

UEBER DEN ABBAU VON POLYPHENOLEN DURCH PILZE DER GATTUNG *FUSARIUM**

WOLFGANG BARZ, RITA SCHLEPPHORST und JOACHIM LAIMER

Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen der Universität, 44 Münster/Westfalen, Deutschland

(Eingegangen 13 Juni 1975)

Key Word Index—*Fusarium*; fungi; polyphenol degradation; *o*-coumaric acid metabolism; isoflavone catabolism.

Abstract—The ability of 16 *Fusarium* species to degrade polyphenols was investigated. Phenols, benzoic acids, cinnamic acids, flavonoids and isoflavones are efficiently catabolized by all strains investigated. *o*-coumaric acid is transformed into 4-hydroxycoumarin by 7 species. A pronounced capability for methyl ether cleavage is demonstrated by stepwise *o*-demethylation of veratric acid and 5,7,4'-trimethoxyisoflavone. The latter compound is degraded via the sequence: 5,7,4'-trimethoxyisoflavone → 5,4'-dimethoxy-7-hydroxyisoflavone → biochanin A → genistein → orobol → ring fission products.

EINLEITUNG

Pilze der Gattung *Fusarium* sind zum Abbau sehr unterschiedlicher aromatischer und heterozyklischer Verbindungen befähigt, da mit Benzoesäuren [1,2], Flavonoiden [1], Isoflavonoiden [1,3], Lignin [4,5], Nitrophenolen [6], Nitrochlorbenzolen [7], DDT [8] und Steroiden [9,10] ein breites Spektrum verwertbarer Kohlenstoffverbindungen bekannt ist. Diese für wenig Arten beschriebene Vielfalt kataboler Stoffwechselwege zeigt einmal die hohe Anpassungsfähigkeit der Fusarien und ist darüberhinaus in Zusammenhang mit der bekannten phytopathogenen Wirkung von Fusarien interessant. Durch Infektion vermögen Fusarien einerseits eine Induktion und Akkumulation von Phytoalexinen (z.B. 11] und Polyphenolen [z.B. 12] in höheren Pflanzen auszulösen; andererseits aber sollen Sporenbildung und Wachstum durch Polyphenole stark gehemmt werden [13,14,31].

Verschiedene phenolische Pflanzeninhaltsstoffe sind dabei als Phytoalexine [11], bzw. fungistatische Verbindungen für Fusarien (z.B. die Isoflavone Formononetin und Biochanin A für *F. nivale* [13] oder die Soyabohnenisoflavone für *F. oxysporum* [31]) beschrieben worden. Es ist daher angebracht, Fusarien genauer auf ihre Fähigkeit zum Abbau pflanzlicher Polyphenole und die dabei genutzten Stoffwechselwege zu untersuchen.

Wir berichten in dieser Arbeit ueber erste Messungen mit sechzehn, zumeist aus pflanzlicher Umgebung isolierten Stämmen, deren allgemeine Fähigkeit zum Abbau verschiedener Phenolklassen gemessen wurde. Die Auswahl der verwendeten Phenole, Benzoesäuren, Flavonide und Isoflavone geschah mit der Absicht, (1) einige der Phenole zu testen, deren verstärkte Akkumulation in Pflanzen nach Infektion mit Fusarien beobachtet wurde, (2) Aussagen über die Benutzung der wichtigsten unabhängig voneinander einschlagbaren Aromatenabbauwege (Zusammenfassung bei [15]) zu machen und (3) durch ein breites Spektrum von Flavonoiden und

