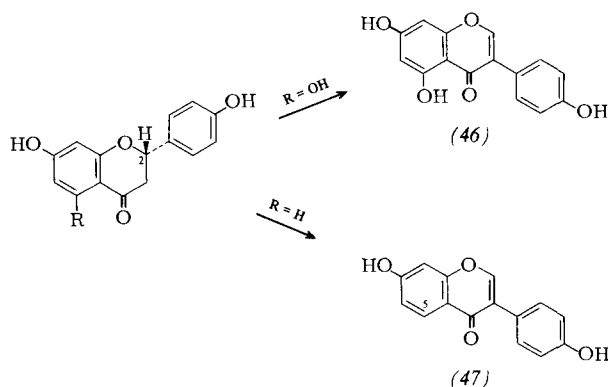


Abb. 4. Biosynthese des Isoflavons Genistein (46) und des 5-Desoxyisoflavons Daidzein (47) aus den entsprechend substituierten Flavanonen.

Einzelheiten sind über die Biosynthese der Pterocarpan-Phytoalexine in Wiesen- oder Rotklee (*Trifolium pratense*) bekannt. Nach Pilzinfektion^[53] oder in Gegenwart von Schwermetallionen, z. B. Cu^{2+} ^[54], wird in den Keimlingen die Synthese von Medicago (12) und Maackiain (16) induziert. Einbauversuche mit ^{14}C -markierten Vorstufen ergaben, daß 7-Hydroxy-4'-methoxyisoflavon (Formononetin) (48), das Isoflavon (49) und das Isoflavanon (50) sehr gute Vorstufen für (12), aber nicht für Vestitol (4) sind. Dabei ergaben die Verbindungen (49) und (50) einen stärkeren ^{14}C -Einbau als (48)^[56]. Aufgrund dieser Befunde wurde der in Abbildung 5 formulierte Biosyntheseweg für Medicago (12) postuliert. Danach wird Formononetin (48) zunächst zu (49) hydroxyliert. (Die 2'-Hydroxylierung von Isoflavonen wurde bei Untersuchungen zur Biosynthese des Cumöstrols (23) in *Phaseolus aureus* nachgewiesen^[55]). Das Isoflavon (49) könnte zum Isoflavanon (50) reduziert werden, welches durch weitere Reduktion das Isoflavanol (51) ergäbe. Abspaltung von OH^- führte zum Carbeniumion (52) [mesomer mit (53)], das durch Cyclisierung und Protonenabspaltung in Medicago (12) überginge. Durch Addition eines Hydridions an das Carbeniumion könnte Vestitol (4) entstehen. Eine starke Stütze für das intermediäre Auftreten des Carbeniumions (52) ist die in Luzerne (*Medicago sativa*) beobachtete gegenseitige Umwandlung von (12) und (4)^[57], die offensichtlich über eine gemeinsame Zwischenstufe führt. Eine Alternative zum Carbeniumion (52) könnte das Isoflavon (54) sein.

Die Stereochemie der Reduktionssequenz von (49) nach (12) wurde mit Keimlingen von Bockshornklee (*Trigonella foenum-graecum*)^[1*] untersucht, welche größere Mengen Medicago (12) nach Behandlung mit CuCl_2 oder nach UV-Bestrahlung akkumulieren^[58]. Das nach Gabe des an C-2 mit Deuterium markierten Isoflavons (49a) aus den Keimlingen isolierte Medicago (12a) (Abb. 6) zeigte im ^2H -Kernreso-

[*] Bockshornklee ist der Hauptbestandteil der unechten Curry-Soße, die bei uns angeboten wird. Sie hat mit der asiatischen Curry-Mischung kaum etwas zu tun.

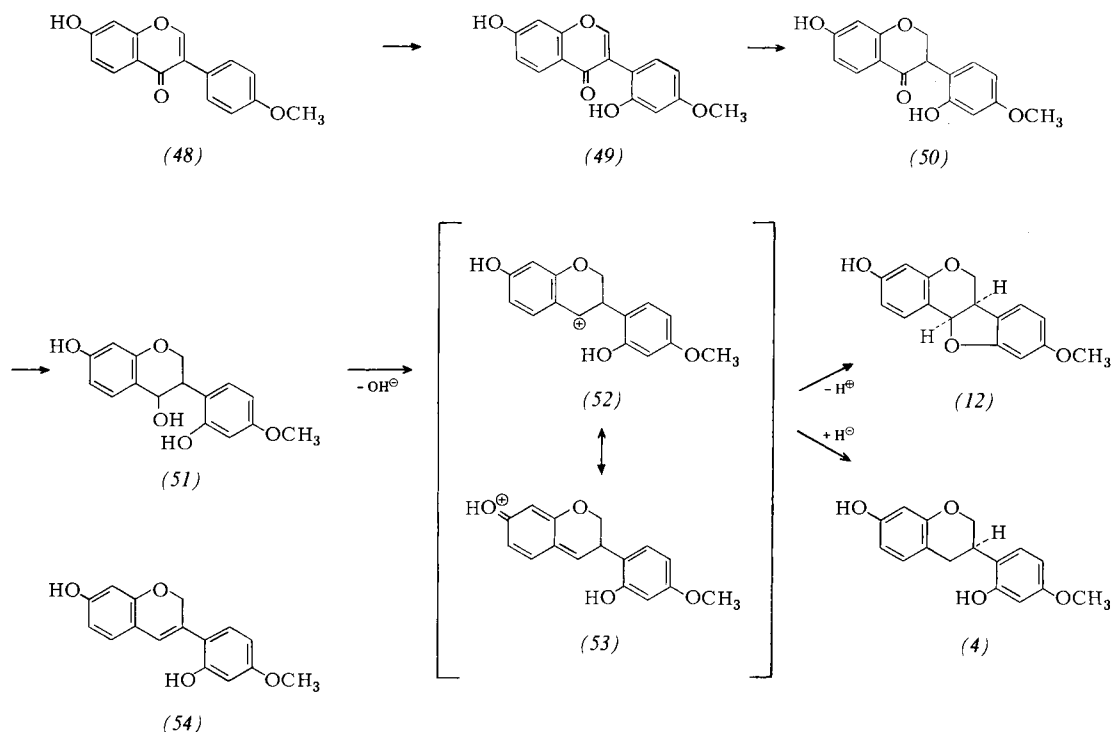


Abb. 5. Postulierter Biosyntheseweg des Isoflavons Formononetin (48) zu Medicarpin (12) und Vestitol (4).

nanzspektrum nur ein Signal bei $\delta = 3.92$, das Deuterium in der 6-pro-R-Position zugeordnet werden kann. Die Biosynthese von (12) aus (49) verläuft demnach formal unter *trans*-Addition von Wasserstoff an die Doppelbindung.

