

4. Diskussion

4.1 Phosphate als Auslöser induzierter Krankheitsresistenz

Ziel dieser Arbeit war es, die Mechanismen der durch Phosphate hervorgerufenen systemisch aktivierten Resistenz (SAR) an verschiedenen Kulturpflanzenarten zu charakterisieren. Basis für diese weiterführenden biochemischen Untersuchungen war zunächst die Evaluierung bzw. Etablierung geeigneter biologischer Testsysteme in Form von Wirt-Parasit-Beziehungen, bei denen sich durch Blattapplikation von Phosphatverbindungen eine eindeutige und reproduzierbare Auslösung von SAR erzielen ließ. Weitere Experimente lieferten zusätzliche Informationen über charakteristische Merkmalsausprägungen nach der Phosphatbehandlung. Über diese deskriptiven Untersuchungen der Phosphateffekte bezüglich der Resistenzausprägungen hinaus wurden biochemische Studien an verschiedenen Testsystemen durchgeführt. In die Arbeiten wurden auch spezifische Eigenschaften verschiedener Pflanzen (z. B. transgene Tabakpflanzen mit dem nahG-Gen) einbezogen. Abschließend wurden verschiedene biotische und chemische Induktoren hinsichtlich der Auslösung von SAR sowie von biochemischen Reaktionen miteinander verglichen.

4.1.1 Biologische Wirkung von Phosphaten gegenüber Krankheiten bei Mais und Ackerbohne

Experimente mit Mais

Die beiden Wirt-Pathogen-Interaktionen Mais/*Puccinia sorghi* sowie Mais/*Exserohilum turcicum* erwiesen sich entgegen den Ergebnissen von Reuveni *et al.* (1994a und b; 1996a) als ungeeignete Testsysteme zur Untersuchung der Mechanismen Phosphat-induzierter Resistenz, da durch die Behandlungen mit K_2HPO_4 bzw. weiteren Phosphaten keine ausreichenden Effekte im Sinne einer SAR ausgelöst werden konnten. In der überwiegenden Anzahl der durchgeführten Experimente ließ sich auch nach umfangreichen Modifikationen der experimentellen Bedingungen (Pflanzensorte, Phosphatform, Phosphatkonzentration, Inokulumdichte, Induktionsintervall etc.) keine lokale bzw. systemische Resistenzausprägung nachweisen. In parallel zu den Induktionsexperimenten durchgeführten biochemischen Untersuchungen ließen sich auch keine Unterschiede in den Proteingehalten sowie in den Aktivitäten abwehrassoziierter Enzyme feststellen, was für Pflanzen mit induzierter Resistenz charakteristisch ist. Auch die elektrophoretischen Analysen (SDS-PAGE, native PAGE, Western Blots) zeigten ebenfalls keine Unterschiede in den Proteinmustern zwischen Phosphat-behandelten Pflanzen und den Kontrollen.

4. DISKUSSION

Experimente mit Ackerbohnen

Walters und Murray (1992) berichteten über Resistenzinduktion bei Ackerbohnen durch Behandlung mit Phosphaten gegenüber Ackerbohnenrost. Daher wurden parallel zu den Experimenten mit Mais auch die Auswirkungen von Phosphatapplikationen im System Ackerbohne/*Uromyces viciaefabae* überprüft. Wie bei Mais, war auch bei der Ackerbohne die Wirkungssicherheit und -stärke von Phosphatbehandlungen insgesamt unbefriedigend. Trotz Variationen zahlreicher experimenteller Einflussfaktoren bei der Durchführung einer Vielzahl von Versuchen konnten keine eindeutigen und reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden, die auf eine sichere Resistenzauslösung durch Phosphatverbindungen hindeuteten. In parallel zu den Resistenzprüfungen durchgeführten biochemischen Untersuchungen (elektrophoretischen Analysen) ergaben sich weder Unterschiede in den Proteingehalten und den Proteinmustern noch in den Aktivitäten abwehrassoziierter Enzyme.

Stabile befallsreduzierende Wirkungen zeigten sich allerdings bei Behandlungen mit dem synthetischen Induktor BTH (Abb. 7) und sie belegen damit die prinzipielle Induzierbarkeit von Ackerbohnen. Des Weiteren konnte in chemisch induzierten Ackerbohnenpflanzen ein Protein im Apoplasten nachgewiesen werden, welches die Ausbildung der Differenzierungsstrukturen des Rostpilzes nach dem Eindringen in den Interzellularraum hemmt (Rauscher *et al.*, 1999). Dieser Inhibitor konnte zwar nach BTH-Induktion nicht aber nach Phosphatbehandlung im Apoplasten von Ackerbohnenpflanzen nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt). Dieser Befund korreliert mit den negativen Ergebnissen der Resistenzinduktion durch Phosphatverbindungen in Ackerbohnen.

Die unbefriedigenden Resultate der Resistenzaktivierung bei Mais und Ackerbohnen durch Phosphatbehandlungen führten zu dem Schluss, dass bei beiden Kulturpflanzenarten der Einsatz von Phosphaten zur Resistenzinduktion als unzureichend bewertet werden muss. Die in der Literatur an Mais und Ackerbohnen beschriebenen Effekte (Walters und Murray, 1992; Reuveni *et al.*, 1994a und b; 1996a) ließen sich somit in keinem Fall bestätigen. Daher kann die beschriebene SAR-auslösende Wirkung von Phosphaten in diesen Testsystemen aufgrund der nicht vorhandenen Reproduzierbarkeit generell in Frage gestellt werden. Insbesondere Untersuchungen zu Wirkungsmechanismen und involvierten Signalprozessen erfordern stabile Induktionssysteme, so dass die Arbeiten mit Mais und Ackerbohnen anhand der vorliegenden Daten eingestellt wurden und auf andere Kulturpflanzenarten wie Gurke und Tabak ausgewichen wurde.

4.1.2 Biologische Wirkung von Phosphaten gegenüber Krankheiten bei Gurken

4.1.2.1 Direkte Wirkung von Phosphaten auf Pathogene und Induktion lokaler Krankheitsresistenz

Direkte Wirkung von Phosphaten auf Pathogene

Phosphate wurden als SAR-auslösende Agenzien (Gottstein und Kuc, 1989) sowie als Verbindungen mit antifungalen Eigenschaften in der Literatur beschrieben (Reuveni *et al.*, 1995). Generell würde bei Untersuchungen zur Wirkungsweise der induzierten Resistenz eine zusätzlich vorliegende antifungale Wirkung des Induktors die Interpretation der Ergebnisse erschweren. Zudem haben stark differierende Konzentrationsangaben, bei denen eine antifungale Wirkung von Phosphaten beobachtet wurde, eine nähere Charakterisierung der direkten Wirkung im Rahmen dieser Arbeit erfordert.

Die Prüfung der direkten Wirkung gegenüber *C. lagenarium in-vitro* ergab, dass, trotz der hohen Konzentrationen bis zu 100 mM, die z. T. über den in Experimenten an Pflanzen angewandten Dosierungen lagen, nur geringe Einflüsse auf den Pilz zu beobachten waren. Eine Hemmung des Myzelwachstums sowie der Sporenkeimung von *C. lagenarium* wurde auf Nährmedium bei Zugabe bis zu 75 mM K_2HPO_4 nicht beobachtet. Bei Konzentrationen von mehr als 75 mM K_2HPO_4 war tendenziell eine leichte Hemmung des Myzelwachstums und der Sporenkeimung von *C. lagenarium* zu beobachten. Zusätzlich war hinsichtlich des Wuchsverhaltens der Kulturen eine vermehrte Melaninbildung ab 75 mM K_2HPO_4 feststellbar, die als Anzeichen von Stress zu bewerten ist. Dieser hatte jedoch keinen Einfluss auf die Intensität der Sporulation der Kulturen. Insgesamt betrachtet waren die in dieser Arbeit zur Auslösung von SAR eingesetzten Phosphatkonzentrationen nur in geringem Umfang antifungal wirksam, so dass bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Effekt weitgehend zu vernachlässigen war.

Dass Phosphate direkte antifungale Wirkungen gegenüber Pilzkrankheiten haben, ist in zahlreichen Untersuchungen belegt worden. So konnten Pasini *et al.* (1997) mit KH_2PO_4 (0,5 - 1 %) Effekte gegen *Sphaerotheca pannosa*, dem Echten Mehltau an Rosen, erzielen und auch bei Äpfeln eignete sich KH_2PO_4 (1 %, MKP) zur Bekämpfung des Echten Mehltaus (Reuveni *et al.*, 1994c und 1998a). In Untersuchungen zum Echten Mehltau an *Cucurbitaceen* fanden Garibaldi *et al.* (1995) und Reuveni *et al.* (1996b), dass Behandlungen mit K_2HPO_4 (1 %) an Zucchini sowie KH_2PO_4 und K_2HPO_4 (1 %) an Gurken hinsichtlich der Befallsminderungen an die Wirkung von Fungiziden heranreichten. Reuveni *et al.* (1998b) haben nach kurativer Applikation von Kalium-Phosphaten im System Mango/*Oidium magniferae* Deformationen der Hyphen und Schrumpfen der Konidien sowie der Konidienträger beobachtet. In Feldversuchen an weiteren Kulturen wie Nektarinen, Mango und Wein konnten Reuveni und Reuveni (1995) eine direkte bzw. kurative

4. DISKUSSION

Wirkung von K_2HPO_4 gegenüber *Sphaerotheca pannosa* feststellen. Die Wirkung der Phosphat-Applikationen war zwar geringer als die von Mehltau-Fungiziden, doch konnte durch alternierenden Einsatz von Phosphaten und Fungiziden die Aufwandmenge der Fungizide bis zu 50 % verringert werden. Somit scheint zumindest hinsichtlich des praktischen Einsatzes von Phosphaten die Einsparung chemischer Pflanzenschutzmittel durch den Einsatz von direkt wirkenden Phosphaten möglich zu sein.

Interessanterweise wurden direkte antifungale Wirkungen von Phosphaten ausschließlich gegenüber Mehltaupilzen beschrieben. Über Untersuchungen zur direkten Wirkung von Phosphaten gegenüber pilzlichen Krankheitserregern aus weiteren Ordnungen liegen keine Ergebnisse vor. Ähnliche Experimente wurden mit Carbonaten und filmbildenden Polymeren gegen Echten Mehltau an Gurken von Ziv und Zitter (1992) durchgeführt, die direkte antifungale Effekte von Bicarbonaten bei Konzentrationen von 1 % feststellten.

Als mögliche Ursachen der antifungalen Wirkung von Phosphaten kommen die relativ hohen Salzkonzentrationen sowie die physikalische Struktur der Rückstände in Betracht. Bei Applikation von Salzkonzentrationen von mehr als 0,5 % ist generell eine direkte Wirkung aufgrund des hohen osmotischen Potentials wahrscheinlich. Zudem werden durch das Antrocknen der Spritzbeläge auf der Pflanzenoberfläche Depots mit sehr hohen Salzkonzentrationen gebildet, die bei Kontakt mit wässrigen Sporensuspensionen, wie sie bei der Inokulation i. d. R. verwendet werden, osmotisch wirken können. Ebenfalls ist zu berücksichtigen, dass die überwiegende Zahl der applizierten Salze Kristalle ausbildet, welche aufgrund ihrer scharfkantigen Struktur sicherlich auch Einflüsse auf auskeimende Sporen haben könnten. Eine direkte Wirkung ist somit nur auf den behandelten Blättern zu erwarten, so dass hinsichtlich der Ausprägung von SAR aufgrund dieser möglichen Wirkungsmechanismen keine Einflüsse vorliegen dürften.

Aufgrund der vorliegenden, wenn auch geringen direkten antifungalen Wirkung, insbesondere gegenüber Echten Mehltaupilzen, erfüllen Phosphate nicht in vollem Umfang die postulierten Kriterien für chemische Resistenzinduktoren, die nach Kessmann *et al.* (1994a) keine direkte Wirkung auf Pathogene haben dürfen. Zumal aber aus vorliegenden Ergebnissen hervorgeht, dass Phosphate bereits bei Konzentrationen Resistenz auslösen können, bei denen noch keine direkten Effekte festzustellen sind, erfüllen sie zumindest teilweise für die lokal aktivierte Resistenz und in besonderem Maße für die systemisch aktivierte Resistenz dieses Kriterium.