Isoflavonen festzustellen, ob Fusarien bei deren Abbau ähnliche Fähigkeiten wie die bisher vorwiegend untersuchten *Aspergillus*- und *Penicillium*-arten (Zusammenfassung bei [16]) und *Fusarium oxysporum* Schlecht [11] entwickeln.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Untersuchungen über den Abbau von Polyphenolen wurden mit den sechzehn in Tabelle 1 aufgeführten Stämmen durchgeführt. Nach Anzucht in einem Glucose-Casein-Medium bis zum Beginn der stationären Wachstumsphase wurden mehrfach gewaschene Zellen in eine 10^{-4} molare Lösung der aromatischen Verbindungen eingetragen und über insgesamt 24 Stunden unter Schütteln bei 30° die Abnahme der Substrate im Medium photometrisch am jeweiligen längstwelligen Absorptionsmaximum verfolgt. Neben der photometrischen Bestimmung des Umsatzes der Substrate wurden Aetherextrakte der Nährösungen dünnenschichtchromatographisch auf die Bildung von Umwandlungs- bzw. Abbauzwischenprodukten geprüft.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der bisherigen Messungen zusammengefasst. Normalerweise wurden für den Beginn des Abbaus Induktionszeiten zwischen 1 und 6 Stunden beobachtet. Unter Berücksichtigung früherer Ergebnisse mit einem Stamm von *Fusarium oxysporum* Schlecht [1] kann allgemein festgestellt werden, daß Fusarien über eine ausgeprägte Fähigkeit zum Aromaten- und Flavonoidabbau verfügen, da neben auch schwerer abbaubaren Phenolen (z.B. Resorcin, Melitotäure) auch permethylierte Verbindungen (Veratrumsäure, 5,7,4'-Trimethoxyisoflavon) einem vollständigen Abbau unterliegen können.

Die mit teilweise sehr kurzen Induktionszeiten verwerteten *p*-Hydroxybenzoesäure, Salicysäure und Gentisinsäure deuten darauf hin, daß drei der wichtigsten, unabhängig voneinander ablaufenden Abbauwege beschritten werden können, [vergleiche 15,16]. Zukünftige Untersuchungen werden zeigen müssen, ob die Verwertung von 1,2-Diphenolen (Brenzcatechin, Protocatechusäure aus Veratrumsäure oder *p*-Hydroxybenzoesäure)

* Diese Arbeit ist Herrn Prof. Dr. Karl Kratzl, Wien, zum 60. Geburtstag gewidmet.

Tabelle 1. Verzeichnis der verwendeten Pilzstämme

Stamm Nr.	Name	Herkunft*
I	<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	(CBS 180,32)
II	<i>F. merismoides</i> corda	(CBS 186,34)
III	<i>F. oxysporum</i> Schlecht ex Fr. f. <i>medicaginis</i> (Weimer) Snyder und Hansen	(CBS 179,29)
IV	<i>F. javanicum</i> Koord. var. <i>radicicola</i> Wollenw.	(CBS 203,32)
V	<i>F. semitectum</i> Berk. und Rav.	(CBS 63,57)
VI	<i>F. oxysporum</i> Schlecht ex Fr. f. <i>lycopersici</i> (Sacc.) Snyder und Hansen	(CBS 167,30)
VII	<i>F. anguoioides</i> Sherbakoff	(CBS 172,32)
VIII	<i>F. avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	(CBS 386,62)
IX	<i>F. citrifforme</i> Jamalainen	(CBS 253,50)
X	<i>F. oxysporum</i> Schlecht ex Fr. f. <i>Apii</i> (Nelson und Sherbakoff) Snyder und Hansen	(CBS 184,38)
XI	<i>F. lini</i>	(CBS, Schering AG, Berlin)
XII	<i>F. lini</i>	(CBS 713, Schering AG, Berlin)
XIII	<i>Gibberella fujikuroi</i> (SAW) WR	(CBS 186,56)
XIV	<i>G. fujikuroi</i> (SAW) = <i>G. sanbinetti</i>	(CBS 265,54)
XV	<i>G. zae</i> (Schw.) Pesch	(CBS 389,62)
XVI	<i>Fusarium aquaequatum</i>	(Mikrobiologie Münster)

* CBS: Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn/Niederlande.

nach dem *meta*-oder *ortho*- Spaltungstyp verwertet werden kann.