Der für Medicarpin vorgeschlagene Biosyntheseweg ist mit dem Biosyntheseweg für Cumöstrol (23) in Keimlingen^[55] oder Zellkulturen^[62] der Mungbohne (*Phaseolus aureus*) zu vereinbaren. Als unmittelbare Vorstufe für (23) wurde das

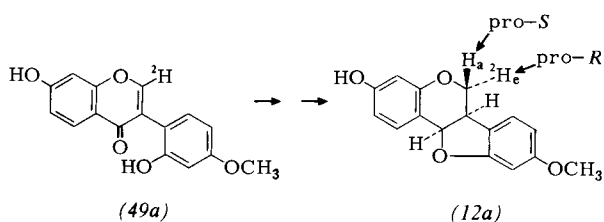


Abb. 6. Stereochemie der Reduktion des 2-Deuterioisoflavons (49a) zu deuteriertem Medicarpin (12a).

Pterocarpin (55) postuliert (Abb. 7), da diese Verbindung leicht zum Cumöstrol oxidiert werden kann^[63]. Cumöstrol zählt jedoch in der Mungbohne nicht im strengen Sinne zu den Phytoalexinen, da es bereits in gesundem Gewebe in höherer Konzentration vorliegt.

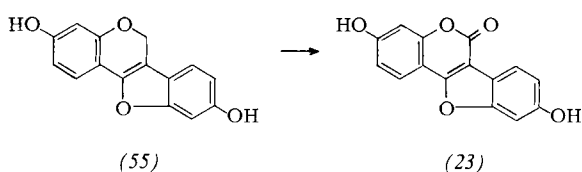


Abb. 7. Postulierte Biosynthese von Cumöstrol (23) durch Oxidation des Pterocarpins (55).

Ebenfalls mit dem Biosyntheseweg für Medicarpin vereinbar ist der Einbau von $[\text{H}^3]$ -Daidzein (47) in Phaseollin (18), der in Bohnenschoten stattfindet^[59] (Abb. 8).

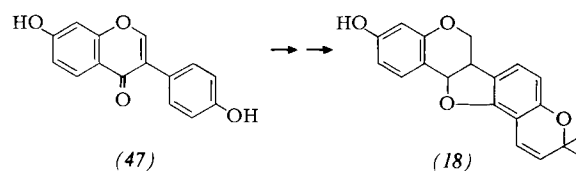


Abb. 8. Umwandlung von Daidzein (47) in Phaseollin (18) (durch ^3H -Markierung nachgewiesen).

In Übereinstimmung mit der Phytoalexintheorie konnte bei Versuchen mit Bohnen gezeigt werden, daß die Vorstufen für Phaseollin (18) nur aus der Wirtspflanze und nicht aus den Parasiten stammen. Hierzu wurden Versuchsserien mit ^{14}C -markierten Sporen (aus $[\text{C}^{14}]$ -Glucose) von *Sclerotinia fructicola* und mit $[\text{C}^{14}]$ -Glucose-markiertem Wirtsgewebe durchgeführt^[60]. Der Zusammenhang zwischen der Phytoalexininduktion und der Aktivitätssteigerung von Enzymen, die wahrscheinlich an ihrer Synthese beteiligt sind, wurde bereits in Abschnitt 3 besprochen.

Phytoalexine können von Pilzen umgewandelt und wahrscheinlich auch abgebaut werden. Diese Reaktionen sind möglicherweise eine Abwehrreaktion der Pilze gegen die Phytoalexine; einige dieser Stoffwechselprodukte besitzen eine geringere Fungitoxizität (vgl. auch Abschnitt 5). So wird Phaseollin (18) durch den für Bohnen pathogenen Pilz *Fusarium solani* zum weniger fungitoxischen Hydroxyphaseollin (56) oxidiert^[65, 66] (Abb. 9).

Weitere Reaktionen, die durch phytopathogene Pilze bewirkt werden, sind Hydroxylierungen von (18) zu den Produkten (57) und (58)^[61] sowie reduktive Öffnung der Benzylphen-

Beim Vergleich des Einbaus von ^{14}C -markiertem Acetat und Mevalonat in Rishitin (24) wurde bei resistenten Kartoffelsorten ein bis zu 5,9fach höherer Einbau als bei anfälligen Kartoffelsorten gefunden^[73].

Die Aktivitätsänderung der Enzyme, die an der Biosynthese des Isopentenylpyrophosphats beteiligt sind, wurde nach Infektion des Wurzelgewebes der Süßkartoffel (*Ipomoea batatas*) durch Sporen des Pilzes *Ceratocystis fimbriata* untersucht. Abbildung 14 zeigt den Anstieg der Aktivität der 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase) nach Infektion. Diesem Anstieg folgt eine Zunahme der Furanoterpenoide wie Ipomeamaron (30)^[74]. In nur verwundetem, aber nicht infiziertem Gewebe nimmt dagegen weder die Enzymaktivität noch der Gehalt an Furanoterpenoiden zu. Die Verhältnisse sind daher sehr ähnlich wie bei der Induktion der Glyceollinbildung in Sojakeimblättern (siehe Abb. 2).

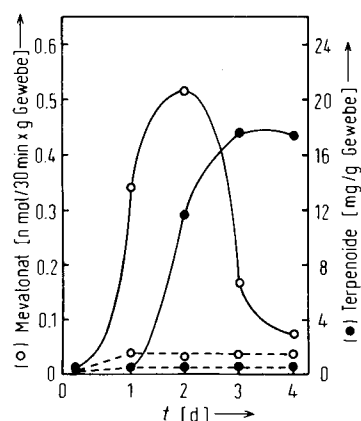


Abb. 14. Änderung in der Aktivität der HMG-CoA-Reduktase (o—o) und im Terpengehalt (●—●) nach Infektion des Wurzelgewebes der Süßkartoffel durch Sporen des Pilzes *Ceratocystis fimbriata*. (Gestrichelte Kurven: Kontrollversuch mit verwundetem, nicht infiziertem Gewebe.)

Ob die HMG-CoA-Reduktase das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Furanoterpenoidsynthese ist – wie bei der Biosynthese des Cholesterins in Rattenleber^[75] –, ist nicht bekannt. Ein Aktivitätsanstieg weiterer Enzyme des Weges vom Mevalonat zum Isopentenylpyrophosphat, z. B. der Pyrophosphomevalonat-Decarboxylase, wurde nach Infektion in der Süßkartoffel beobachtet^[76].



Abb. 15. Oxidation von Ipomeamaron (30) zu 4-Hydroxymyoparon (64) durch Süßkartoffeln.

Durch Süßkartoffelscheiben, die mit HgCl_2 behandelt waren, wird Ipomeamaron (30) zu 4-Hydroxymyoparon (64) oxidiert^[79] (Abb. 15). (64) kann durch den für Süßkartoffeln pathogenen Pilz *Fusarium solani* zu lungentoxischen Metaboliten umgewandelt werden^[80].

5. Rolle der Phytoalexine als Abwehrstoffe

Zahlreiche neuere Abhandlungen haben sich mit der Bedeutung der Phytoalexine für die Resistenz von Pflanzen gegenüber

Krankheiten befaßt^[2a, 23, 24, 47, 90a, 143, 144]. In diesem Aufsatz wird nur auf einige wesentliche Beobachtungen und Hypothesen eingegangen.