Lokal aktivierte Krankheitsresistenz

Obwohl das Ziel dieser Arbeit die Untersuchung der systemischen Resistenz auslösung durch Phosphatverbindungen war, wurde zusätzlich in einigen Experimenten die Auslösung von lokaler Resistenz (LAR) näher charakterisiert, zumal unter Praxisbedingungen das Vorliegen beider For-

men sehr wahrscheinlich ist und die LAR einen wesentlichen Beitrag zum Schutz der Pflanzen gegenüber Pathogenen leisten kann. So beschreiben Reuveni *et al.* (1997) lokale Resistenzausprägung nach Phosphatbehandlungen im System Gurke/*S. fuliginea* mit Wirkungsgraden von über 90 %.

Experimentell ist die Ausprägung von lokal aktivierter Resistenz schwieriger als systemisch aktivierte Resistenz zu erfassen, da am Applikationsort des Induktors sowohl die Effekte der Resistenzausprägung als auch mögliche Effekte des Induktors auf das Pathogen und auf andere physiologische Veränderungen im Pflanzengewebe vorliegen können. So ist die durch Phosphatbehandlungen ausgelöste lokal aktivierte Resistenz eng mit der Entwicklung von Chlorosen und Nekrosen auf den behandelten Blättern verbunden (3.2.4), wodurch die potentiell infizierbare Blattfläche vermindert wird.

Durch Variation der experimentellen Bedingungen (Applikation des Induktors auf die Blattunterseite und anschließende Inokulation der Blattoberseite bzw. die Applikation des Induktors auf eine Blatthälfte und anschließende Inokulation der gegenüberliegenden Blatthälfte) konnte das Vorliegen von LAR in Phosphat-vorbehandeltem Gewebe gegenüber *C. lagenarium* gesichert nachgewiesen werden. Diese war bei Applikation von 25 - 50 mM K_2HPO_4 bereits deutlich ausgeprägt, einem Konzentrationsbereich, bei welchem direkte antifungale Wirkungen auf *C. lagenarium* nicht auftreten. Somit kann davon ausgegangen werden, dass tatsächlich eine lokale Aktivierung der pflanzlichen Abwehrmechanismen stattgefunden hat, die nicht durch antifungale Effekte gegen das Pathogen überdeckt wurde.

4.1.2.2 Systemisch aktivierte Resistenz gegenüber Pilzkrankheiten

Wirkungsspektrum und Wirkungsgrad

Durch lokale Blattapplikation verschiedener Phosphate konnte eine systemische Ausprägung von Krankheitsresistenz bei Gurken gegenüber *C. lagenarium*, *S. fuliginea* und *P. cubensis* ausgelöst werden. Die höchsten Wirkungsgrade von über 80 % wurden gegenüber *C. lagenarium* erzielt, während diese gegenüber den Mehltaueregern im Bereich von 20 - 70 % lagen. Vergleichbare Wirkungsgrade sind auch von Mucharromah und Kuc (1991) gegenüber *C. lagenarium* und *Cladosporium cucumerinum* (>80%) sowie *S. fuliginea* (ca. 50 %) beschrieben worden. Hinsichtlich der Wirkungsgrade von Phosphaten gegenüber *C. lagenarium* und *S. fuliginea* stimmen die Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit soweit mit denen der Arbeitsgruppe von J. Kuc überein, so dass die bereits beschriebene Auslösung von SAR in diesem System bestätigt werden konnte. Die überwiegende Anzahl der Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde deshalb an Gurke, einer klassischen Modellpflanze der SAR-Forschung, durchgeführt.

4. DISKUSSION

Die Wirkung von Phosphaten als Auslöser von SAR im System Gurke/*S. fuliginea* wird in der Literatur sehr unterschiedlich bewertet. Die Arbeitsgruppe von Reuveni hat nach Applikation von K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $Na_4P_2O_5$ sowie Na_3PO_4 (100 mM) SAR auf den beiden höher inserierten Blättern Wirkungsgrade bis zu 84 % feststellen können (Reuveni *et al.*, 1993a und 1995). Dem gegenüber konnten Descalzo *et al.* (1990) mit Phosphaten sowie Oxalat keine SAR im System Gurken/*S. fuliginea* auslösen. Diese Arbeitsgruppe setzte jedoch sehr niedrige Phosphatkonzentrationen (5 mM K_2HPO_4 und K_3PO_4) ein, bei denen auch innerhalb der eigenen Versuche keine oder nur sehr schwache Effekte erzielt wurden.

Zur Wirkung von Phosphaten gegenüber dem falschen Mehltau *P. cubensis* lagen bisher keine Ergebnisse vor, so dass im Rahmen dieser Arbeit erstmalig eine SAR-Auslösung gegenüber diesem Pathogen beschrieben wird. Die Wirkungsgrade waren stets deutlich geringer als gegenüber *C. lagenarium*, doch ist die relativ unspezifische Wirkung von Phosphaten gegenüber verschiedenen Krankheitserregern als ein starker Hinweis dafür zu werten, dass es sich bei den beobachteten Effekten um SAR handelt. Im Gegensatz dazu sind Verbindungen wie z. B. der Extrakt aus dem Sachalin-Staudenknöterich (Handelsprodukt Milsana®) ausschließlich in einer Pflanzenart gegenüber einem oder nur wenigen Pathogenen wirksam (*Cucurbitaceen*/Echter Mehltau). Diese sehr eingeschränkt wirksamen Verbindungen stehen damit in direktem Widerspruch zur Definition von Resistenzinduktoren, für die eine breite und unspezifische Wirkung postuliert wird.

Von Mucharromah und Kuc (1991) wurde auch die Wirkung von Phosphaten gegenüber Viren wie TNV und dem Gurkenmosaikvirus (CMV) beschrieben, die im Vergleich zu Pilzkrankheiten mit deutlich geringeren Wirkungsgraden einherging. Dies ist ein weiterer Hinweis für die unspezifische und SAR-typische Wirkung von Phosphaten, die auch im Rahmen dieser Arbeit im System Tabak/TMV bestätigt werden konnte.

Innerhalb der Induktionsexperimente traten Schwankungen hinsichtlich der Wirkungsgrade auf. Generell ist die Ausprägung von SAR stark von den Umweltbedingungen wie dem Einfluss von Temperaturverläufen bzw. Tagesgängen abhängig (Falkhof *et al.*, 1988), so dass diese relativ hohe Schwankungsbreite der Wirkungsgrade vor dem Hintergrund dieser Faktoren zu betrachten ist, zumal auch unter weitgehend standardisierten Gewächshausbedingungen jahreszeitliche Schwankungen nicht auszuschließen sind.

Es ist anhand der vorliegenden Ergebnisse davon auszugehen, dass durch die Blattapplikation von Phosphaten drei unterschiedliche Wirkungen hervorgerufen werden. Neben den direkten Effekten durch die Phosphatsalzlösung mit antifungalen Eigenschaften, wird sowohl lokale als auch systemische Resistenz gegenüber Pathogenen ausgelöst, so dass diese Kombination insbesondere

unter Praxisbedingungen additiv wirksam ist und wesentlich zu einer gesteigerten Resistenz der Kulturpflanze beitragen kann. Für die weiteren Untersuchungen stand jedoch die systemisch aktivierte Resistenz im Vordergrund des Interesses.

Einfluss der Phosphatform, der Phosphatkonzentration sowie des pH-Werts

Als wirksame SAR-auslösende Phosphatverbindungen erwiesen sich in erster Linie die di- und tribasischen Natrium- und Kalium-Phosphate wie K_2HPO_4 , K_3PO_4 bzw. die entsprechenden Natriumsalze (Abb. 20, Tab. 6). Übereinstimmende Ergebnisse finden sich auch bei Gottstein und Kuc (1989). Diese Autoren stellten darüber hinaus fest, dass für Resistenz-induzierende Phosphate ein pH von über 7 notwendig war. Auch in Reis waren gegenüber *Pyricularia oryzae* nur basische Phosphate als Induktoren wirksam (Manandhar *et al.*, 1998).

In allen durchgeführten Experimenten innerhalb dieser Arbeit erwies sich ein hoher pH-Wert im basischen Bereich als Grundvoraussetzung für die Wirksamkeit von Resistenz-induzierenden Phosphaten. Wurden pH-Änderungen herbeigeführt, so verloren die wirksamen Verbindungen nach Absenkung des pH-Wertes in den sauren Bereich ihre Wirkung bzw. unwirksame Phosphatverbindungen erwiesen sich nach Alkalinisierung auf $pH > 9$ als wirksam. Dieser reversible Effekt lässt sich vereinfacht mit dem Massenwirkungsgesetz erklären, dem Phosphate bei der Protolyse in Wasser unterliegen (3.2.2). In Versuchen von Reuveni wurde das saure KH_2PO_4 (pH 4,5) mit KOH versetzt und die Behandlung mit der nun alkalischen Lösung induzierte SAR (Reuveni *et al.*, 1993a; 1994a; 1995). Das in dieser Arbeit sich als unwirksam erwiesene KH_2PO_4 wird in Lösung nach KOH-Zugabe jedoch zu K_2HPO_4 umgewandelt und ist damit in der Lage, als gelöstes K_2HPO_4 SAR zu induzieren. Eine Bewertung der Wirksamkeit von KH_2PO_4 als Induktor kann somit anhand dieses experimentellen Ansatzes nicht erfolgen. Auch Gottstein und Kuc (1989) konnten zeigen, dass KH_2PO_4 keine bzw. nur eine geringe Wirkung hat, ebenso wie die sauren Phosphatverbindungen wie NaH_2PO_4 und $NH_4H_2PO_4$ bzw. die neutralen Substanzen wie $(NH_4)_2HPO_4$ und $Ca_3(PO_4)_2$.

Dass jedoch allein ein hoher pH-Wert von > 9 nicht ausreichend ist, zeigen die Experimente mit KOH, das nach Applikation keine SAR hervorrief. Somit scheint die Kombination bestimmter Ionen (bes. $H_2PO_4^-$ bzw. HPO_4^{2-}) mit einem hohen pH-Wert für die Wirksamkeit erforderlich zu sein.

Zwischen der applizierten Phosphatkonzentration und der Ausprägung der SAR konnte eine positive Korrelation ermittelt werden. Während bereits bei 10 - 25 mM K_2HPO_4 erste Effekte zu beobachten waren, wurde bei Einsatz von Konzentrationen im Bereich von 50 - 100 mM nahezu Befallsfreiheit erreicht. Vergleichbare Ergebnisse beschreiben auch Gottstein und Kuc (1989), die bei Konzentrationen von 10 mM K_3PO_4 ca. 50 % Befallsminderung erzielten, diese jedoch nach Steigerung der Induktorkonzentration (> 50 mM) auf über 90 % erhöhen konnten. Diese Arbeits-

4. DISKUSSION

gruppe applizierte im Allgemeinen höhere Phosphatkonzentrationen (50 - 100 mM), um hohe Wirkungsgrade zu erreichen.

Die Wirkungsgrade der Phosphat-induzierten Resistenz waren mit denen nach biotischer Resistenzinduktion (TNV) in der überwiegenden Zahl der Experimente vergleichbar. Dagegen führte die Applikation von BTH zu den höchsten Wirkungsgraden aller getesteten Verbindungen, so dass die Pflanzen in der überwiegenden Zahl der Experimente befallsfrei waren. Diese Befunde korrespondieren mit den Ergebnissen von Oostendorp *et al.* (1996), die ebenfalls 100 % Befallsreduktion gegenüber *C. lagenarium* beobachteten. Eine absolute Befallsfreiheit war in keinem der durchgeführten Experimente nach Induktion mit Phosphat sowie biotischen Induktoren zu erreichen. Für zahlreiche Induktoren ist jedoch typisch, dass absolute Befallsfreiheit nicht erreicht wird (Schönbeck *et al.*, 1993; Steiner und Schönbeck, 1995).