Die verwendeten Fusarien sind ebenfalls in der Lage, 1,3-Dihydroxyaromaten (Resorcin, 2,4-Dihydroxybenzoësäure) gut zu verwerten, die von den meisten Organismen nicht verwertet werden [vergl. 1] und für die noch keine gut ausgearbeiteten Abbauwege bekannt sind [17].

Neben den gut verwertbaren Monomethoxy-Verbindungen wie *p*-Methoxybenzoësäure und Ferulasäure wird auch die von vielen Organismen nicht abbaubare Veratrumsäure (3,4-Dimethoxybenzoësäure [1]) katabo-

lisiert. Hierbei waren allerdings vergleichsweise längere Induktionsperioden erforderlich. Von *Coriolus versicolor* und *Xanthochrous pini* wird Veratrumsäure über Vanillinsäure und Protocatechusäure abgebaut [18]. Der früher untersuchte Stamm von *Fusarium oxysporum* Schlecht [1] konnte zwar Vanillinsäure, nicht aber Veratrumsäure oder Isovanillinsäure verwerten. Es ist weiterhin bekannt, daß die mikrobiellen *O*-Demethylasen eine ausgeprägte Spezifität für die *meta*- oder *para*-Position besitzen [19,20]. Versuche mit allen in Tabelle 2 genannten Stämmen ergaben, daß neben der mit kurzen Induktionszeiten schnell abbaubaren Vanillinsäure auch die Iso-

Tabelle 2. Aromatische Verbindungen, die auf ihren Abbau durch 16 verschiedene Fusarienstämme getestet wurden

Substanz	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI
Brenzcatechin	+	+	++	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Resorcin	v	v	+	...	v	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v	+
p-Hydroxybenzoësäure	++	+	++	-	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
p-Methoxybenzoësäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylsäure	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2,4-Dihydroxybenzoësäure	+	v	++	+	v	+	v	+	+	+	+	+	+	v	+	v
Gentisinsäure	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Veratrumsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vanillinsäure	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Isovanillinsäure	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ferulasäure	++	+	++	+	+	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+
o-Cumarsäure	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Melilotsäure	+	v	+	—	v	+	+	+	+	—	—	—	—	v	v	+
Phloretin	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Resacetophenon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2',4'-Trihydroxychalkon	+	+	+	v	+	+	+	+	v	+	+	+	v	+	+	v
Naringenin	++	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	+	v	+	+	+
2',4',6'-Tetrahydroxychalkon 4'- β -D-glucosid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7,4'-Dihydroxyflavanon	v	+	v	+	v	+	v	v	v	v	+	+	+	+	+	+
Dihydroquercetin	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(\pm)-Catechin	+	v	+	+	+	+	+	+	+	+	v	+	v	+	+	+
Rutin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	+
Morin	v	...	v	v	—	v	—	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Daidzein	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	v	v	+
Biochanin A	v	+	v	+	+	v	v	v	+	+	+	v	+	+	v	+
5,7,4'-Trimethoxyflavon					+	+			+				+	+	+	+

+= Abgebaut.

++= Schnell abgebaut (ohne längere Induktionszeit).

v= Verändert, keine vollständige Abnahme der Extinktion.

—= Kein Abbau oder Umwandlung festgestellt.

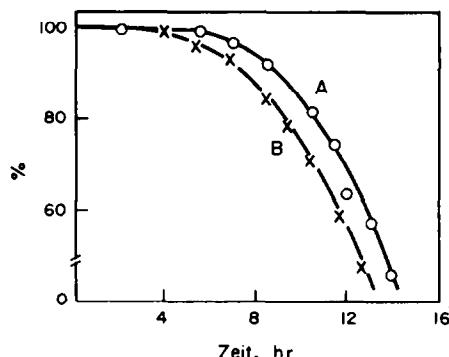


Abb. 1. Geschwindigkeit der $^{14}\text{CO}_2$ -Bildung aus (3-O-Methyl- ^{14}C)-Veratrum (Kurve A) und (4-O-Methyl- ^{14}C)-Veratrum (Kurve B) durch *Fusarium javanicum* var. *radicicola* (Stamm IV, Tabelle 1).