Phytoalexine, vielfach mehrere Verbindungen ähnlicher Struktur, werden nicht nur als Antwort einer Pflanze auf eine Infektion, sondern z. B. auch auf Kältereize oder UV-Strahlung gebildet; sie sind auch keine spezifischen Toxine. Spezifität besteht dagegen in den Reaktionsweisen der Pflanzen (Anfälligkeit oder Resistenz) in bestimmten Wirt-Parasit-Kombinationen^[*].

Ehe die Rolle der Phytoalexine als Abwehrstoffe beurteilt werden kann, müssen folgende Fragen beantwortet werden:

a) Werden die Phytoalexine in hinreichender Menge und in angemessener Zeit gebildet, um den beobachteten Stillstand im Wachstum des Parasiten zu erklären?

b) Treten die Phytoalexine an den Stellen innerhalb der Pflanze auf, an denen sie mit dem Mikroorganismus in Kontakt treten könnten?

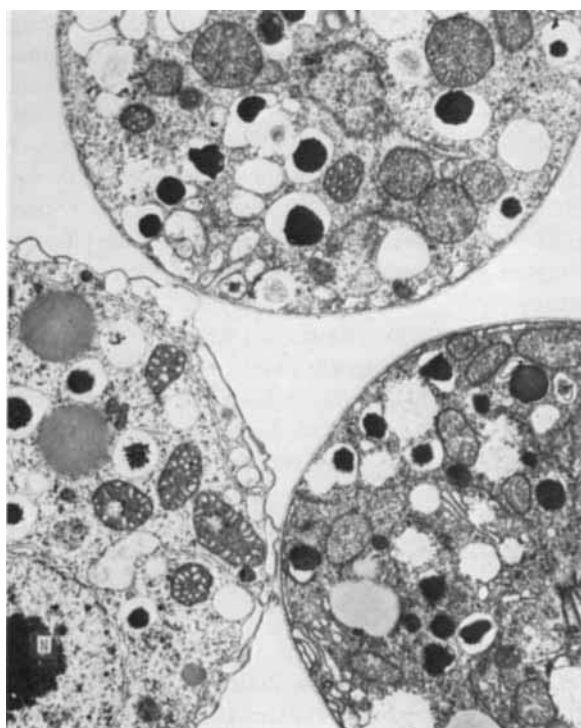
c) Gibt es Anzeichen einer Wechselwirkung zwischen Phytoalexin und Mikroorganismus?

d) Spielen andere Mechanismen in der Auseinandersetzung zwischen Wirt und Parasit eine Rolle, die die Ausbreitung des Parasiten beeinträchtigen könnten, bevor die Phytoalexine wirksam werden?

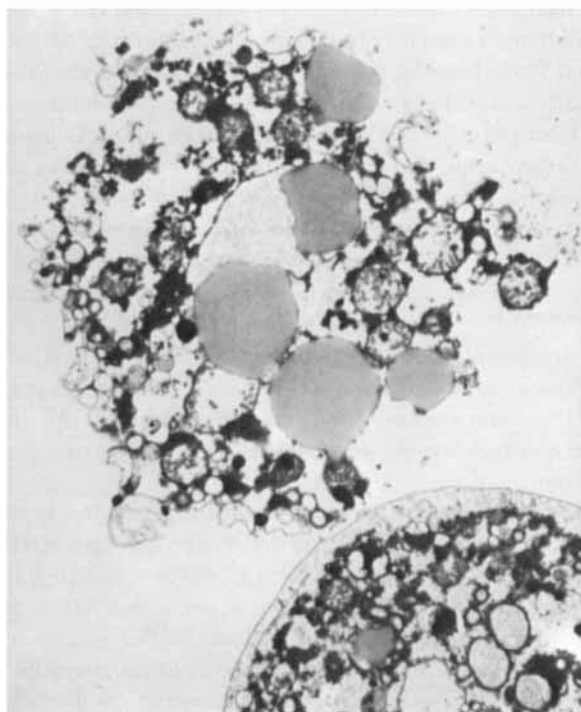
Das biologische Wirkungsspektrum der Phytoalexine ist sehr intensiv untersucht worden. Bei den allgemein gebräuchlichen Biotests nutzt man besonders ihre fungitoxische Aktivität auf Sporenkeimung, Keimschlauchwachstum, radiales Myzelwachstum auf festem Nährmedium oder die Akkumulation von Pilzmyzel in flüssiger Kultur. Phytoalexine aus der Gruppe der Isoflavonoide, Terpenoide und Polyacetylene hemmen in den genannten Tests in Konzentrationen von 10^{-5} bis 5×10^{-4} mol/l eine große Anzahl von pathogenen und nicht-pathogenen Pilzen^[91, 145–149, 188]. Es wurden fungistatische und fungizide, in einigen Fällen auch antibakterielle Eigenschaften^[118, 154, 189] der Phytoalexine gefunden. Hoch, VanEtten und Matthews^[191] untersuchten cytologische Veränderungen an Zoosporen von *Aphanomyces euteiches*, die einer Lösung von Phaseollin (18) ausgesetzt wurden. Abbildung 16 gibt einen Eindruck von der Wirkung dieses Phytoalexins auf die Zoosporen.

Die in vitro gemessenen fungitoxischen Eigenschaften können jedoch in Abhängigkeit von den Testbedingungen stark variieren^[150–153, 188], und die Ableitung der in-vivo-Aktivität der Phytoalexine aus diesen Daten ist nur schwer möglich. In vielen Fällen sind pathogene Pilze unempfindlich gegenüber den Phytoalexinen ihres Wirtes, während nicht-pathogene Pilze gegenüber denselben Phytoalexinen empfindlich sind^[12, 145, 152, 155, 156, 188]. Es werden aber auch Ausnahmen von dieser Beziehung zwischen Pathogenität eines Pilzes und Phytoalexinunempfindlichkeit beschrieben^[91, 107, 156–159]. Als Voraussetzung für die Pathogenität eines Pilzes gegenüber einer bestimmten Pflanze kann daher nicht die in vitro gefundene Toleranz des Pilzes gegenüber dem/den Phytoalexin(en) dieser Pflanze gelten. Die in-vitro-Toleranz von Pilzen gegenüber Phytoalexinen könnte mit der Fähigkeit der Pilze, Phyto-

[*] Die Kombination oder Wechselwirkung zwischen der Wirtspflanze und dem pathogenen Organismus wird als verträglich („compatible“) bezeichnet, wenn der Wirt anfällig und der pathogene Organismus virulent ist. Dementsprechend nennt man die Kombination unverträglich („incompatible“), wenn der Wirt resistent und der pathogene Organismus avirulent ist [95].