Systemische Ausprägung und Dauerhaftigkeit der induzierten Resistenz

In den Experimenten mit Gurken wurde durch Behandlung der Kotyledonen bzw. der unteren Blätter ein umfassender Schutz gegenüber Pilzkrankheiten in allen höher inserierten Blättern induziert. Die SAR-Ausprägung erstreckte sich somit über die gesamte Pflanze und war interessanterweise auch in den jüngsten Geweben festzustellen. Diese jungen, gerade erst angelegten Blätter wurden bereits während ihrer Entstehung systemisch induziert, was auf das Vorhandensein eines systemischen Signals hindeutet. Die Notwendigkeit dieses bisher aber noch nicht identifizierten Signals wurde von mehreren Autoren bereits postuliert (Ross, 1966; Kuc, 1982; Dean und Kuc, 1986b).

Obwohl keine gesonderten Experimente zur Untersuchung der Dauerhaftigkeit der SAR durchgeführt wurden, ließ sich ein Schutz über einen Zeitraum von 14 Tagen nach der Induktorapplikation beobachten. Reuveni *et al.* (1995) konnten eine Wirkung der Phosphat-induzierten SAR bis zu 25 Tage nach der Induktorbehandlung feststellen und beobachteten darüber hinaus auch kurative Effekte.

Induktionsintervall

Im Rahmen zahlreicher Experimente konnte gezeigt werden, dass für die Auslösung von Phosphat-induzierter Resistenz ein Induktionsintervall von mindestens drei Tagen notwendig ist. Ein typisches Ergebnis ist in Abb. 18 dargestellt. Auch in Bezug auf dieses Charakteristikum erfüllen Phosphate ein wesentliches Kriterium, das von Steiner und Schönbeck (1997) für einen SAR-Induktor gefordert wird. Demgegenüber schreiben Reuveni *et al.* (1994a und b; 1996b), dass die Behandlung von Mais bzw. Gurken mit Phosphaten 2 - 4 h vor der Inokulation zur SAR-Ausprägung führt. Zumal die Ergebnisse dieser Arbeitsgruppe an Mais nicht reproduziert werden konnten, lassen sich zu diesem System keine näheren Aussagen machen. Bei Gurken wurden diese extrem kurzen Induktionsintervalle von 2 - 6 h überprüft, und es konnte weder gegenüber *S.*

fuliginea (Abb. 13) noch gegenüber *C. lagenarium* (nicht dargestellt) SAR ausgelöst werden. Bei Einhaltung von längeren Induktionsintervallen von mehreren Tagen wurde dagegen erfolgreich SAR induziert, so dass die Ergebnisse mit extrem kurzen Induktionsintervallen fraglich erscheinen.

Verweildauer des Induktorblattes

Da für die Ausprägung der SAR ein systemischer Signaltransfer postuliert wird, wurde zu festgelegten Terminen nach Behandlung das Induktorblatt (Quelle des Signals) entfernt. Dabei wurde festgestellt, dass mindestens eine Verweildauer des behandelten Blattes von 12 h für die Signalübertragung notwendig ist. Verblieb das Induktorblatt länger als drei Tage an der Pflanze, war eine maximale SAR-Ausprägung zu beobachten. Zusammengefasst lässt sich demnach folgern, dass ein Signal nach der Applikation im behandelten Blatt gebildet und systemisch in unbehandeltes Gewebe transloziert wird. Dean und Kuc (1986a) konnten übereinstimmende Ergebnisse nach biotischer Induktion bei Gurken feststellen.

4.2 Mechanismen der Phosphat-induzierten Resistenz

Bei den Resistenzprüfungen an Gurkenpflanzen war auffällig, dass eine erfolgreiche Induktion von SAR durch Behandlungen mit Phosphaten stets mit phänotypischen Veränderungen in Form von auftretenden Nekrosen auf den behandelten Blattgeweben verbunden war. Diese Reaktionen begannen zunächst mit dem Auftreten von Chlorosen, die sich innerhalb weniger Tage zu Nekrosen entwickelten. Es wurde vermutet, dass eine Korrelation zwischen diesen phytotoxischen Erscheinungen und der Ausprägung von SAR vorliegt, so dass weitere Untersuchungen zu diesen Reaktionen auf biochemischer Ebene durchgeführt wurden. Da zum Vergleich der Wirkungsgrade auch biotische Induktoren eingesetzt wurden, die ebenfalls nekrotische Reaktionen auf den Induktorblättern auslösten, verstärkte sich die Vermutung, dass korrespondierende Reaktionen im Hinblick auf beide Induktionsmechanismen vorliegen könnten. Anhand dieser Beobachtungen wurden als zentrale Arbeitshypothese folgende Untersuchungen konzipiert: Es galt somit zunächst zu klären, ob die Wirkung von Phosphaten als chemische SAR-Induktoren auf ihrer Nekroseauslösenden Eigenschaft beruht. Ferner wurde geprüft, inwieweit die zu Grunde liegenden biochemischen Reaktionen mit den Prozessen vergleichbar sind, welche durch biotische bzw. synthetische Induktoren der SAR ausgelöst werden. In den vergleichenden Studien wurden hierbei primär biochemische Methoden angewandt. Die Untersuchungen zum Auftreten von Nekrosen bzw. Zelltodsymptomen und von Lipidperoxidationsprozessen waren auf die behandelten Blätter der Pflanzen beschränkt, da vermutet werden konnte, dass die in den Induktorblättern stattfindenden Reaktionen zur Generierung des postulierten Signals beitragen. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass diese Reaktionen nicht in den unbehandelten, höher inserierten Blättern auftraten. Weitere mögliche Reaktionen, die mit der Auslösung von SAR im Zusammenhang stehen können,

4. DISKUSSION

wie z. B. die Akkumulation von Salizylsäure und die Steigerung von Enzymaktivitäten, wurden in behandelten und unbehandelten Pflanzengewebe untersucht.

4.2.1 Nekrotisierung und Zelltod

Die Applikation von K_2HPO_4 führte bereits bei Konzentrationen von 5 mM zum Auftreten zunächst chlorotischer und anschließend nekrotischer Läsionen auf den behandelten Gurkenblättern. Diese Symptome traten nach Anwendung höherer Konzentrationen im Bereich von 50 - 100 mM K_2HPO_4 verstärkt auf (Abb. 24). Auch andere Phosphate wie K_3PO_4 sowie di- und tribasische Natriumphosphate zeigten diese Wirkung.

Anhand histochemischer Färbemethoden mit Evansblau sowie Trypanblau konnte eindeutig das Auftreten von Zelltod in diesen nekrotischen Bereichen nachgewiesen werden. Sowohl makroskopisch als auch histochemisch war das Auftreten von Zelltodsymptomen ab 24 h nach der Phosphatbehandlung deutlich nachweisbar und setzte sich über mehrere Tage fort. Dass diese phänotypische Merkmalsausprägung eine zentrale Rolle bei der Auslösung von SAR spielen könnte, wurde bereits von Gottstein und Kuc (1989) und Mucharromah und Kuc (1991) vermutet, die nach Phosphatbehandlungen bei Gurken nekrotische Läsionen beobachteten und diese chlorotische Tüpfelung als „stippling“ beschrieben. Diese Autoren beobachteten diese Reaktionen bereits 48 h nach der Applikation von 50 mM K_2HPO_4 . Interessanterweise war die Intensität der Nekrotisierung bei K_2HPO_4 stärker als bei K_3PO_4 ausgeprägt, obwohl in den Experimenten dieser Arbeit das Gegenteil zu beobachten war. Auch in Kartoffeln, bei denen nach Phosphatapplikation SAR gegenüber *Phytophthora infestans* nachgewiesen werden konnte, waren nekrotische Läsionen auf den behandelten Blättern beobachtet worden (Strömberg und Brishammar, 1991). Weiterführende Untersuchungen zu den zugrunde liegenden biochemischen Prozessen wurden von diesen Arbeitsgruppen jedoch nicht unternommen, so dass die vorliegende Arbeit die erste Studie darstellt, in welcher die Phosphat-induzierten Reaktionen auf zellulärer Ebene näher untersucht und mit Reaktionen verglichen wurden, welche nach biotischer Induktion auftreten.

Aus den vorliegenden Ergebnissen lässt sich ableiten, dass nur solche Behandlungen SAR auslösten, welche zu vorhergehenden lokalen Nekrotisierungen des Gewebes führten. Umgekehrt löst jedoch nicht jede Nekrosebildung eine SAR aus, wie anhand der Behandlung mit Trockeneis gezeigt werden konnte (3.2.7). Somit war es auf der Basis dieses Systems möglich, ursächliche Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Nekrosen nach der Behandlung mit abiotischen Agenzien und der Fähigkeit, SAR auszulösen, nachzuweisen. Von besonderer Bedeutung erscheint hierbei die Geschwindigkeit der Bildung von Nekrosen bzw. der Auslösung von Zelltod zu sein. Auch Kuc (1987) erkannte, dass die Ausprägung von SAR von einer graduellen Entwicklung

metabolischer Veränderungen abhängt und einen länger anhaltenden Stresszustand benötigt. Die notwendige Dauer dieses Stresszustands betrug in Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen ca. drei Tage und entspricht somit dem geforderten Induktionsintervall, d. h. der notwendigen Zeitspanne zwischen Induktorbehandlung und Ausprägung von SAR. Es kann angenommen werden, dass während dieses Intervalls die ablaufenden biochemischen Veränderungen, ausgehend von der Entstehung von Primärläsionen, zur Induktion von Resistenz führen. Der Befund, dass Trockeneis bei Kontakt mit dem Blattgewebe sehr schnell (nach 1 - 2 h) zu Zelltodsymptomen auf den behandelten Blättern führt aber keine SAR auslöst, zeigt, dass ein längeres Intervall von mehreren Stunden bis Tagen zur Auslösung von SAR erforderlich ist.

Im System Gurke/*Colletotrichum lagenarium* konnte im Rahmen dieser Arbeit eindeutig eine positive Korrelation zwischen der eingesetzten Phosphatkonzentration, der Zahl von Nekrosen und der Ausprägung von SAR nachgewiesen werden (Abb. 25). Obwohl die Arbeitsgruppe von J. Kuc auch tendenziell eine Beziehung zwischen Phosphatkonzentration und SAR-Ausprägung feststellen konnte (Mucharromah und Kuc, 1991), wurde erstmalig in dieser Arbeit die Intensität der Nekrotisierung quantifiziert und mit der SAR-Ausprägung verglichen.

Bei Ackerbohnen und Mais wurden nach der Phosphatbehandlung i. d. R. keine Primärnekrosen beobachtet, so dass aufgrund der fehlenden Nekrosen auch keine Resistenzinduktion zu erwarten war. Eine mögliche Ursache für das Ausbleiben der Nekrotisierung und der SAR-Induktion könnte die Oberflächenbeschaffenheit dieser Pflanzenarten sein. Durch die relativ glatte Blattoberfläche beider Pflanzenarten, die geringe Anzahl von Trichomen sowie die dickere Wachsschicht (besonders bei Ackerbohnen) im Vergleich zu Gurkenpflanzen waren die behandelten Pflanzen bereits nach ca. 1 h vollkommen abgetrocknet, während sich auf den behandelten Gurkenblättern noch nach 12 h zahlreiche kleine Tropfen befanden. Es zeigte sich auch, dass eine längere Benetzungsdauer sich bei Gurken positiv auf die Intensität der Nekrotisierung und die SAR-Ausprägung auswirkte. Eine länger anhaltende Benetzung der Blattoberflächen von Mais und Ackerbohnen war unter den gegebenen experimentellen Bedingungen nicht zu erreichen. Die längere Benetzung bei Gurken und auch bei Tabak kann somit als wichtige Voraussetzung für die Wirksamkeit der Phosphate angesehen werden. Möglicherweise hätte durch Zusatz von Additiven die Tropfenbildung bzw. -stabilität bei Mais und Ackerbohnen gesteigert werden können, so dass auch nekrotische Reaktionen und SAR-Ausbildung zu erwarten wären. Bei den Versuchen wurden jedoch die in der Literatur beschriebenen experimentellen Bedingungen eingehalten, so dass wässrige Phosphatlösungen mit oder ohne Zusatz des Netzmittels Tween® eingesetzt wurden. Ferner haben Walters und Murray (1992) sowie auch Reuveni *et al.* (1994a und b) explizit auf das Ausbleiben phytotoxischer Reaktionen und die Ausprägung hoher SAR-Niveaus hingewiesen. Diese Beobachtungen schließen aber prinzipiell die Mitwirkung von Zelltodprozessen nicht aus, da auch mikroskopisch kleine Nekrosen auftreten können, die sich nicht in makroskopisch sichtbaren

4. DISKUSSION

Primärläsionen äußern müssen. Hierbei sei auf die sog. Micro-HR hingewiesen (Alvarez *et al.*, 1998), bei denen nur wenige Zellen HR- bzw. Zelltodsymptome zeigten, so dass sie makroskopisch nicht in Erscheinung traten. Somit besteht zwar ein möglicher Erklärungsansatz für die Wirkung von Phosphaten im Rahmen der Experimente dieser Arbeitsgruppen, doch konnten diese Mikroläsionen nicht in dieser Arbeit nachgewiesen werden. Ferner war die biologische Wirkung in den Experimenten mit Mais und Ackerbohnen stets zu schwach, so dass eine maßgebliche Beteiligung dieser Prozesse unwahrscheinlich ist.