vanillinsäure (wenn auch mit ähnlich langen Induktionszeiten wie die Veratrumsäure) katabolisiert wurde. Zellen vom Stamm XIII wurden durch 12-stündige Behandlung mit Veratrum-, Isovanillin- und Vanillinsäure (10^{-4} M) für die genannten Säuren jeweils voll induziert, mehrfach mit Puffer gewaschen, sodann jeweils portionsweise in Lösungen der 3 genannten Säuren getrennt inkuliert und der Abbau der Säuren wie vorher verfolgt. Aus diesen Ueberkreuzexperimenten ergab sich, daß (1) mit Veratrumsäure die Zellen für den Abbau von Vanillin- und Isovanillinsäure voll induziert werden können, (2) der Vanillinsäureabbau nicht durch Isovanillinsäure ebenso auch nicht umgekehrt voll induziert werden kann, aber (3) der Abbau jeder der 3 Säuren durch vorherige Behandlung der Zellen mit einer der beiden anderen Säuren im Vergleich zum nicht induzierten Zustand beschleunigt werden kann. Diese Ergebnisse scheinen auf positionsspezifische O-Demethylasen bei ingessamt verwandten Abbauwegen für Vanillin- und Isovanillinsäure hinzuweisen. Während der Induktion des Veratrumsäureabbaus wird die 4-O-Methylgruppe deutlich schneller abgespalten und als CO_2 freigesetzt. Diese mit positionsspezifisch markierten Veratrumssäuren erhaltenen Ergebnisse (Abb. 1) sprechen für einen Abbau über Vanillinsäure.

Während *Aspergillus niger* [21], *Fusarium solani* [22] und ein Stamm von *Fusarium oxysporum* Schlecht [1] *o*-Cumarsäure in 4-Hydroxycumarin umwandeln, wurden mit den in dieser Arbeit verwendeten Stämmen bei diesem Substrat divergierende Ergebnisse erhalten. Die Stämme XI, XIII, XIV und XVI bilden innerhalb von 48 Stunden quantitativ 4-Hydroxycumarin (Dünnschichtchromatographie in den Systemen L_1 und L_2). Die Stämme II, IX und X bilden in geringer Menge (in ca 50 Stunden) 4-Hydroxycumarin. Bei allen vorgenannten Stämmen tritt Melilotsäure (DS, L_1 , L_2) als Umwandlungsprodukt von *o*-Cumarsäure nicht auf (vergl. [23]). Bei allen anderen Stämmen wie auch II, IX und X wird *o*-Cumarsäure ebenfalls nicht abgebaut, sondern zu mehreren, bisher noch unbekannten Verbindungen transformiert.

Der bei 15 von 16 Stämmen völlig fehlende Abbau von Resacetophenon und die Transformation (kein Abbau) von Phloretin zeigen, daß die von *Aspergillus niger* bekannte C-Acylhydrolase [24] nicht induziert werden kann. Dies scheint für alle Fusarien zu gelten [vergl. 1]. Andererseits können mit Chalkonen, Flavonoiden, Dihydroflavonolen, Flavonolen, Catechin und Isoflavonen (Daidzein, Biochanin A) die wichtigsten Flavonoidklassen verwertet werden. Hier scheinen die Fusarien den bisher untersuchten Aspergillus- und Penicilliumarten überlegen zu sein [vergl. 1,16]. Bei Dihydroquercetin und Catechin ist zu bemerken, daß es sich um einen vollständigen Abbau und nicht eine Phenolase-abhängige Polymerisation handelte (keine Absorption bei ca 420-450 nm).

Im Gegensatz zu *Aspergillus flavus* [28] wird das 2'-Hydroxyflavonol Morin nicht abgebaut (Tabelle 2), obwohl Fusarien flavonol-abbauende Organismen sind (vergl. Rutin in Tabelle 2 und [1]). Die mangelnde Fähigkeit zum Abbau von 2'-Hydroxyflavonolen ist auch bei Flavonolabbauenden Bakterien beschrieben worden [29].