A



B

Abb. 16. Wirkung von Phaseollin (18) auf Zoosporen des Bodenpilzes *Aphanomyces euteiches*, eines Erregers der Wurzelfäule bei der Erbse. A) Zwei encystierte Zoosporen und eine nicht-encystierte Zoospore. Man erkennt den Zellkern (N) und einige Organellen (Kontrolle). B) Encystierte und nicht-encystierte Zoospore nach 5 min Behandlung mit ungefähr 10^{-4} mol/l Phaseollin. Man beobachtet in beiden Fällen eine stark degenerative Veränderung der Feinstruktur und Auflösung der geordneten Zellkompartimentierung. Die Form der encystierten Zoospore bleibt erhalten, da die Sporenwand nicht zerstört wird (Vergrößerung: 25000fach. H. C. Hoch, H. D. VanEtten und P. S. Matthews, unveröffentlicht).

alexine in nicht toxische Verbindungen umzuwandeln, zusammenhängen (siehe Abschnitt 4).

Die in-vivo-Situation in einem Wirt-Parasit-System wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst. Besonderes Interesse fan-

den Systeme aus mehreren Varietäten (Sorten) einer Wirtspflanze und mehreren unterschiedlich pathogenen Stämmen eines Mikroorganismus, in denen einige Varietäten der Wirtspflanze anfällig und einige resistent sind (varietätsspezifische Resistenz). Die Resistenzreaktion ist in derartigen Systemen häufig von der Überempfindlichkeitsreaktion begleitet, in deren Verlauf es zum schnellen Tod einiger Zellen am Ort des infizierten Pflanzengewebes und zur Bildung von Abwehrnekrosen sowie zur Akkumulation von Phytoalexinen kommt. Beispiele für solche Wirt-Parasit-Kombinationen sind Systeme aus mehreren Stämmen des Pilzes *Colletotrichum lindemuthianum* und Varietäten der Bohne (*Phaseolus vulgaris*), des Pilzes *Phytophthora megasperma* var. *sojae* (Pms) und der Sojabohne (*Glycine max*) sowie des Pilzes *Phytophthora infestans* und der Kartoffel (*Solanum tuberosum*)^[23, 150, 158, 160–163, 169]. Obwohl die Stämme der Krankheitserreger etwa gleich empfindlich gegenüber den Phytoalexinen ihrer Wirte sind^[150, 158, 160] und die Varietäten der Wirte dieselben Phytoalexine bilden^[23, 150, 169], sind einige Varietäten der Wirtspflanze anfällig, andere resistent.

Dieses unterschiedliche Verhalten könnte darauf beruhen, daß die Photoalexinsynthese nach verschieden langer Anlaufzeit beginnt, mit unterschiedlicher Geschwindigkeit verläuft und zu unterschiedlichen Konzentrationen führt. Einige Beobachtungen zeigten, daß in unverträglichen Kombinationen von Wirtssorten und Parasitstämmen (d.h. bei Resistenz) hohe Konzentrationen an Phytoalexinen schneller gebildet wurden als in verträglichen^[150, 158, 160, 164, 169]. Phaseollin (18) und verwandte Verbindungen wurden in Hypokotylen der Bohne, nachdem bei unverträglichen Kombinationen mit *C. lindemuthianum* die Überempfindlichkeitsreaktion eingesetzt hatte, in Konzentrationen akkumuliert, welche die zur Hemmung des Keimsschlauchwachstums in vitro benötigten Konzentrationen weitaus überstiegen^[150, 160, 164]. Die Akkumulation des Phaseollins und das Auftreten von nekrotischen Zellen war mit einer Begrenzung des Pilzwachstums in den Hypokotylen verbunden^[165]. Nach diesen Befunden wird es für wahrscheinlich gehalten, daß die Phytoalexine das Pilzwachstum in nekrotischen Zellen der Bohnenhypokotyle stoppen, aber es wird auch eingeräumt, daß die Phytoalexine mit den Keimsschläuchen von *C. lindemuthianum* niemals oder erst zu spät in Berührung kommen könnten, um das Wachstum zu begrenzen^[24]. Wenn die in vitro charakterisierten Metabolite der Phytoalexine durch Pilze auch in vivo nachgewiesen werden können, so wird allerdings die Annahme gestützt, daß die in die Pflanze eindringenden Pilze mit deren Phytoalexinen in Kontakt kommen^[2a].

Sorgfältige Untersuchungen auf zellulärem Niveau über den Ort der Akkumulation und die Ausbreitung der Phytoalexine im Vergleich zur Ausbreitung des eindringenden Mikroorganismus könnten diese Probleme ebenfalls klären helfen. Kurze Zeit nach dem Eindringen der Keimsschläuche von *Botrytis cinerea* in Blattzellen der Saubohne (*Vicia faba*) wurden die durchdrungenen Zellen sowie die Zellen in unmittelbarer Nachbarschaft nekrotisch, so daß nekrotische Flecken auf den Blättern innerhalb eines Tages nach dem Beimpfen entstanden. *B. cinerea* blieb normalerweise in seiner Ausbreitung auf diese ersten lokalen Nekrosen beschränkt^[166]. Durch Fluoreszenz-Mikrospektroskopie konnte gezeigt werden, daß der Vakuoleninhalt in lebenden Zellen in der Nachbarschaft nekrotischer Zellen ähnliche spektrale Eigenschaften wie die isolierten Phytoalexine Wyeron (34) und Wyeronsäure (33)

hatte, die in dem von *B. cinerea* infizierten Gewebe innerhalb von zwei Tagen zu hohen Konzentrationen akkumulierten^[149, 167].

Vergleichende Untersuchungen an Gewebedünnschnitten über das Hyphenwachstum von *P. megasperma* var. *sojae* (Pms) und die lokale Akkumulation von Glyceollin (20) in der Umgebung sich ausbreitender Hyphen ergaben, daß in resistenten Sojahypokotylen die Phytoalexinkonzentration die in vitro-Werte für die Hemmung des Pilzwachstums bereits überschritten hatte, als das Pilzwachstum in den Sojahypokotylen aufhörte^[178]. Ähnliche Befunde wurden an Paprikafrüchten (*Capsicum frutescens*) durch Bestimmung des Gehaltes an Capsidiol (25) und Ultrastrukturuntersuchungen gewonnen. Demnach waren in unverträglichen Wirt-Parasit-Kombinationen die Geschwindigkeit und Menge der Capsidiolbildung mehr als hinreichend, um die Infektion zu begrenzen^[179–182]. Paprika ist jedoch vielleicht ein Sonderfall; durch Ultrastrukturuntersuchungen an Paprikazellen konnte eine verträgliche von einer unverträglichen Wechselwirkung bereits 4 h nach dem Inokulieren mit *Phytophthora capsici* unterschieden werden; der Pilz hatte die Zellwand noch nicht durchdrungen und war noch nicht mit dem Cytoplasma der Wirtszelle in Kontakt getreten^[179, 183]. Es erscheint möglich, daß die Phytoalexinbildung in Paprika ein sekundärer Effekt ist und die Spezifität in diesem System mit dem frühen Stadium der Überempfindlichkeit oder einem bisher unbekannten Faktor verknüpft ist^[90a].