Phosphate können aufgrund ihrer Eigenschaft hinsichtlich der Induktion von Primärläsionen zu der Gruppe chemischer Agenzien gezählt werden, die über die Bildung nekrotischer Läsionen SAR auslösen (Gottstein und Kuc, 1989; Mucharromah und Kuc, 1991; Fought und Kuc, 1996; Sticher *et al.*, 1997). Bezüglich des Mechanismus liegt ein Vergleich mit biotischen Induktoren nahe. Es ist bekannt, dass eine Vielzahl Nekrose-auslösender Pathogene zur SAR-Induktion in unbehandeltem Gewebe befähigt ist (Ross, 1961a und b; Bergstrom *et al.*, 1982; Tuzun *et al.*, 1986; Kuc, 1993). Das gemeinsame Merkmal biotischer Induktoren beruht auf der Fähigkeit, Lokalläsionen hervorzurufen. Diese kontrollierte Entstehung von nekrotischen Läsionen nach einer Primärinfektion ist als ein wichtiges Kriterium für die erfolgreiche biotische Resistenzinduktion anzusehen (Dean und Kuc, 1986a; Lawton *et al.*, 1996). Sowohl von biotischen Induktoren als auch von abiotischen Agenzien, wie z. B. Phosphaten, werden während der Nekrotisierung Reaktionen induziert, die als zentrale Mechanismen innerhalb des Signalwegs der SAR-Auslösung anzusehen sind. Beide Induktoren scheinen somit übereinstimmende primäre Prozesse bezüglich der Resistenzmechanismen zu aktivieren.

Im Hinblick auf das erforderliche Induktionsintervall wurde in Analogie zu den Versuchen mit Trockeneis von Descalzo *et al.* (1990) versucht, SAR durch Vorinkulation mit dem nekrotrophen Pilz *Dydimella bryoniae* im System Gurke/*C. lagenarium* zu induzieren. Es konnte jedoch keine Resistenz nachgewiesen werden, so dass auch bezüglich der Vorinokulation mit diesem nekrotisierenden Pathogen davon auszugehen ist, dass aufgrund der sehr schnellen Abtötung des Wirtsgewebes durch *D. bryoniae* die Zeit zur Generierung und Translokation des notwendigen Signals fehlte.

Weitere Chemikalien wurden in dieser Arbeit auf ihre Fähigkeit zur Bildung von lokalen Nekrosen und systemischer Resistenz untersucht (Tab. 10). Neben den wirksamen Phosphaten zeigten auch Schwermetallsalze, organische Verbindungen sowie herbizide Wirkstoffe übereinstimmende Resultate hinsichtlich Nekrotisierung und SAR-Auslösung (Fought und Kuc, 1996; Siegrist *et al.* 2000). Auch in der Literatur wurde eine Vielzahl von Chemikalien beschrieben, die dieses Verhalten zeigen, so dass vermutet werden kann, dass es sich hierbei um einen unspezifischen Prozess handelt, der durch stetige niedrige Stressintensität langsam über die Entstehung von Nekro-

sen/Zelltodsymptomen zu SAR führt. So zeigten Strobel und Kuc (1995), dass prooxidativ wirkende Chemikalien wie Paraquat und Schwermetallsalze wie CuCl_2 auch Nekrosen und SAR hervorrufen.

Dobrava *et al.* (1988) identifizierten Oxalat als aktiven Bestandteil von Rhabarberextrakt, das ebenfalls SAR auszulösen vermag. Auch hierbei war es zu einer Bildung lokal auftretender chlorotischer Läsionen gekommen. Coquoz *et al.* (1995) konnten an Kartoffeln nach Behandlungen mit Arachidonsäure als Induktor gegen *P. infestans* lokale Nekrosen und SAR beobachten. Sie vermuteten ebenfalls, dass die Nekrosen an der Ausprägung der SAR durch diese Verbindung beteiligt sind. Die Nekrotisierung scheint somit eine allgemeine Erscheinung im Rahmen der SAR-Induktion durch Chemikalien zu sein. Auch mit HgCl_2 (Sziraki *et al.*, 1980) sowie 3-Aminobuttersäure (Siegrist *et al.*, 2000) wurden vergleichbare Effekte beobachtet.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass das Präparat Milsana[®], welches keine Nekrosen bzw. Phytotoxizitätssymptome hervorruft (Kowalewski und Schmitt, 1993), als SAR-Induktor bezeichnet wird. Diese Eigenschaft kann jedoch in Frage gestellt werden, da Milsana[®] nur sehr spezifisch gegen Echten Mehltau an Cucurbitaceen wirkt und auch keine eindeutig nachgewiesene systemische Wirkung zeigt. Vermutlich beruht die Wirkung von Milsana[®] sowohl auf direkten Effekten gegenüber Echten Mehltapilzen als auch auf der Bildung fungitoxischer Phenole im pflanzlichen Gewebe (Daayf *et al.*, 1995 und 1997).

4. DISKUSSION

4.2.2 Reaktive Sauerstoffspezies

Ein oxidativer burst trat an Gurken- sowie auch an Tabakblättern bereits wenige Stunden nach der Applikation von Phosphatlösungen auf, wobei die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Superoxidanionen (O_2^-) nachgewiesen wurde. Bereits wenige Stunden (ca. 6 h) nach der Behandlung setzte die Bildung von O_2^- ein, welches bis zu 48 h nach der Behandlung nachweisbar war. Nach ca. 12 - 24 h wurde die Entstehung von H_2O_2 festgestellt. H_2O_2 wurde jedoch über einen längeren Zeitraum als O_2^- gebildet (bis zu 72 h nach der Behandlung) und erreichte die maximale Intensität deutlich nach der von O_2^- . In Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen waren auch Schwankungen in den Zeiten ihrer Bildung zu beobachten. Dieses hing insbesondere davon ab, ob die Experimente in Klimakammern oder unter Gewächshausbedingungen durchgeführt wurden. Die Bildung von O_2^- ging jedoch stets der von H_2O_2 voraus.

Die von zahlreichen Forschergruppen geäußerte Vermutung, dass ROS als Signalmoleküle wirksam sein können (Apostol *et al.*, 1989; Chen *et al.*, 1993), wird auch in den vorliegenden Experimenten durch den zeitlichen Ablauf bzw. die Dauer der Reaktionen nach der Induktorbehandlung bestätigt. So werden ROS kontinuierlich über mehrere Tage nach der Behandlung gebildet und dürften somit wesentlich zu dem latenten Stresszustand beitragen, der von zahlreichen Autoren als Ursache für die SAR-Auslösung angesehen wird (Kuc, 1987).

Eine direkte Wirkung von ROS auf Pathogene in unbehandeltem Gewebe (Peng und Kuc, 1992) kann in diesem Zusammenhang ausgeschlossen werden, da in systemischen Geweben keine ROS nachgewiesen werden konnten und die geringe Halbwertszeit der Radikale einen Transport in unbehandelte Gewebe unwahrscheinlich erscheinen lässt. Ferner erfolgten die Challenge-Inokulationen i. d. R. mehrere Tage nach der Behandlung, als keine Produktion von ROS mehr nachzuweisen war.

Es ist auch davon auszugehen, dass die entstehenden Nekrosen zum einen Ausgangspunkte der Bildung von ROS sind, und zum anderen, die entstehenden ROS an der Abtötung der Zellen beteiligt sind. Ein Nachweis hierzu konnte aufgrund der unterschiedlichen Entstehungszeiten sowie der destruktiven Nachweismethoden nicht exakt geführt werden, doch zeigte sich stets, dass ROS besonders stark im Randbereich der Läsionen gebildet wurden. Auch die zeitliche Parallelität von ROS-Generierung und Entstehung von Nekrosen deutet auf einen ursächlichen Zusammenhang dieser Reaktionen hin.

Aufgrund der sehr kurzen Lebensdauer konnte die Bildung von weiteren Radikalen wie z. B. von Singulett-Sauerstoff oder des Hydroxylradikals nicht untersucht werden. Für das Auftreten von die-

sen äußerst reaktiven Radikalen wie Singulett-Sauerstoff gibt es aber einige Literaturhinweise und Anzeichen für die Beteiligung an der Auslösung von Zelltod sowie der Signalübertragung im Rahmen von Abwehrreaktionen (Knox und Dodge, 1985; Mehdy, 1994).

Ein allgemein akzeptierter Nachweis des zellulären Mechanismus der Bildung von ROS ist bisher noch nicht geführt worden. Es wird aber aufgrund zahlreicher Experimente angenommen, dass ROS an der Initiierung der HR beteiligt sind und der oxidative burst maßgeblich zur Lipidperoxidation, zu Membranschädigungen und zum Elektrolytverlust beiträgt, die am Zelltod entscheidend beteiligt sind (Keppler und Novacky, 1986; Thompson *et al.*, 1987; Sutherland, 1991; Ullrich *et al.*, 1993; Levine *et al.*, 1994).

Ein weiterer Hinweis für das Vorliegen eines Phosphat-induzierten oxidativen burst ist die Beobachtung, dass ROS im Apoplasten nach Infiltration von ROS-spezifischen Farbstoffen nachweisbar waren, zumal die Abgabe von ROS in die extrazelluläre Matrix als eine charakterische Reaktion dieses Phänomens beschrieben wird (Mehdy, 1994; Wojtaszek, 1997).

Die Hypothese, dass die HR eine Form des programmierten Zelltods ist (Greenberg, 1997), konnte in dieser Arbeit nicht geprüft werden. Es gibt aber in der Literatur zahlreiche Hinweise für deren Gültigkeit. So wurde die Beteiligung von H₂O₂ an der Auslösung von HR und der Sensibilisierung von Nachbarzellen von Levine *et al.* (1994) demonstriert. Im System Gerste/*Blumeria graminis* konnten Hückelhoven *et al.* (1999) ebenfalls einen Zusammenhang zwischen ROS-Bildung, dem Auftreten von HR sowie Abwehrreaktionen nachweisen. Des Weiteren ist es in diesem Zusammenhang bisher immer noch nicht gelungen, anhand von eindeutigen Markern für Zelltod die Frage zu klären, ob HR eine Form des programmierten Zelltods darstellt (Greenberg *et al.*, 1994; Heath, 1998a und 1999). Als Marker bzw. Nachweismethoden kommen hierbei Markierungstechniken wie das „in-situ labelling“ fragmentierter DNS in Frage sowie der Nachweis von freigesetztem Cytochrom c und die Beteiligung von Caspasen (Del Pozo und Lam, 1998).

Während bei Gurken und Tabak die Bildung von ROS durch Phosphate initiiert wurde, ist das Fehlen von Nekrosen und SAR bei Ackerbohnen und Mais zudem als ein Hinweis dafür zu werten, dass es in diesen Systemen zu keinem oxidativen burst kam. Um einen gesicherten Nachweis für den essentiellen Zusammenhang von oxidativem burst und Zelltod (als Voraussetzung für SAR) zu führen, bedarf es weiterführender Experimente mit Radikalfängern bzw. Hemmstoffen, welche im Rahmen dieser Arbeit aufgrund zeitlicher Gründe nicht durchgeführt werden konnten.