Da mikrobiologische Abbauwege für Isoflavone bisher nicht bekannt wurden [vergl. 16], haben wir die einleitenden Abbauschritte bei Biochanin A und damit im Zusammenhang die Verwertung von 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan genauer untersucht. Zwei bis sechs Stunden nach Inokulation von Zellen der Stämme I, III, IV, VI und XIV in eine Biochanin A - Lösung (10^{-4} M) kann die Bildung einer dunkel absorbierenden Substanz beobachtet werden (DS, L_3 , L_4), die im weiteren Verlauf der Inkubation zu Gunsten anderer Substanzen wieder abnimmt. Auf Grund einer rot-violetten Reaktion mit Echtblausalz B muß diese Verbindung noch eine Phloroglucinringstruktur (Ring A) besitzen. Isolierung dieser Substanz aus einem größeren Ansatz (Stamm XIV) ergab eine Verbindung, die dünnenschichtchromatographisch (L_4 , L_5 , L_6 , L_7) und nach ihrem Absorptionsspektrum in Methanol sowie nach Zusatz verschiedener diagnostischer Reagenzien [25] vollständig mit dem Isoflavon Genistein (5,7,4'-Trihydroxyisoflavan) übereinstimmte. Permethylierung ergab das bekannte 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan [26] (DS, L_3 , L_6 , L_7). Das Isoflavon Pratensein (4'-Methoxy-5,7,3'-Trihydroxyisoflavan) konnte ausgeschlossen werden. Als Folgeprodukt von Genistein kann das Auftreten einer weiteren Echtblausalz B - positiven Substanz dünnenschichtchromatographisch verfolgt werden, die noch ein Isoflavonabsorptionsspektrum besitzt. Dieses Spektrum und die durch Zusätze bewirkten bathochromen Verschiebungen (besonders eine positive Reaktion mit Borsäure [25]) deuten auf Orobol (5,7,3',4'-Tetrahydroxyisoflavan) hin. Nach Permethylierung und Sublimation im liegenden Rohr [26] wurde das bekannte 5,7,3',4'-Tetramethoxyisoflavan erhalten, das massenspektrometrisch das erwartete Molekülion (M^+ bei m/e 342) und die Fragmente eines Retrodienzerfalls (Ring A m/e 180, Ring B m/e 162) lieferte. Der Abbau von Biochanin A über Genistein und Orobol konnte, wenn auch mit unterschiedlich langen Induktionszeiten, für alle verwendeten Fusariumstämme dünnenschichtchromatographisch bestimmt werden. Zahlreiche weitere aus Genistein, bzw. Orobol entstehende Katabolite zeigen mit Echtblausalz B, bzw. in ihrem Absorptionsspektrum keine Isoflavoneigenschaften mehr, sodaß sie aus Ringspaltungs- und Abbaureaktionen entstanden sein sollten; ihre Aufklärung wird bearbeitet.

Bei Inkubation von Fusarienzellen (Stamm VII, XIV, XVI) mit 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan ließ sich nach längeren Inkubationszeiten dünnenschichtchromatographisch (L_3 , L_4 , L_7) Biochanin A, Genistein, Orobol und die anderen, bisher unbekannten Katabolite des Biochanin A - Abbaus nachweisen. Damit ist gezeigt, daß