Die Experimente mit den Elicitoren der Phytoalexinsynthese haben gezeigt, daß diese nicht die Varietätsspezifität im Pms-Sojabohne-System bestimmen können. Die aus virulenten und avirulenten Pms-Stämmen isolierten Elicitoren sowie das lebende Myzel dieser Stämme besaßen in allen Tests vergleichbare Fähigkeiten, die Glyceollinsynthese in Hypokotylen und Kotyledonen der Sojabohne zu induzieren (Abb. 1)^[121]. Diese Resultate zeigen, daß Unterschiede in der Geschwindigkeit der Glyceollinakkumulation wahrscheinlich nicht die Resistenz oder Anfälligkeit von verschiedenen Varietäten der Sojabohne gegenüber den Pms-Stämmen erklären.

Andere Befunde zeigen jedoch, daß die Elicitoren eine Bedeutung für die Resistenz haben. Sojapflanzen können vor einem virulenten Pms-Stamm geschützt werden, wenn der Elicitor 6 h vor dem Inokulieren mit dem Myzel des virulenten Stammes auf die Hypokotyle gegeben wird. Der Elicitor kann die Sojapflanze aber nicht schützen, wenn man ihn gleichzeitig mit dem virulenten Pms-Stamm appliziert. Es ist nicht bekannt, wie der virulente Stamm die hemmende Wirkung des Glyceollins umgehen kann. Das verbreitete Vorkommen der Elicitoren in der Natur^[23, 118, 135] und ihre biologische Wirkung deuten auf eine Allgemeingültigkeit des Elicitorkonzeptes hin^[118].

Die Fähigkeit, Phytoalexine zu synthetisieren, scheint eine verbreitete und wirkungsvolle Maßnahme der Pflanze zu sein, um sich gegen nicht-pathogene Mikroorganismen zu verteidigen. Wie an den Beispielen der varietätsspezifischen Resistenz (oder Anfälligkeit) gezeigt, scheint die Phytoalexinbildung aber für den Schutz von Pflanzen gegenüber virulenten Stämmen von Mikroorganismen sowie allgemein gegen pathogene Mikroorganismen nicht auszureichen. Bisher ist nicht bekannt, welche Faktoren die Spezifität des Parasitismus bei Pflanzen bewirken. Frühere Berichte, daß die Pms-Elicitoren der Phytoalexinsynthese Determinanten der Stammesspezifität sind^[168], stehen im Widerspruch zu den hier diskutierten Befunden^[118].

Im folgenden soll angedeutet werden, wie es pathogenen Organismen möglich sein könnte, die toxischen Effekte der Phytoalexine zu umgehen. Die Überführung der Phytoalexine durch die Mikroorganismen in weniger toxische Produkte wurde schon in Abschnitt 4 besprochen. Eine andere Möglichkeit geht davon aus, daß die Unempfindlichkeit gegenüber Phytoalexinen eine Rolle für die Pathogenität einiger Mikroorganismen spielt. In beiden Fällen ist unbekannt, ob die Pathogenität des Parasiten bei Verlust der Fähigkeit, die Phytoalexine der Wirtspflanze zu metabolisieren, bzw. bei Verlust der Unempfindlichkeit bestehen bliebe. Schließlich könnten die Phytoalexine wirkungslos bleiben, weil ein pathogener Organismus während seiner Ausbreitung in der Pflanze mit ihnen nicht in Kontakt kommt.

Außerdem könnte der pathogene Organismus die Pflanze daran hindern, Phytoalexine zu synthetisieren. Es müßte untersucht werden, ob Phytotoxine, die von pathogenen Mikroorganismen gebildet werden^[172–174], als Effektoren für einen derartigen Mechanismus in Frage kommen. Andere Möglichkeiten, die Phytoalexinsynthese zu unterdrücken, wären die Inhibierung der Elicitorwirkung durch kompetitive Faktoren^[122] oder die Inaktivierung der Elicitoren, bevor sie ihren Wirkort an der Pflanzenzelle erreichen. In die Literatur eingegangene Begriffe wie „induction of susceptibility“^[175] oder „suppression of hypersensitive response and phytoalexin accumulation“^[176] bedürfen der genaueren Analyse ihrer Bedeutung auf molekularem Niveau.

6. Ausblick

Phytoalexine besitzen ein breites Wirkungsspektrum gegen eine große Anzahl von Pilzen und auch gegen einige Bakterien und Viren. Über ihre Bedeutung für die Krankheitsresistenz von Pflanzen gibt es noch keine allgemein akzeptierte Meinung. Die Fähigkeit zur Phytoalexinsynthese scheint eine wirkungsvolle Möglichkeit zu sein, mit der Pflanzen das Wachstum nicht-pathogener Mikroorganismen begrenzen können. Dagegen ist der Beitrag der Phytoalexine für Systeme mit varietätsspezifischer Resistenz, in denen die Wechselwirkungen von Wirt und Parasit durch genetische Komponenten genau kontrolliert werden^[95], noch nicht geklärt.

Die Induzierbarkeit der Phytoalexinsynthese ist ein interessantes Objekt für Untersuchungen über Regulationsmechanismen des pflanzlichen Stoffwechsels. Es sollten definierte Elicitoren verwendet werden, um die mögliche Beteiligung von Induktor-Rezeptor-Wechselwirkungen und die als deren Folge ausgelösten Reaktionen bei der Umsteuerung des Stoffwechsels aufklären zu können. Die im Zusammenhang mit der Stimulierung des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels auftretenden Fragen nach den Vorgängen auf molekularer Ebene haben grundsätzliche Bedeutung für das Verständnis der Genexpression in eukaryotischen Zellen^[186]. Elicitoren könnten in Zukunft auch eine praktische Anwendung für den „induzierten Schutz“ von Pflanzen vor Krankheiten finden. Die verschiedenen Naturstoffgruppen zugehörigen Phytoalexine mögen schließlich Anregungen für die Konzeption neuartiger umweltfreundlicher Pestizide liefern.

Unsere Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 46) und den Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Prof. G. Drews für die kritische Durchsicht

Eingegangen am 5. Mai 1978 [A 230]