Die vielfach beschriebene Pathogen-induzierte ROS-Bildung (Levine *et al.*, 1994; Doke *et al.*, 1996; Low und Merida, 1996) ist auch durch Phosphate in mehreren Experimenten beobachtet worden. In eigenen Versuchen wurde sowohl die Generierung von O₂⁻ als auch nachfolgend von

4. DISKUSSION

H₂O₂ nach biotischer Induktion mit TNV als auch nach abiotischer Induktion durch Phosphate in dem behandelten Gewebe nachgewiesen. Interessant war hierbei, dass durch beide Induktionsmodi sehr übereinstimmende zeitliche Parallelen hinsichtlich der ROS-Bildung sowie der Intensitäten der Resistenzausprägung auftraten, so dass sich ein weiterer Anhaltspunkt für denselben bzw. sehr ähnlichen Wirkungsmechanismus ergibt. Hierbei scheint ein kausaler Zusammenhang zwischen dem oxidativen Burst und dem Auftreten von HR vorzuliegen, der bereits von zahlreichen Autoren beschrieben wurde (Doke, 1983; Vera-Estrella *et al.* 1992; Levine *et al.*, 1994; Mehdy, 1994; Low und Merida, 1996; Lamb und Dixon, 1997).

Siegrist *et al.* (2000) konnten ebenfalls die Bildung von ROS nach Applikation von 3-Aminobuttersäure in einem vergleichbaren Zeitrahmen beobachten, so dass hier eine weitere Verbindung vorzuliegen scheint, die über die unspezifische Bildung von Nekrosen zur SAR führt. Auch ROS-Bildner wie der Farbstoff Bengalrot führten nach Blattapplikation zu den typischen Reaktionen wie der Auslösung von Zelltod, der Akkumulation von Salizylsäure und systemischer Resistenz (Enyedi, 1999).

Die Applikation des synthetischen Induktors BTH hatte keine Einflüsse auf die Entstehung von Nekrosen sowie ROS, obwohl auch diese Verbindung bei Überdosierung zu Phytotoxizitätssymptomen mit Nekrosebildung führen kann (Cohen, 1994; Dudler, 1997). Dieses ist als ein Hinweis dafür zu werten, dass der Signalweg von BTH sich von dem der biotischen Induktoren bzw. von Phosphaten unterscheidet und nicht Signalkomponenten wie Zelltod oder Salizylsäure benötigt.

Hervorzuheben ist zudem, dass die Färbemethoden nach Thordal-Christensen *et al.* (1997) und Schraudner *et al.* (1998) sich als besonders geeignet zum Nachweis von ROS *in-vivo* erwiesen haben. Mit Hilfe dieser einfach zu handhabenden semiquantitativen Nachweismethoden war es möglich, umfangreiche Zeitreihenexperimente mit verschiedenen Testsubstanzen bzw. Induktoren durchzuführen. Zu berücksichtigen bleibt hierbei jedoch, dass sämtliche Reaktionen in diesem Zusammenhang lichtabhängig sind und dieser Einfluss bei der Interpretation der Experimente beachtet werden muss.

4.2.3 Lipidperoxidation

Als eine weitere, mit Zelltodprozessen bei Pflanzen assoziierte Reaktion ist die Lipidperoxidation als Folge der Zerstörung der Membranintegrität zu nennen. Lipidperoxidation wird durch das Enzym Lipoxygenase eingeleitet, welches den Einbau von molekularem Sauerstoff in ungesättigte Fettsäuren katalysiert (Siedow, 1991), bzw. durch freie Radikale hervorgerufen (Dhindsa *et al.*, 1981; Elstner, 1982; Gutteridge und Halliwell, 1990).

Bereits 24 h nach der Phosphatbehandlung konnte gesteigerte Lipidperoxidation im behandelten Gewebe nachgewiesen werden (Abb. 37). Im weiteren Zeitverlauf über mehrere Tage stieg der Gehalt an sog. 'thiobarbituric acid related substances' (TBARS) weiter an. Interessant ist hierbei, dass gesteigerte Lipidperoxidation zeitgleich mit den ersten nekrotischen Läsionen auftrat und ausschließlich im behandelten Gewebe nachzuweisen war.

Obwohl in den durchgeführten Experimenten nicht direkt die LOX-Aktivitäten bestimmt wurden, sondern die später daraus resultierenden Metaboliten, kann von Aktivitätssteigerungen dieses Enzyms ausgegangen werden. Auch Avdiushko *et al.* (1993a) konnten dies in Gurkenblättern nach Phosphatbehandlung bzw. Inokulation mit Nekrose-auslösenden Pathogenen nachweisen. Es bleibt aber festzuhalten, dass gesteigerte Lipidperoxidation auch in diesem System als Reaktion auf die Phosphatbehandlung nachzuweisen und eine Beteiligung an den Signalprozessen wahrscheinlich ist. Schwierigkeiten mit der Interpretation ergeben sich durch die Nachweismethode, da der Nachweis über TBARS relativ ungenau ist und der Schwellenwert, d. h. die notwendige physiologisch wirksame Mindestkonzentration an Peroxidationsmetaboliten nicht bekannt ist.

Steigerungen der Lipidperoxidation wurden auch nach biotischer Induktion und Zelltodauslösung durch bestimmte Chemikalien beschrieben (Avdiushko *et al.*, 1993a und b; Anderson *et al.*, 1998; Siegrist *et al.*, 2000). Ihr Auftreten wurde insbesondere im Rahmen der durch Bakterien hervorgerufenen HR beschrieben (Keppler und Novacky, 1986; Adam *et al.*, 1989; Buonauro und Servili, 1999). Die Auslösung von HR durch Bakterien verläuft jedoch im Allgemeinen deutlich schneller (wenige Stunden) als bei Inokulation mit Pilzen bzw. Behandlung mit chemischen Agenzien (mehrere Stunden bis Tage), so dass sich diese Beobachtungen nicht mit dem vorliegenden Testsystem vergleichen lassen. Bei der Induktion von Tabak mit TMV wurden signifikante TBARS-Gehalte erst 48 h nach Inokulation festgestellt (Anderson *et al.*, 1998), d. h. zeitgleich mit dem Auftreten der ersten makroskopisch sichtbaren Läsionen. Auch nach Phosphatbehandlungen wurde gesteigerte Lipidperoxidation erst nach 24 h festgestellt, d. h. zu einem Zeitpunkt, als die Akkumulation von Salizylsäure und die Generierung von ROS bereits stattgefunden haben.

4. DISKUSSION

Inwieweit die Lipidperoxidation zur Auslösung von SAR beiträgt, konnte nicht exakt geklärt werden, da als Ursachen für gesteigerte Lipidperoxidation nach Phosphatbehandlungen gesteigerte LOX-Aktivität, die Bildung freier Radikale sowie die Akkumulation von SA in Frage kommen. Die Komplexität dieser verschiedenen Reaktionen macht eine ursächliche Zuordnung generell schwierig, da zu vermuten ist, dass mehrere Prozesse an der Auslösung der SAR beteiligt sind und nicht ein monokausaler Zusammenhang besteht.

4.3 Salizylsäure

4.3.1 Akkumulation von Salizylsäure nach Behandlung mit Phosphaten

Es konnte anhand zahlreicher Experimente (3.2.6) gezeigt werden, dass die Applikation von basischen K- und Na-Phosphaten wie K_2HPO_4 , K_3PO_4 bzw. Na_3PO_4 zu einem massiven und schnell eintretenden Anstieg der Salizylsäuregehalte im Vorfeld der Ausprägung von SAR führt. Hierbei wurde die Akkumulation von Salizylsäure sowohl lokal, d. h. im behandelten Gewebe, als auch systemisch, in den höher inserierten, unbehandelten Blättern nachgewiesen. Im Rahmen dieser Arbeit ist somit erstmals der Nachweis einer SA-Akkumulation in Gurkenpflanzen nach Resistenzinduktion mit Phosphatverbindungen gelungen.

Die Kinetik der SA-Gehalte nach Applikation von Phosphaten lässt sich in Blättern, die LAR und SAR aufweisen, wie folgt zusammenfassen: Die lokale SA-Akkumulation setzte bereits ca. 24 h nach der Phosphatbehandlung ein und stieg über drei Tage sehr stark an. Das Maximum wurde 48 - 72 h nach Behandlung erreicht, wobei innerhalb der Experimente auch Schwankungen zu beobachten waren. Festzuhalten ist jedoch, dass in Phosphat-behandelten Gurkenblättern, die auch deutliche nekrotische Läsionen zeigten, stets über eine Zeitspanne von 24 - 72 h nach Applikation gesteigerte SA-Gehalte nachzuweisen waren. Diese waren im Vergleich zu den Kontrollen stets um ein Mehrfaches und gelegentlich bis zum 100fachen erhöht. Hierbei verlief die Kinetik ähnlich, wie sie auch bei zahlreichen anderen Systemen beschrieben wurde. Zunächst wurde sehr stark freie SA (FSA) akkumuliert und anschließend (i. d. R. 24 h später) waren sehr deutliche Steigerungen der Gehalte an gebundener SA (SAG) festzustellen. Maximale Gehalte wurden ca. drei Tage nach der Behandlung erreicht. Danach nahmen die SA-Gehalte über einen Zeitraum bis zu neun Tagen nach der Behandlung ab.

Die systemische SA-Akkumulation setzte zeitverzögert, d. h. ca. 48 h nach der Behandlung ein und unterlag einer vergleichbaren Kinetik, wie sie bei der lokalen SA-Akkumulation nachzuweisen war. Zunächst stiegen die Gehalte an freier SA deutlich an, und anschließend erhöhten sich die der gebundenen SA. Dieser Verlauf der SA-Akkumulation konnte in mehreren Zeitreihenexperi-

menten beobachtet werden. Auch in diesen Versuchen betrug die Steigerung in den Geweben mit LAR- oder SAR-Expression stets ein Mehrfaches der Gehalte in den entsprechenden Kontrollblättern. Die absoluten SA-Mengen in Blättern mit LAR lagen stets um ein Mehrfaches über denen in Blättern mit SAR.

Die erzielten Befunde deuten darauf hin, dass die zunächst frei vorliegende SA, welche bei Tabak bereits in geringen Konzentrationen von $> 0,1$ mM phytotoxisch sein kann (Lee *et al.*, 1995), rasch in die physiologisch inaktive, gebundene Form (SAG) überführt wird, die sich zeitverzögert anreichert. Die gebundene SA dient wahrscheinlich der Regulation des endogenen SA-Levels und wird als eine Speicherform der SA angesehen, aus der bei Bedarf wieder freie SA gebildet werden kann (Klessig und Malamy, 1994). Hinweise dafür, dass die gebundene SA, die in den Vakuolen gespeichert wird und wieder in die aktive freie SA überführt werden kann, finden sich in Experimenten an biotisch induzierten Gurken, in denen markierte SA-Vorstufen eingesetzt wurden (Mölders *et al.*, 1996).

In dieser Arbeit wurden freie sowie gebundene SA als Hauptfraktion der SA analytisch erfasst. Ferner ist eine exakte Bilanzierung der SA nicht möglich, da noch weitere SA-Derivate vorliegen können (Lee *et al.*, 1995), die analytisch bisher nicht untersucht wurden und die möglicherweise an der Signalkette beteiligt sind. So waren z. B. bei Tabak nach Applikation von radioaktiv markierter SA 20 % der markierten Menge weder in der FSA- noch in der GSA-Fraktion nachzuweisen (Malamy *et al.*, 1992). In diesem Zusammenhang ist das volatile Methylsalizylat (MeSA) zu nennen, das aufgrund der sehr aufwendigen Analytik nicht untersucht werden konnte. Es ist jedoch davon auszugehen, dass es auch in dem hier bearbeiteten System eine bedeutende Rolle spielt, zumal z. B. an Tabak gezeigt werden konnte, dass hohe Mengen an MeSA in die Atmosphäre abgegeben werden und in nicht behandeltem Gewebe SAR auslösen können. Diese Verbindung wird somit als ein weiterer Hauptmetabolit von SA angesehen, welcher an Signalprozessen beteiligt ist (Lee *et al.*, 1995; Seskar *et al.*, 1997; Shulaev *et al.*, 1997).