die Ausgangsverbindung durch *O*-Demethylierung in der 5- und 7-Position zu Biochanin A demethyliert wurde. Eine zwischen dem 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan und Biochanin A liegende Verbindung wird ohne nennenswerte lag-Phase sofort nach Beginn der Inkubation gebildet. Diese Verbindung fluoresziert unter UV-Licht hellblau, besitzt ein Isoflavonabsorptionsspektrum (λ_{max} 255 nm) in dem eine bathochrome Verschiebung mit Natriumacetat (λ_{max} 246 und 315 nm Hydroxylgruppe an C-7) aber keine Reaktion mit AlCl_3 (MeOH-Gruppe in Position 5) beobachtet werden konnte [vergl. 25]. Nach Permethylierung entsteht wieder das 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan, sodaß es sich um 5,4'Dimethoxy-7-hydroxyisoflavan handelt. Durch Verfolgung der Induktionszeiten und dünnenschichtchromatographische Analyse der jeweils auftretenden Metabolite muß man in der Abbausequenz: 5,7,4'-Trimethoxyisoflavan \rightarrow 5,4'-Dimethoxy-7-hydroxyisoflavan \rightarrow 4-methoxy-5,7-dihydroxyisoflavan (Biochanin A) \rightarrow Genistein \rightarrow Orobol; drei verschiedene *O*-Demethylasen fordern, von denen die erste praktisch ohne lag-Phase aktiv zu sein scheint. Diese *O*-Demethylase ist mit der von Batkai *et al.* bei *Penicillium cyclopium* beschriebenen *O*-Demethylierung in Position 7 des Isoflavongerüstes vergleichbar [27], obwohl ihre Funktion unklar ist, da bei den verwendeten Anzuchtbedingungen eine Induktion wohl nicht eintreten konnte. Chemische und enzymatische Arbeiten zur Aufklärung weiterer Abbausequenzen bei Isoflavonen und anderen Polyphenolen in Fusarien sind in Arbeit. Sie sollen ebenfalls dazu beitragen, die ausgeprägte Potenz von Fusarien zum Aromenabbau zu zeigen, wobei auch solche Verbindungen katabolisiert werden können, die nach Fusarieninfektion in Pflanzen akkumuliert werden (z.B. Ferulasäure) bzw. als fungistatisch (z.B. Biochanin A) beschrieben worden sind.

EXPERIMENTELLES

Haltung und Anzucht der Pilze. Dauerkulturen der Pilze wurden auf einem Czapek-Dox-Agar-Nährboden in Petrischalen bei 4° gehalten und alle zwei Monate auf neues Medium übertragen. Die Anzucht der Pilze für Abbauversuche in einem Glucose-Casein-medium erfolgte nach früheren Angaben [1].

Abbau aromatischer Verbindungen. Abbauversuche im analytischen und präparativen Maßstab erfolgten wie bereits beschrieben [1]. Sämtliche verwendeten Chemikalien entstammten unseren früheren Arbeiten [1,26,29]. (3-O-Methyl-¹⁴C)- und (4-O-Methyl-¹⁴C)-Veratrumsäure entstammten unseren früheren Arbeiten [30], sie wurden in 10⁻⁴ M Lösung mit ca 70000 dpm/50 ml Lösung verwendet. Absorption und Messung von ¹⁴CO₂ erfolgte wie früher beschrieben [30]. Induktionsversuche sind bereits beschrieben worden [1]. Permethylierung von Abbauprodukten (Aceton, K₂CO₃, Methyljodid) und deren Sublimation im liegenden Rohr (170°, 0,1 Torr) erfolgte wie beschrieben [26].

Chromatographiesysteme. Für die dünnenschichtchromatographischen Trennungen (DS auf Kieselgel) wurden folgende Laufmittelsysteme eingesetzt: L₁, C₆H₆-Dioxan-HOAc (90:25:4); L₂, C₆H₆-EtOAc-HCO₂H (18:1:1); L₃, C₆H₆-EtOAc-MeOH-petrol (6:4:1:3); L₄, Toluol-HCO₂Et-HCO₂H (5:4:1); L₅, Et₂O-petrol (7:3); L₆, C₆H₆-EtOH (23:2); L₇, CHCl₃-i-PrOH (10:1).

Photometrische Messungen. Die Bestimmung des Substitutionsmuster der Phenole erfolgte in methanolischer Lösung nach den Angaben von Mabry *et al.* [25].