- [1] J. L. Ingham, P. M. Dewick, Z. Naturforsch. C 32, 446 (1977).
- [2a] H. D. VanEtten, S. G. Pueppke in J. Friend, D. R. Threlfall: Biochemical Aspects of Plant-Parasite Relationships. Academic Press, London 1976, S. 239.
- [2b] D. Gross, Fortschr. Chem. Org. Naturst. 34, 187 (1977).
- [3] J. L. Ingham, Phytochemistry 16, 1279 (1977).
- [4] J. L. Ingham, Phytochemistry 16, 1457 (1977).
- [5] R. S. Burden, J. A. Bailey, G. W. Dawson, Tetrahedron Lett. 1972, 4175.
- [6] J. Geigert, F. R. Stermitz, G. Johnson, D. D. Maag, D. K. Johnson, Tetrahedron 29, 2703 (1973).
- [7] G. Johnson, D. D. Maag, D. K. Johnson, R. D. Thomas, Physiol. Plant Pathol. 8, 225 (1976).
- [8] J. N. Bilton, J. R. Debnam, I. M. Smith, Phytochemistry 15, 1411 (1976).
- [9] J. L. Ingham, Z. Naturforsch. C 32, 449 (1977).
- [10] J. L. Ingham, J. B. Harborne, Nature 260, 297 (1976).
- [11] D. J. Robeson, J. B. Harborne, Z. Naturforsch. C 32, 289 (1977).
- [12] D. R. Perrin, D. R. Biggs, I. A. M. Cruickshank, Aust. J. Chem. 27, 1607 (1974).
- [13] R. S. Burden, J. A. Bailey, Phytochemistry 14, 1389 (1975).
- [14] R. L. Lyne, L. J. Mulheirn, D. P. Leworthy, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1976, 497.
- [15] J. R. Rich, N. T. Keen, I. J. Thomason, Physiol. Plant. Pathol. 10, 105 (1977).
- [16] N. W. Preston, K. Chamberlain, R. A. Skipp, Phytochemistry 14, 1843 (1975).
- [17] P. Condon, J. Kuć, Phytopathology 52, 182 (1962).
- [18] C. Johnson, D. R. Brannon, J. Kuć, Phytochemistry 12, 2961 (1973).
- [19] A. I. Zahki, N. T. Keen, J. J. Sims, D. C. Erwin, Phytopathology 62, 1398 (1972).
- [20] E. Hardegger, H. R. Biland, H. Corrodi, Helv. Chim. Acta 46, 1354 (1963).
- [21] E. Gäumann, Phytopath. Z. 49, 211 (1964).
- [22] M. Gordon, A. Stoessl, J. B. Stothers, Can. J. Chem. 51, 748 (1973).
- [23] J. Kuć, W. W. Currier, M. J. Shih in [2a], dort S. 225ff.
- [24] B. J. Deverall in [2a], dort S. 207ff.
- [25] T. Akazawa, Arch. Biochem. Biophys. 90, 82 (1960).
- [26] E. H. Allen, C. A. Thomas, Phytochemistry 10, 1579 (1971); Phytopathology 61, 1107 (1971).
- [27] R. M. Letcher, D. A. Widdowson, B. J. Deverall, J. W. Mansfield, Phytochemistry 9, 249 (1970).
- [28] C. H. Fawcett, R. D. Firn, D. M. Spencer, Physiol. Plant Pathol. 1, 163 (1971).
- [29] J. A. Hargreaves, J. W. Mansfield, D. T. Coxon, K. R. Price, Phytochemistry 15, 1119 (1976).
- [30] E. W. B. Ward, C. H. Unwin, A. Stoessl, Phytopathology 65, 632 (1975).
- [31] J. L. Ingham, Z. Naturforsch. C 31, 331 (1976).
- [32] N. W. Preston, Phytochemistry 14, 1131 (1975).
- [33] I. A. M. Cruickshank, D. R. Perrin, Life Sci. 2, 680 (1963).
- [34] S. Ito, Y. Fujise, A. Mori, Chem. Commun. 1965, 595.
- [35] N. Katsui, A. Murai, M. Takasugi, T. Imaizumi, T. Masamune, K. Tomiyama, Chem. Commun. 1968, 43.
- [36] S. T. K. Bukhari, R. D. Guthrie, J. Chem. Soc. C 1969, 1073.
- [37] G. I. Birnbaum, A. Stoessl, S. H. Grover, J. B. Stothers, Can. J. Chem. 52, 993 (1974).
- [38] A. Stoessl, J. B. Stothers, E. B. Ward, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1974, 709.
- [39] N. Katsui, A. Matsunaga, T. Masamune, Tetrahedron Lett. 1974, 4483.
- [40] D. T. Coxon, R. F. Curtis, K. R. Price, B. Howard, Tetrahedron Lett. 1974, 2363.
- [41] A. A. Bell, R. D. Stipanovic, C. R. Howell, P. A. Fryxell, Phytochemistry 14, 225 (1975).
- [42] Vgl. K. S. Chester, Q. Rev. Biol. 8, 129, 275 (1933).
- [43] K. O. Müller, H. Börger, Arb. Biol. Reichsanst. Land- Forstwirtschaft. 23, 189 (1940).
- [44] K. O. Müller, Phytopathol. Z. 27, 237 (1956).
- [45] D. R. Perrin, W. Bottomley, J. Am. Chem. Soc. 84, 1919 (1962).
- [46] I. A. M. Cruickshank, D. R. Perrin, Nature 187, 799 (1960).
- [47] J. A. Kuć in R. Heitefuss, P. H. Williams: Encyclopedia of Plant Physiology. Springer, Berlin 1976, Vol. 4, S. 632ff.
- [48] K. Hahlbrock, H. Grisebach in J. B. Harborne, T. J. Mabry, H. Mabry: The Flavonoids. Chapman and Hall, London 1975, S. 866ff.
- [49] E. Wong in T. W. Goodwin: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Academic Press, London 1976, Vol. 1, S. 464ff.
- [50] F. Kreuzaler, K. Hahlbrock, Eur. J. Biochem. 56, 205 (1975).
- [51] L. Patschke, W. Barz, H. Grisebach, Z. Naturforsch. B 21, 201 (1966).
- [52] H. Grisebach, W. Barz, Z. Naturforsch. B 19, 569 (1964).
- [53] V. J. Higgins, D. G. Smith, Phytopathology 62, 235 (1972).
- [54] P. M. Dewick, Phytochemistry 14, 979 (1975).
- [55] P. M. Dewick, W. Barz, H. Grisebach, Phytochemistry 9, 775 (1970).
- [56] P. M. Dewick, Phytochemistry 16, 93 (1977).