Die ermittelten SA-Gehalte variierten innerhalb der vorliegenden Experimente zum Teil erheblich. Als zentrale Ursachen können neben der Verwendung verschiedener Gurkensorten auch die variierende Ausprägung von Primärnekrosen nach den jeweiligen Induktorbehandlungen angesehen werden. Zudem konnte nur ein Teil der Experimente in Klimakammern unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt werden, so dass auch die unterschiedlichen Umweltbedingungen die SA-Akkumulation und damit auch die Resistenzausprägung beeinflusst haben durften. Bei Tabak wurde der Einfluss der Temperatur auf die SA-Akkumulation eindrucksvoll in sog. 'temperature-shift'-Experimenten nachgewiesen (Malamy *et al.*, 1992). Es konnte hierbei gezeigt werden, dass nach TMV Infektion als Induktorbehandlung bei höheren Temperaturen von 28 °C bzw. 32 °C und mehr keine Nekrotisierung durch das Primärinokulum sowie auch keine SA-Akkumulation und SAR

4. DISKUSSION

auftraten. Möglicherweise besteht auch ein direkter Zusammenhang hinsichtlich der Entstehung von ROS wie im vorherigen Abschnitt diskutiert. Unterhalb dieser Temperaturgrenze von 28 °C reagierten TMV-inokulierte Tabakpflanzen wie erwartet mit der Bildung von Nekrosen, der Akkumulation von SA und der Ausprägung eines hohen Grades an SAR gegenüber Sekundärinfektionen (Yalpani *et al.*, 1991).

4.3.2 Vergleich der Effekte von Phosphat und von biotischen sowie abiotischen/chemischen Induktoren auf die Akkumulation von Salizylsäure

Vergleich mit biotischen Induktoren

Bei zahlreichen Pflanzenarten führt die Pathogeninokulation zur SA-Akkumulation und SAR-Auslösung (Malamy *et al.*, 1990; Metraux *et al.*, 1990; Rasmussen *et al.*, 1991; Yalpani *et al.*, 1991; Meuwly und Metraux, 1993; Meuwly *et al.*, 1994; Mölders *et al.*, 1994). Insbesondere bei Gurken hat die Arbeitsgruppe von J. - P. Metraux (Universität Fribourg, Schweiz) zahlreiche Untersuchungen zur Biochemie und zu den Signalwegen der SA-Akkumulation nach biotischer Induktion durchgeführt. Mittels Markierungsexperimenten charakterisierten sie den SA-Syntheseweg in infizierten Gurkenpflanzen und fanden nach biotischer Induktion mit TNV bzw. *C. lagenarium* im Phloemsaft erhöhte SA-Gehalte, welche bereits vor der SAR-Ausprägung auftraten. Außerdem konnte eine schnell einsetzende Metabolisierung sowie Verlagerung der freien SA in unbehandelte Pflanzenteile nachgewiesen werden (Metraux *et al.*, 1990; Meuwly *et al.*, 1995; Mölders *et al.*, 1996).

Insgesamt zeigen die mit Phosphaten und dem biotischen Induktor TNV durchgeführten vergleichenden Experimente an Gurken (Abb. 40 und 41) zahlreiche Parallelen. Hinsichtlich der frühen Reaktionen konnten folgende Beobachtungen gemacht werden: Beide Induktorbehandlungen verursachten bereits 1 - 2 Tage nach Phosphatapplikation bzw. TNV-Inokulation Nekrosen auf den behandelten Blättern. In diesem Zeitraum war eine gesteigerte Bildung von ROS nachweisbar. Begleitet wurden diese Reaktionen von sehr starken Anstiegen der SA-Gehalte, zunächst lokal, anschließend auch systemisch. Es wurden nach beiden Induktorbehandlungen z. T. ähnlich hohe SA-Gehalte in Blattgeweben mit LAR- und SAR-Ausprägung festgestellt. Zudem traten auch vergleichbare Wirkungsgrade der SAR gegenüber verschiedenen Krankheiten auf und es konnte zunächst die SA-Akkumulation und anschließend die SAR-Ausprägung nachgewiesen werden. Nach Etablierung der SAR blieben die SA-Gehalte über mehrere Tage nach der Induktion durch Phosphatbehandlung oder TNV-Inokulation auf einem erhöhtem Niveau im Vergleich zu den Werten in den Kontrollgeweben.

Vergleich mit abiotischen/chemischen Induktoren

Während die Akkumulation von SA nach Induktion mit biotischen Induktoren in einer Vielzahl von Arbeiten nachgewiesen wurde, ist es erstaunlich, dass für abiotische bzw. synthetische Induktoren mit Ausnahme von BTH sowie INA bisher kaum Untersuchungen zur SA-Akkumulation vorliegen. Lediglich Coquoz *et al.* (1995) und Malamy *et al.* (1996) konnten für einige wenige chemische Induktoren SA-Akkumulation nachweisen. Diese wurde jedoch nicht mit der Fähigkeit zur Auslösung von Zelltodsymptomen korreliert. Erst kürzlich erschienene Arbeiten beleuchten diese Aspekte genauer (Siegrist *et al.*, 2000). Diese Korrelation wurde für Phosphate sowie für einige weitere abiotische Induktoren erstmals in dieser Arbeit nachgewiesen. Es ergibt sich somit die zwingende Notwendigkeit Untersuchungen zur SA-Akkumulation bei den als Induktoren diskutierten Substanzen regelmäßig durchzuführen, da hierdurch wertvolle Aufschlüsse über deren Induktionsmechanismus gewonnen werden können. Die im Rahmen dieser Arbeit getesteten abiotischen Agenzien (Tab. 11) zeigten hinsichtlich der beobachteten Reaktionen Übereinstimmungen hinsichtlich der Phosphat-induzierten SAR-Aktivierung und der biotischen Induktion. Unterschiedliche Verbindungen wie herbizide Wirkstoffe und Galacturonsäure verursachten eine Nekrotisierung auf dem Primärblatt, d. h. die ausgelösten Zelltodsymptome riefen lokale SA-Akkumulation und zudem SAR hervor (Abb. 42).

Entsprechend den Ergebnissen zur Generierung von ROS ist auch hinsichtlich der SA-Anreicherung ein Induktionsintervall von einigen Tagen zur SAR-Ausprägung notwendig. In Experimenten mit kurzen Induktionsintervallen von wenigen Stunden, in denen noch kein signifikanter Anstieg der SA nachgewiesen werden konnte, war auch keine SAR beobachtet worden. So hatte das Nekrose-auslösende Trockeneis keinen Einfluss auf die Synthese von SA, ein weiterer Hinweis für die Notwendigkeit eines länger dauernden Stresszustandes, der zum Ablauf der beschriebenen Reaktionen dieses Signalwegs erforderlich ist, wie dies von Gottstein und Kuc (1989) postuliert wurde.

BTH hatte in mehreren Versuchen keinen Einfluss auf die Akkumulation von SA, so dass die Ergebnisse von Delaney *et al.* (1994), Friedrich *et al.* (1996) sowie Lawton *et al.* (1996) bestätigt werden konnten. BTH greift somit nach der SA in der Signalkette ein (Abb. 2 und 49).

Zahlreiche Arbeitsgruppen haben versucht, die Salizylsäure als das bereits 1986 von Dean und Kuc postulierte Signalmolekül zu identifizieren, welches systemisch im Phloem transloziert und als endogenes Signalmolekül akropetal verlagert wird. Trotz intensiver Forschungsaktivitäten zu diesem Thema wird die Funktion der Salizylsäure im Prozess der Auslösung systemischer Resistenz immer noch diskutiert. Metraux *et al.* (1990) fanden erhöhte SA-Gehalte in Phloemexsudaten induzierter Pflanzen, was zunächst auf den Signalcharakter dieser Verbindung hindeutete. Andere Autoren konnten zeigen, dass SA zwar nicht das eigentliche Signal, jedoch für die Ausprägung der SAR essentiell ist (Vernooij *et al.*, 1994; Willits und Ryals, 1998). Auch in dieser Arbeit konnte

4. DISKUSSION

diese grundlegende Fragestellung nicht hinreichend aufgeklärt werden, doch konnten weitere Erkenntnisse zum Signalweg bei der Auslösung systemischer Resistenz nach Behandlung mit Nekrose-auslösenden chemischen Induktoren gewonnen werden. Die Korrelation von Nekrotisierung, SA-Akkumulation und Translokation sowie die Ausprägung von SAR liefert Argumente für die These, dass SA eine essentielle Verbindung zur Auslösung von SAR nach biotischer Induktion ist.

Besonders hervorzuheben sind hierbei die untersuchten Translokationsprozesse an Gurkenpflanzen. So wurde nach biotischer Induktion sowohl die Bildung von SA im infizierten Gewebe als auch Translokation und Neusynthese in unbehandelten Blättern nachgewiesen (Meuwly *et al.*, 1994; Mölders *et al.*, 1996). Smith-Becker *et al.* (1998) konnten gesteigerte SA-Gehalte nach Inokulation von Gurken mit *Pseudomonas syringae* in den Phloemexsudaten nachweisen, so dass eine *de-novo* Synthese in diesen Geweben (zusätzlich zur Translokation) vermutet wird, da die Induktorblätter bereits 6 h nach der Behandlung entfernt wurden und eine stetige Nachlieferung von SA über diesen Zeitpunkt hinaus nicht möglich war.

Der Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit den beschriebenen Experimenten mit biotischen Induktoren verweist auf deutliche Ähnlichkeiten, so dass hinsichtlich beider Induktionsmechanismen gefolgert werden kann, dass auch nach den Phosphatbehandlungen Translokationsvorgänge bzw. *de-novo*-Synthese stattfinden dürften. Versuche hierzu waren aufgrund der aufwendigen Versuchsanstellung im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht möglich, da neben der Markierung der SA-Derivate auch die Untersuchung von Methylsalizylat sowie weiteren, z. T. noch nicht identifizierten Metaboliten nötig gewesen wäre.

In diesem Zusammenhang kann erwähnt werden, dass das postulierte Signal nicht zwingend chemischer Natur sein muss, wie üblicherweise angenommen wird. Denkbar wären z. B. auch elektrische Potentiale, die im Rahmen der Signalübertragung in Pflanzen bereits nachgewiesen werden konnten (Davies, 1987; Bowles, 1992).

Aufgrund der Anstiege von ROS sowie der SA-Gehalte während der Entstehung der Zelltodsymptome innerhalb von 1 - 3 Tagen nach der Phosphatbehandlung, ist bezüglich dieser Form der SAR ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Reaktionen naheliegend, zumal dieser auch bei biotischer Induktion vielfach postuliert wird (Enyedi *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1993; Delaney *et al.*, 1994; Ryals *et al.*, 1996; Delaney, 1997). Auch hier wurde der zugrunde liegende zelluläre Mechanismus noch nicht eindeutig geklärt, so dass verschiedene Modelle zur Beschreibung dieses Zusammenhangs zwischen ROS, SA und SAR erstellt wurden (Chen *et al.*, 1993; Leon *et al.*, 1995a und b; Dangl *et al.*, 1996; Hammond-Kossack und Jones, 1996; Ryals *et al.*, 1996; Delaney, 1997). Das von Draper (1997) zusammenfassend dargestellte Modell geht davon aus, dass SA in frühen Stadien der Signalentstehung die Signalwege, die zu oxidativen burst nach Pathogen-

erkennung führen, moduliert. Es wäre zudem denkbar, dass Phosphat, für dessen Wirkungsmechanismen Übereinstimmungen mit biotischen Induktoren gezeigt wurden, auf dieselben zellulären Targets wie biotische Induktoren wirkt. Dieses müsste jedoch in weiterführenden Arbeiten näher untersucht werden.