Dank—Wir danken Prof. Dr. G. Rücker, Münster für die Aufnahme der Massenspektren, dem Fonds der chemischen Industrie für finanzielle Unterstuetzung und Prof. Dr. H. J. Rehm, Münster, für die Ueberlassung einiger Fusariumstämme.

LITERATUR

1. Barz, W. (1971) *Arch. Microbiol.* **78**, 341.
2. Bilton, R. F. und Cain, R. B. (1968) *Biochem. J.* **108**, 829.
3. Dewit-Elshove, A. (1968) *Neth. J. Plant Path.* **74**, 44.
4. Fischer, G. (1953) *Arch. Microbiol.* **18**, 397.
5. Gulyas, F. (1969) *Agrochem. Talajtan* **18**, 45.
6. Madhosingh, C. (1961) *Can. J. Microbiol.* **7**, 553.
7. Bielaszczyk, E., Czerwinska, E., Janko, Z., Kotarski, A., Kowalik, R., Kwiatkowski, M. und Zoledziowska, J. (1967) *Acta Microbiol. Pol.* **16**, 243.
8. Eugst, R., Kujawa, M. und Müller, G. (1967) *Nahrung* **11**, 401.
9. Rao, P. G. (1963) *Indian J. Pharm.* **25**, 131.
10. Belic, J., Pertot, E., Socic, H. und Suhadolc, A. (1971) *J. Steroid Biochem.* **2**, 105.
11. Kuc, J. (1972) *Ann. Rev. Phytopathol.* **10**, 291.
12. Van den Briel, W. (1967) *Neth. J. Plant Path.* **73**, 126.
13. Virtanen, A. J. und Hietala, P. K. (1958) *Acta Chem. Scand.* **12**, 79.
14. Lewis, J. A. und Papavizas, G. C. (1967) *Can. J. Microbiol.* **13**, 1655.
15. Evans, W. C. (1969) in *Fermentation Advances* (D. Perlman, ed.) p. 643 Academic Press, New York.
16. Barz, W. und Hösel, W. (1975) in *The Flavonoids* (Harborne, J., Mabry, T. J. und Mabry, H. eds.) Chap. 17. Chapman & Hall.
17. Ohta, Y. und Ribbons, D. W. (1970) *FEBS Letters* **11**, 189.
18. Trojanowski, J., Leonowicz, A. und Wojtas, M. (1967) *Acta Microbiol. Pol.* **15**, 215.
19. Cartwright, N. J. und Buswell, J. A. (1967) *Biochem. J.* **105**, 767.
20. Fukuzumi, T., Takatuka, H. und Minami, K. (1969) *Arch. Biochem. Biophys.* **129**, 396.
21. Bocks, S. M. (1967) *Phytochemistry* **6**, 127.
22. Shieh, H. S. und Blackwood, A. C. (1967) *Can. J. Biochem.* **45**, 2045.
23. Levy, C. C. und Frost, P. (1966) *J. Biol. Chem.* **241**, 997.
24. Minamikawa, T., Jayasankar, N. P., Bohm, B. A., Taylor, J. E. P. und Towers, G. H. N. (1970) *Biochem. J.* **116**, 889.
25. Mabry, T. J., Markham, K. R. und Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, Berlin.
26. Barz, W. und Roth-Lauterbach, B. (1969) *Z. Naturforsch.* **24b**, 638.
27. Batkai, L., Nogradi, M., Farkas, L., Feuer, L. und Horvath, J. (1973) *Arch. Mikrobiol.* **90**, 165.
28. Westlake, D. W. S., Roxburgh, J. M. und Talbot, G. (1961) *Nature (London)* **189**, 510.
29. Barz, W. (1970) *Phytochemistry* **9**, 1745.
30. Harms, H., Haider, K., Berlin, J., Kiss, P. und Barz, W. (1972) *Planta (Berlin)* **105**, 342.
31. Naim, M., Gesteter, B., Zilkah, S., Birk, Y. und Bondi, A. (1974) *J. Agr. Food Chem.* **22**, 806.