- [57] P. M. Dewick, M. Martin, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1976, 637.
- [58] P. M. Dewick, D. Ward, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1977, 338.
- [59] S. L. Hess, L. A. Hadwiger, M. E. Schwochau, Phytopathology 61, 79 (1971).
- [60] G. van den Ende, K. O. Müller, Naturwissenschaften 51, 317 (1964).
- [61] J. L. Ingham, Phytochemistry 15, 1489 (1976).
- [62] J. Berlin, P. M. Dewick, W. Barz, H. Grisebach, Phytochemistry 11, 1989 (1972).
- [63] P. M. Dewick, W. Barz, H. Grisebach, Chem. Commun. 1969, 466.
- [64a] U. Zähringer, J. Ebel, H. Grisebach, Arch. Biochem. Biophys. 188, 450 (1978).
- [64b] J. Ebel, unveröffentlicht.
- [65] J. van den Heuvel, H. D. VanEtten, J. W. Serum, D. L. Coffen, T. H. Williams, Phytochemistry 13, 1129 (1974).
- [66] H. D. VanEtten, D. A. Smith, Physiol. Plant Pathol. 5, 225 (1975).
- [67] P. J. Kuhn, D. A. Smith, D. F. Eving, Phytochemistry 16, 296 (1977).
- [68] J. A. Bailey, R. S. Burden, A. Mynett, C. Brown, Phytochemistry 16, 1541 (1977).
- [69] C. B. Munn, R. B. Drysdale, Phytochemistry 14, 1303 (1975).
- [70] F. C. Baker, C. J. W. Brooks, Phytochemistry 15, 689 (1976).
- [71] E. B. Kalan, S. F. Osman, Phytochemistry 15, 775 (1976).
- [72] A. Stoessl, E. W. B. Ward, J. B. Stothers, Tetrahedron Lett. 1976, 3271.
- [73] M. Shih, J. Kuć, Phytopathology 63, 826 (1973).
- [74] H. Suzuki, K. Oba, I. Uritani, Physiol. Plant Pathol. 7, 265 (1975).
- [75] L. L. Slakey, M. C. Craig, E. Beytia, A. Briedis, D. H. Feedbrugge, R. E. Dugan, A. A. Qureshi, C. Subbarayan, J. W. Porter, J. Biol. Chem. 247, 3014 (1972).
- [76] K. Oba, H. Tatematsu, K. Yamashita, I. Uritani, Plant Physiol. 58, 51 (1976).
- [77] N. T. Keen, Phytopathology 65, 91 (1975).
- [78] J. L. Ingham, N. T. Keen, T. Hymowitz, Phytochemistry 16, 1943 (1977).
- [79] L. T. Burka, L. Kuhnert, Phytochemistry 16, 2022 (1977).
- [80] L. T. Burka, L. Kuhnert, B. J. Wilson, T. M. Harris, J. Am. Chem. Soc. 99, 2302 (1977).
- [81] M. R. Bonde, R. L. Millar, J. L. Ingham, Phytochemistry 12, 2957 (1973).
- [82] H. D. VanEtten, Phytochemistry 12, 1791 (1973).
- [83] J. A. Bailey, J. Gen. Microbiol. 75, 119 (1973).
- [84] J. L. Ingham, Phytochemistry 17, 165 (1978).
- [85] H. Nakada, A. Kobayashi, K. Yamashita, Agric. Biol. Chem. 41, 1761 (1977).
- [86] J. L. Ingham, Phytochemistry 15, 1791 (1976).
- [87] N. T. Keen, J. L. Ingham, Phytochemistry 15, 1794 (1976).
- [88] P. Langcake, R. J. Pryce, Experientia 33, 151 (1977).
- [89] P. Stholasuta, J. A. Bailey, V. Severin, B. J. Deverall, Physiol. Plant Pathol. 1, 177 (1971).
- [90a] A. Stoessl, J. B. Stothers, E. W. B. Ward, Phytochemistry 15, 855 (1976).
- [90b] S. S. Gnanamanickam, S. S. Patil, Physiol. Plant Pathol. 10, 159 (1977).
- [90c] E. W. B. Ward, C. H. Unwin, A. Stoessl, Phytopathology 63, 1537 (1973).
- [91] J. A. Bailey, R. S. Burden, Physiol. Plant Pathol. 3, 171 (1973).
- [92] W. L. Klarman, F. Hammerschlag, Phytopathology 62, 719 (1972).
- [93] G. S. Abawi, H. D. VanEtten, W. F. Mai, J. Nematol. 3, 301 (1971).
- [94] I. A. M. Cruickshank, D. R. Perrin, Aust. J. Biol. Sci. 16, 111 (1963).
- [95] P. R. Day: Genetics of Host-Parasite Interaction. Freeman, San Francisco 1974.
- [96] R. A. Dixon, K. W. Fuller, Physiol. Plant Pathol. 11, 287 (1977).
- [97] J. Frank, J. Paxton, Phytopathology 61, 954 (1971).
- [98] W. L. Klarman, J. W. Gerdeman, Phytopathology 53, 1317 (1963).
- [99] J. Nüesch, Soc. Gen. Microbiol. Symp. 13, 335 (1963).
- [100] W. G. Rathmell, D. S. Bendall, Physiol. Plant Pathol. 1, 351 (1971).
- [101] K. Uehara, Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 24, 224 (1959).
- [102] J. L. Varns, W. W. Currier, J. Kuć, Phytopathology 61, 968 (1971).
- [103] N. T. Keen, J. E. Partridge, A. I. Zaki, Phytopathology 62, 768 (1972).
- [104] J. E. Rahe, R. M. Arnold, Phytopathology 53, 921 (1975).
- [105] M. A. Bridge, W. L. Klarman, Phytopathology 63, 606 (1973).
- [106] L. A. Hadwiger, M. E. Schwochau, Plant Physiol. 47, 588 (1971).
- [107] W. L. Klarman, J. B. Sanford, Life Sci. 7, 1095 (1968).
- [108] M. E. Schwochau, L. A. Hadwiger, Arch. Biochem. Biophys. 126, 731 (1968).
- [109] L. A. Hadwiger, A. Jafri, S. von Broembsen, R. Eddy, Jr., Plant Physiol. 53, 52 (1974).
- [110] E. Chalutz, M. A. Stahmann, Phytopathology 59, 1972 (1969).
- [111] J. A. Bailey, Phytochemistry 8, 1393 (1969).
- [112] I. A. M. Cruickshank, D. R. Biggs, D. R. Perrin, C. P. Whittle, Physiol. Plant Pathol. 4, 261 (1974).
- [113] L. A. Hadwiger, M. E. Schwochau, Plant Physiol. 47, 346 (1971).