Delaney *et al.* (1994) konnten mit ihren Experimenten an transgenem nahG-Tabak zeigen, dass bei einer biotischen Induktion der Signalweg über die SA-Akkumulation als wichtige Zwischenstufe erfolgt. Da keine transgenen Gurkenpflanzen mit nahG-Gen verfügbar waren, wurden vergleichende Experimente an nahG-Tabak nach biotischer und Phosphat-induzierter Resistenz durchgeführt. Im System Tabak/TMV konnte eindeutig gezeigt werden, dass sowohl die biotische Induktion als auch die Phosphat-induzierte SAR die SA-Akkumulation im Signalweg durchlaufen.

Ein sehr gut geeignetes Testsystem zur Untersuchung der Signalwege der SAR stellen transgene *Arabidopsis*-Mutanten dar (Shapiro, 2000). Es ist zu erwarten, dass anhand dieser Pflanzenart in den nächsten Jahren ein umfassenderes Wissen über die Signalwege gewonnen wird.

Zahlreiche unbeantwortete Fragen hinsichtlich der Signalwege, die zur Auslösung von SAR führen, bleiben weiterhin bestehen. So ist vor allem noch nicht geklärt, ob SA das für die Resistenzinduktion verantwortliche Signalmolekül ist. Ferner konnte das exakte zelluläre Target von Phosphaten nicht identifiziert werden, welches die Bildung von ROS und SA initiiert. Aber auch hinsichtlich der biotischen Induktion sind die molekularen Wirkungsmechanismen der SA noch nicht vollständig aufgeklärt. Die in diesem Zusammenhang aufgestellten Theorien, von denen bisher keine allgemein anerkannt ist, umfassen beispielsweise die Katalase-Hemmung (Chen *et al.*, 1993; Conrath *et al.*, 1995) und regulatorische Funktionen der SA bei der ROS-Generierung (Wu *et al.*, 1995; Hammond-Kosack und Jones, 1996; Shirasu *et al.*, 1997). Kauss und Jeblick (1995) gehen von einer verstärkenden Wirkung bei der HR bzw. ROS-Bildung aus. Für Greenberg (1997) ist SA an der Regulation des programmierten Zelltods beteiligt und Yalpani *et al.* (1991) gehen von einer Wirkung der SA über Abwehrproteine aus. Eine Bildung von sog. SA-Radikalen im Rahmen der Lipidperoxidation postulieren Durner und Klessig (1996). Welche dieser möglichen Funktionen die Salizylsäure innerhalb der komplexen Signalwege hat und inwieweit sogar Interaktionen unterschiedlicher molekularer Wirkungsmechanismen vorliegen, ist bisher nicht abschließend geklärt. Als zusammenfassende Folgerung kann jedoch für Phosphate als Induktoren von SAR festgehalten werden, dass die Nekrose-auslösenden Eigenschaften mit der Fähigkeit zur Akkumulation von SA korreliert sind. Diese Reaktionen während der frühen Phasen der SAR-Auslösung stimmen mit den beobachteten Prozessen nach biotischer sowie abiotisch/chemischer Induktion überein, so dass eine Einordnung der Phosphate in das Schema der Signalwege wie folgt vorgenommen werden kann (Abb. 49).

4. DISKUSSION

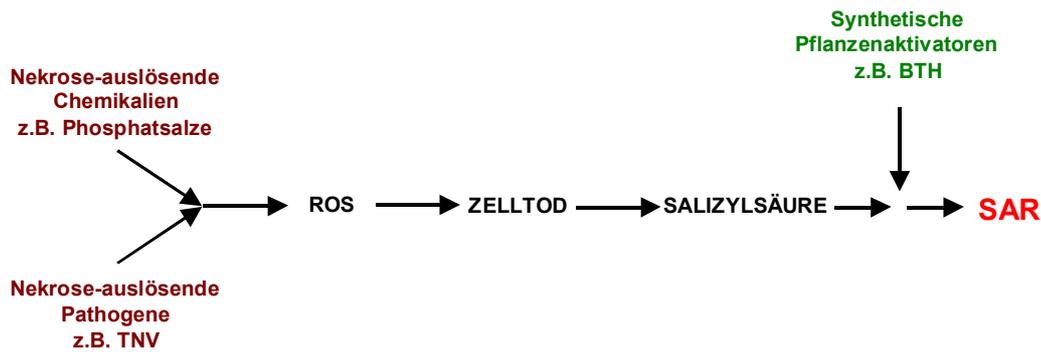


Abb. 49: Einordnung der Phosphate in ein vereinfachtes Schema der Signalwege der systemisch aktivierten Resistenz

TNV: Tabaknekrosevirus; **ROS:** Reaktive Sauerstoffspezies; **BTH:** Benzo-[1,2,3]-thiadiazol-[7]-thiocarbonsäure-S-methylester, Bion[®]; **SAR:** Systemisch aktivierte Resistenz

4.4 Abwehrassoziierte Proteine

In Pflanzen mit induzierter Resistenz ist bereits seit über 30 Jahren das verstärkte Auftreten von PR-Proteinen (pathogenesis related proteins) bekannt. Die zahlreichen Arbeiten zu diesem Thema sind in den Übersichtsartikeln von Linthorst (1991), van Loon (1997) und van Loon und van Strien (1999) zusammengefasst. Es lag daher nahe, diese Proteine als Marker für die Aktivierung von SAR heranzuziehen (Stintzi *et al.*, 1993; Kessmann *et al.*, 1994a; van Loon *et al.*, 1994; Ryals *et al.*, 1996).

In Gurkenpflanzen wurden Peroxidase, Lipoxygenase, β -1,3-Glucanase sowie Chitinase als wichtige PR-Proteine bei induziert resistenten Pflanzen nachgewiesen (Hammerschmidt *et al.*, 1982; Mettraux *et al.*, 1988; Smith und Hammerschmidt, 1988; Irving und Kuc, 1990; Mettraux *et al.*, 1990; Avdiushko *et al.*, 1993b; Dalisay und Kuc, 1995; Ji und Kuc, 1995; Lawton *et al.*, 1995; Strobel *et al.*, 1996). So konnten Avdiushko *et al.* (1993b) in vergleichenden Untersuchungen mit biotischen (*C. lagenarium*, TNV) sowie chemischen Induktoren (K_2HPO_4) zeigen, dass PR-Proteine wie Peroxidasen, Polyphenoloxidasen, Lipoxygenase, Chitinase, β -1,3 Glucanase sowie α -Glucosidase in behandelten Blattgeweben von Gurkenpflanzen akkumulierten.

Trotz intensiver Untersuchungen an den verschiedensten Wirt-Pathogen-Systemen ist die Funktion der meisten PR-Proteine sowie ihre Wirkungsweise im Abwehrprozess der SAR bis heute nicht eindeutig geklärt. Darüber hinaus wird die Eignung von PR-Proteinen als Marker für die SAR von zahlreichen Forschern generell in Frage gestellt. So wird oft kritisiert, dass sich einzelne Proteine kaum als Marker für SAR eignen, zumal ihre Wirksamkeit gegenüber Pilzen oder Viren nur unzureichend nachgewiesen worden ist. Ferner ist denkbar, dass es sich bei bestimmten PR-Proteinen um Metaboliten eines veränderten Stoffwechsels handelt, die keine direkte Auswirkungen auf die

Resistenzreaktionen haben müssen. Es konnte gezeigt werden, dass die Steigerung einzelner Aktivitäten von PR-Proteinen wie z. B. der Chitinase bei Tabak nicht zu erhöhter Resistenz führt (Neuhaus *et al.*, 1991). Ebenso wurde durch gesteigerte Aktivitäten von mehreren PR-Proteinen bei Tabak kein Resistenzanstieg hervorgerufen (Linthorst *et al.*, 1989). Für verschiedene Wirt-Pathogen-Systeme konnte nachgewiesen werden, dass die Akkumulation von PR-Proteinen nicht für die Ausbildung von SAR erforderlich ist (Nielsen *et al.*, 1994). Insbesondere scheint dies dann der Fall zu sein, wenn es sich um ISR handelt, die durch Rhizobakterien aktiviert wird (Hoffland *et al.*, 1995). Auch für Kuc (1993) stellt die Steigerung der Enzymaktivitäten von PR-Proteinen wie Glucanasen und Chitinasen keine zuverlässigen Marker für die SAR dar.

Zumal der Schwerpunkt dieser Arbeit eher auf Untersuchungen zu biochemischen Reaktionen lag, wurden nur ausgewählte PR-Proteine (Peroxidase und Polyphenoloxidase) untersucht, die bei Gurkenpflanzen höchstwahrscheinlich an Resistenzreaktionen beteiligt sind und daher als abwehrassozierte Proteine bezeichnet werden können. Ob sie tatsächlich geeignete Markerenzyme der Resistenz darstellen, konnte nicht geklärt werden. Untersuchungen zur Lipoxygenase-Aktivität wurden nicht durchgeführt, doch kann angenommen werden, dass aufgrund der nachgewiesenen erhöhten Lipidperoxidation nach Phosphatbehandlung (Abb. 37) auch dieses Enzym aktiviert wird.

Peroxidasen

Peroxidasen (POX) besitzen insbesondere bei Gurken eine große Bedeutung hinsichtlich der Ausprägung von SAR (Hammerschmidt und Yang-Cashman, 1995). Aktivitätssteigerungen der POX konnten sowohl durch biotische Induktoren (Ye *et al.*, 1990; Goodman *et al.*, 1996) als auch durch chemische Induktoren lokal und systemisch nachgewiesen werden (Irving und Kuc, 1990). Insbesondere scheinen POX an Lignifizierungsprozessen beteiligt zu sein (Lagrimini *et al.*, 1987), die bei Gurkenpflanzen als ein zentraler Abwehrmechanismus angesehen werden (Hammerschmidt und Yang-Cashman, 1995).

Nach chemischer Induktion mit Phosphaten konnten sowohl in den Blattextrakten als auch in den interzellulären Waschflüssigkeiten Steigerungen der POX-Aktivitäten beobachtet werden (3.2.8.1). Die Infektion mit TNV führte bei Gurken ebenfalls zu einer deutlichen Steigerung der POX-Aktivitäten. Starke Anstiege in den Aktivitäten waren nach Behandlung mit K_2HPO_4 bereits nach einem Tag in den behandelten Blättern festzustellen, während der Anstieg nach TNV-Inokulation erst zwei Tage nach Inokulation einsetzte. In den höher inserierten Blättern waren die POX-Aktivitäten durch beide Induktoren nach drei bis fünf Tagen deutlich erhöht. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass beide Induktoren, welche Nekrotisierungen der behandelten Blätter auslösten, die POX-Aktivitäten hinsichtlich der Kinetik in gleicher Weise beeinflussten. Durch beide Induktionsmodi (TNV und Phosphat) wurden die Enzymaktivitäten in den infizierten bzw. behan-

4. DISKUSSION

delten Blättern über einen vergleichbaren Zeitraum und mit einer ähnlichen Intensität gesteigert, während in den höher inserierten Blättern geringere Anstiege in den POX-Aktivitäten feststellbar waren, die jedoch gegenüber der Kontrolle auf einem deutlich höheren Niveau lagen. Auch die für biotische SAR-Auslösung typische Aktivierung verschiedener POX-Isoformen konnte lokal und systemisch für Phosphatbehandlungen nachgewiesen werden (Abb. 44). Auch die Behandlung mit dem synthetischen Induktor BTH führt zu Steigerungen der POX-Aktivitäten (Siegrist *et al.*, 1997).

Für die Phosphat-induzierte Resistenz bei Gurken sind bereits von Irving und Kuc (1990) gesteigerte Aktivitäten von POX und Chitinase nachgewiesen worden, so dass die hier gezeigten Ergebnisse das beobachtete Phänomen bestätigen. Da die Autoren eine Korrelation von POX-Aktivität und SAR-Ausprägung nicht nachweisen konnten, bleibt weiterhin offen, ob POX ein geeignetes Markerenzym zur Charakterisierung von SAR ist.