- [114] S. L. Hess, L. A. Hadwiger, *Plant Physiol.* 48, 197 (1971).
- [115] M. E. Schwachau, L. A. Hadwiger, *Arch. Biochem. Biophys.* 134, 34 (1969).
- [116] H. Oku, T. Nakanishi, T. Shiraishi, S. Ouchi, *Sci. Rep. Fac. Agric. Okayama Univ.* 42, 17 (1973).
- [117] J. J. Reilly, W. L. Klarman, *Phytopathology* 62, 1113 (1972).
- [118] P. Albersheim, A. R. Ayers, Jr., B. S. Valent, J. Ebel, M. Hahn, J. Wolpert, R. Carlson, *J. Supramol. Struct.* 6, 599 (1977).
- [119] I. A. M. Cruickshank, D. R. Perrin, *Life Sci.* 7, 449 (1968).
- [120] A. R. Ayers, J. Ebel, F. Finelli, N. Berger, P. Albersheim, *Plant Physiol.* 57, 751 (1976).
- [121] A. R. Ayers, J. Ebel, B. Valent, P. Albersheim, *Plant Physiol.* 57, 760 (1976).
- [122] A. R. Ayers, B. Valent, J. Ebel, P. Albersheim, *Plant Physiol.* 57, 766 (1976).
- [123] J. Ebel, A. R. Ayers, P. Albersheim, *Plant Physiol.* 57, 775 (1976).
- [124] E. L. Camm, G. H. N. Towers, *Phytochemistry* 12, 961 (1973).
- [125] M. Duchesne, B. Fritig, L. Hirth, *Biochim. Biophys. Acta* 485, 465 (1977).
- [126] L. A. Hadwiger, S. L. Hess, S. von Broembsen, *Phytopathology* 60, 332 (1970).
- [127] A. J. Maule, J. P. Ride, *Phytochemistry* 15, 1661 (1976).
- [128] W. G. Rathmell, *Physiol. Plant Pathol.* 3, 259 (1973).
- [129] C. P. Vance, R. T. Sherwood, *Plant Physiol.* 57, 915 (1976).
- [130] G. Kahl, *Bot. Rev.* 40, 263 (1974).
- [131] M. J. C. Rhodes, A. C. R. Hill, L. S. C. Wooltorton, *Phytochemistry* 15, 707 (1976).
- [132] Y. Tanaka, J. Uritani, *Eur. J. Biochem.* 73, 255 (1977).
- [133] Y. Tanaka, J. Uritani, *Plant Physiol.* 60, 563 (1977).
- [134] A. J. Anderson-Prouty, P. Albersheim, *Plant Physiol.* 56, 286 (1975).
- [135] N. Lisker, J. Kuć, *Phytopathology* 67, 1356 (1977).
- [136] B. Fritig, M. Legrand, L. Hirth, *Virology* 47, 845 (1972).
- [137] J. Tanguy, C. Martin, *Phytochemistry* 11, 19 (1972).
- [138] J. A. Bailey, R. S. Burden, G. G. Vincent, *Phytochemistry* 14, 597 (1975).
- [139] J. A. Bailey, G. G. Vincent, R. S. Burden, *Physiol. Plant Pathol.* 8, 35 (1976).
- [140] M. Paynot, C. Martin, M. Giraud, C. R. Acad. Sci. D 273, 537 (1971).
- [141] M. Kopp, B. Fritig, L. Hirth, C. R. Acad. Sci. D 280, 923 (1975).
- [142] M. Legrand, B. Fritig, L. Hirth, *Phytochemistry* 15, 1353 (1976).
- [143] I. A. M. Cruickshank, D. R. Biggs, D. R. Perrin, *J. Indian Bot. Soc.* 50A, 1 (1971).
- [144] J. L. Ingham, *Phytopathol. Z.* 78, 314 (1973).
- [145] I. A. M. Cruickshank, *Aust. J. Biol. Sci.* 15, 147 (1962).
- [146] D. R. Perrin, I. A. M. Cruickshank, *Phytochemistry* 8, 971 (1969).
- [147] H. D. VanEtten, *Phytochemistry* 15, 655 (1976).
- [148] E. W. B. Ward, C. H. Unwin, A. Stoessl, *Can. J. Bot.* 52, 2481 (1974).
- [149] J. A. Hargreaves, J. W. Mansfield, S. Rosall, *Physiol. Plant Pathol.* 11, 227 (1977).
- [150] J. A. Bailey, *Physiol. Plant Pathol.* 4, 477 (1974).
- [151] M. C. Heath, V. J. Higgins, *Physiol. Plant Pathol.* 3, 107 (1973).
- [152] H. D. VanEtten, *Phytopathology* 63, 1477 (1973).
- [153] R. A. Skipp, J. A. Bailey, *Physiol. Plant Pathol.* 11, 101 (1977).
- [154] G. D. Lyon, C. E. Bayliss, *Physiol. Plant Pathol.* 6, 177 (1975).
- [155] V. J. Higgins, *Physiol. Plant Pathol.* 2, 289 (1972).
- [156] S. G. Pueppke, H. D. VanEtten, *Phytopathology* 64, 1433 (1974).
- [157] D. A. Smith, H. D. VanEtten, D. F. Bateman, *Physiol. Plant Pathol.* 5, 51 (1975).
- [158] N. T. Keen, J. J. Sims, D. C. Erwin, E. Rice, J. E. Partridge, *Phytopathology* 61, 1084 (1971).
- [159] H. D. VanEtten, D. F. Bateman, *Phytopathology* 61, 1363 (1971).
- [160] J. A. Bailey, B. J. Deverall, *Physiol. Plant Pathol.* 1, 435 (1971).
- [161] J. Rahe, J. Kuć, C. Chuang, E. Williams, *Neth. J. Plant Pathol.* 75, 58 (1969).
- [162] N. Sato, K. Kitazawa, K. Tomiyama, *Physiol. Plant Pathol.* 1, 289 (1971).
- [163] N. Sato, K. Tomiyama, *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* 35, 202 (1969).
- [164] J. E. Rahe, *Can. J. Bot.* 51, 2423 (1973).
- [165] R. A. Skipp, B. J. Deverall, *Physiol. Plant Pathol.* 2, 357 (1972).
- [166] J. W. Mansfield, B. J. Deverall, *Ann. Appl. Biol.* 76, 77 (1974).
- [167] J. W. Mansfield, J. A. Hargreaves, F. C. Boyle, *Nature* 252, 316 (1974).
- [168] N. T. Keen, *Science* 187, 74 (1975).
- [169] N. T. Keen, *Physiol. Plant Pathol.* 1, 265 (1971).
- [170] H. H. Flor, *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 275 (1971).
- [171] J. Kuć, *Annu. Rev. Phytopathol.* 10, 207 (1972).
- [172] S. S. Patil, *Annu. Rev. Phytopathol.* 12, 259 (1974).
- [173] G. A. Strobel in [2a], dort S. 135ff.
- [174] G. A. Strobel, *Annu. Rev. Microbiol.* 31, 205 (1977).
- [175] J. M. Daly, *Phytopathology* 62, 392 (1972).
- [176] J. L. Varns, J. Kuć, *Phytopathology* 61, 178 (1971).
- [177] N. T. Keen in R. K. S. Wood, A. Graniti: *Specificity in Plant Diseases*. Plenum, New York 1976, S. 268.
- [178] M. Yoshikawa, K. Yamauchi, H. Masago, *Physiol. Plant Pathol.* 12, 73 (1978).
- [179] D. R. Jones, W. G. Graham, E. W. B. Ward, *Phytopathology* 65, 1274 (1975).
- [180] D. R. Jones, W. G. Graham, E. W. B. Ward, *Phytopathology* 65, 1409 (1975).
- [181] D. R. Jones, C. H. Unwin, E. W. B. Ward, *Phytopathology* 65, 1286 (1975).
- [182] D. R. Jones, C. H. Unwin, E. W. B. Ward, *Phytopathology* 65, 1417 (1975).
- [183] D. R. Jones, W. G. Graham, E. W. B. Ward, *Phytopathology* 64, 1084 (1974).
- [184] N. Amrhein, K. H. Gödeke, *Plant Sci. Lett.* 8, 313 (1977).
- [185] S. Bartnicki-Garcia, *Annu. Rev. Microbiol.* 22, 87 (1968).
- [186] K. Hahlbrock in W. Barz, E. Reinhard, M. H. Zenk: *Plant Tissue Culture and its Biotechnological Application*. Springer, Berlin 1977, S. 95ff.
- [187] N. T. Keen, R. Horsch, *Phytopathology* 62, 439 (1972).
- [188] I. A. M. Cruickshank, D. R. Perrin, *Phytopathol. Z.* 70, 209 (1971).
- [189] N. T. Keen, B. W. Kennedy, *Physiol. Plant Pathol.* 4, 173 (1974).
- [190] J. E. Partridge, N. T. Keen, *Phytopathology* 67, 50 (1977).
- [191] H. C. Hoch, H. D. VanEtten, P. S. Matthews, *persönliche Mitteilung*.