Polyphenoloxidasen

Polyphenoloxidasen (PPO) können als ein Enzymkomplex angesehen werden, der bei der Bildung von abwehrassozierten Substanzen wie z. B. von Cumarinen und Phytoalexinen im Phenolstoffwechsel eine bedeutende Rolle zu spielen vermag. Ähnlich wie bei der POX, wurden Aktivitätssteigerungen von PPO nach biotischer Induktion beschrieben (Hall *et al.*, 1969; Bryngelsson und Collinge, 1992). Bei chemischer Induktion mit Dichlorisonikotinsäure oder BTH wurden dagegen nur schwache Aktivitätssteigerungen beobachtet (Staub *et al.*, 1993; Kalix, 1996).

Nach Phosphatbehandlung sowie TNV-Inokulation konnte insbesondere in den behandelten Geweben eine rasche Steigerung der PPO-Aktivitäten bereits nach 24 - 48 h nachgewiesen werden. Systemische Aktivitätssteigerungen traten erst nach drei Tagen auf und waren hinsichtlich der Kinetik mit der POX vergleichbar. Zudem ist die starke Akkumulation der PPO wahrscheinlich auch auf die Entstehung von Zelltodsymptomen sowie die Bildung von ROS zurückzuführen, die bei BTH vermittelter SAR nicht oder nur in geringem Ausmaß auftritt.

4.5 Wirkung von Phosphaten im System Tabak/TMV

Das Testsystem Tabak (*N. tabacum* cv. Xanthi nc)/TMV erwies sich zur Untersuchung der Phosphat-induzierten Resistenz geeignet, obwohl bei dieser Sorte bereits genetisch fixierte Resistenz in Form von hypersensitiv reagierendem Gewebe vorliegt. Somit kann lediglich von einer Verstärkung der genetisch fixierten Resistenz gesprochen werden.

Wie auch bei Gurkenpflanzen war die Ausprägung von Resistenz nach Applikation von Phosphaten bei Tabakpflanzen an eine vorhergehende Nekrotisierung gekoppelt. Dabei lösten insbesondere K_3PO_4 und K_2HPO_4 diese Nekrosen und schließlich Krankheitsresistenz aus. Die Ausbildung von TMV-Lokalläsionen nach Challenge-Inokulation war auf den unbehandelten Blättern K_3PO_4 - bzw. K_2HPO_4 -vorbehandelter Pflanzen hinsichtlich Anzahl und Fläche stark reduziert (Abb. 47; Tab. 11). Auf diesen Blättern, welche systemische Effekte zeigten, konnten Wirkungsgrade bis zu 80 % (Anzahl der TMV-Läsionen) bzw. bis zu 60 % (Läsionendurchmesser) sowie bis zu 96 % (nekrotische Blattfläche) erreicht werden. Die Wirkungsgrade lagen in diesem System stets niedriger als in der Interaktion Gurke/*C. lagenarium* und auch die Wirkungssicherheit der Phosphat-induzierten Resistenz war bei Tabak tendenziell schwächer als bei Gurke.

Das von Delaney *et al.* (1994) und Friedrich *et al.* (1996) beschriebene Testsystem nahG-Tabak/TMV zum Nachweis der SA-Abhängigkeit von verschiedenen Induktoren wurde zur weiteren Charakterisierung der Phosphat-induzierten Resistenz herangezogen. Im Vergleich mit biotischen (TNV) sowie synthetischen Induktoren (BTH) konnte für die SAR-Auslösung durch Phosphate die Abhängigkeit von der SA-Akkumulation belegt werden. Sowohl die Inokulation mit TNV als auch die Behandlung mit K_2HPO_4 lösten zwar auf den behandelten Blättern der NahG-Pflanzen Nekrosen aus, doch es wurde keine SA akkumuliert. Nach der Challenge-Inokulation mit TMV waren die Pflanzen ebenso empfindlich wie die Kontrollen, so dass keine Resistenz nachzuweisen war. BTH als SA-unabhängiger Induktor war aber auch in diesen Experimenten wirksam. Es konnte somit gezeigt werden, dass die Induktion von Resistenz durch Nekrose-auslösende Phosphate wie auch durch biotische Induktoren (TMV) die Akkumulation von SA erfordert.

Ähnliche Ergebnisse an Tabak wurden mit Nekrose-auslösenden chemischen Induktoren wie z. B. 3-Aminobuttersäure, Glufosinat sowie verschiedenen Aminosäuren erzielt, welche ebenfalls über den SA-abhängigen Signalweg eine SAR aktivieren (Siegrist *et al.*, 2000; Orober und Siegrist, unveröffentlicht).

4. DISKUSSION

4.6 Ausblick und Bewertung

Die Nutzung des Prinzips der SAR in der landwirtschaftlichen Praxis kann einige Vorteile bieten, wobei die Minderung des Einsatzes chemischer Pflanzenschutzmittel im Vordergrund steht. Aufgrund der unspezifischen Wirkung von Resistenzinduktoren gegenüber verschiedenen Pathogenen ist die SAR als ein alternatives Konzept zur Bekämpfung von Krankheiten geeignet, gegen die keine Pflanzenschutzmittel zugelassen sind bzw. keine wirksamen Mittel existieren. Ferner ist die Gefahr einer Resistenzbildung als gering einzustufen, da mehrere Abwehrmechanismen innerhalb der Pflanze wirksam werden. Darüber hinaus ist die Zulassung von Resistenzinduktoren zumindest in Deutschland einfacher als bei Pflanzenschutzmitteln, da sie als Pflanzenstärkungsmittel einem vereinfachten Zulassungsverfahren unterliegen. Demgegenüber ist als Nachteil zu werten, dass Resistenzinduktoren stets protektiv appliziert werden müssen, so dass sie nicht in das Konzept der integrierten Produktion einzugliedern sind und die Anwendung nicht nach dem Schadschwellenprinzip möglich ist. Zudem verleiht die SAR keinen vollständigen Schutz gegenüber Krankheiten, so dass i. d. R. ein Restbefall auftritt, welcher bei einigen Kulturen aus Gründen der Qualität bzw. niedriger Schadschwellenwerte nicht tolerierbar ist.

Der Einsatz von Phosphaten als Pflanzenschutzmittel, bietet zudem weitere interessante Perspektiven. Es handelt sich um relativ preisgünstige chemische Verbindungen, die insbesondere ökotoxikologisch als unbedenklich einzustufen sind. Die Nutzung des Prinzips der induzierten Resistenz unter Feldbedingungen durch Blattapplikation von Phosphaten erscheint somit als eine attraktive Alternative bzw. Ergänzung zum Einsatz von Fungiziden, deren Aufwandmengen aufgrund der unterstützenden Wirkung von Phosphaten vermindert werden könnten. Zudem ist die Düngerwirkung zu erwähnen, da es sich bei Phosphat um einen essentiellen Makronährstoff handelt. Phosphate ließen sich somit als Resistenzinduktoren sowie als Blattdünger gleich doppelt nutzen.

Aufgrund der in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse zum Wirkungsmechanismus der Phosphat-induzierten SAR ist die Nutzung dieser Verbindungen als Pflanzenschutzmittel generell kritisch zu werten. Phosphate waren nicht bei allen untersuchten Pflanzenarten als Resistenzinduktoren wirksam. Die Wirkungssicherheit ist geringer als bei chemischen Pflanzenschutzmitteln und zudem an eine aufwendige Applikationstechnik gekoppelt. Es muss sichergestellt werden, dass die Applikation zur Bildung kleiner Tropfen an den Blättern führt und eine längere Blattnässeperiode von mehreren Stunden gewährleistet ist, um die Bildung von Primärnekrosen hervorzurufen. Dieses ist in der Praxis jedoch nur schwer sicherzustellen, da die Blattoberflächen vieler Kulturpflanzenarten unterschiedlich beschaffen sind und auch innerhalb einer Pflanzenart stark differieren können. Umwelteinflüsse wie Wind und Sonneneinstrahlung können sich ebenfalls als zusätzliche und schwer kalkulierbare Risiken erweisen.

Generell dürfte der zur Auslösung von SAR notwendige Mechanismus (Zelltod mit anschließender Nekrotisierung) für Phosphate nur schwer in der Praxis akzeptiert werden, da diese Nekrosen i. d. R. als Phytotoxizitätssymptome und somit als unerwünschte Erscheinung angesehen werden. Diese Simulation Pathogen-verursachter Nekrosen bei gleichzeitiger Steigerung des Abwehrpotentials dürfte sich ebenso problematisch in die Praxis eingliedern lassen, wie der bereits beschriebene Versuch der Vorinkulation mit Pathogenen zwecks Auslösung von SAR. Obwohl bei Phosphaten die Bereitschaft zum Einsatz höher sein dürfte als bei der Ausbringung von Pathogenen, bleibt die optisch unerwünschte Bildung von Nekrosen essentiell und eine visuell scheinbare Schädigung des Bestandes dürfte kaum als Maßnahme angesehen werden, die zur Gesunderhaltung des Bestandes dient. In bestimmten Kulturen, für die keine geeigneten bzw. zugelassenen Pflanzenschutzmittel existieren, wäre die Nekrotisierung durch Phosphate unter Umständen tolerierbar. Ferner ist insbesondere bei Kulturen mit langer Vegetationsdauer eine wiederholte Applikation von Phosphaten zur Aufrechterhaltung der SAR notwendig. Ob eine solche Auffrischung durch mehrmalige protektive Applikationen unter Produktionsbedingungen angenommen wird, kann in Frage gestellt werden.

Des Weiteren sind die physiologischen Energiekosten des pflanzlichen Metabolismus und der Verlust photosynthetisch aktiver Blattfläche bisher nicht ausreichend in Bezug zu SAR untersucht bzw. quantifiziert worden. Es stellt sich weiterhin die für sämtliche landwirtschaftlichen Produktionsprozesse entscheidende Frage, ob SAR nicht negative ertragswirksame Einflüsse hat.

Als lokal bzw. direkt gegen Pathogene wirkende Substanzen ist der Einsatz von Phosphaten eher denkbar als ihr Einsatz als SAR-Induktoren. Bei dieser Anwendungsart wird jedoch ein antagonistisches Prinzip unter Ausnutzung der antifungalen Wirkung (u.a. aufgrund der hohen Salzkonzentration bzw. der Kristallstruktur der Rückstände) praktiziert, das deutlich von der SAR abzugrenzen ist. Für den praktischen Einsatz ist die Einteilung der Effekte nach Wirkungsmechanismen jedoch sekundär, so dass die Nutzung aller drei möglichen Wirkungsmechanismen (direkte Wirkung, LAR und SAR) möglich ist.

Weitere denkbare Probleme beim Einsatz von Phosphaten in der Praxis können sich aus den Kosten ergeben, da die erforderlichen hohen Aufwandsmengen (0,5 – 1 %) sowie mehrfache Applikationen weniger attraktiv sein könnten. Für die Praxis gilt es dann zu entscheiden, ob preisgünstige Fungizide, die nur 1 – 2 mal angewendet werden müssen und zudem auch höhere Wirkungsgrade aufweisen, nicht vorzuziehen sind.

5. ZUSAMMENFASSUNG

5. Zusammenfassung

Während die Mechanismen der biotischen Resistenzinduktion bereits intensiv untersucht wurden, sind die Kenntnisse über die Wirkungsweise der meisten abiotischen Resistenzinduktoren noch unzureichend. Ein solches Beispiel stellt die Auslösung von SAR (systemisch aktivierter Resistenz) durch Blattapplikation anorganischer Phosphate in Form von Düngerlösungen dar. Neben dem ertragswirksamen Effekt durch zusätzliche Nährstoffzufuhr konnte in zahlreichen landwirtschaftlichen Kulturpflanzenarten nach Blattapplikationen von Phosphatdüngern Resistenz insbesondere gegenüber pilzlichen Pathogenen hervorgerufen werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die zellulären Reaktionen zu erfassen, die nach einer Applikation von Phosphatverbindungen zur Resistenzauslösung führen. Insbesondere wurden die durch Phosphat hervorgerufenen frühen Prozesse der Resistenzaktivierung vergleichend mit anderen Formen der Resistenzauslösung (biotische Induktion, Induktion durch synthetische Pflanzenaktivatoren) mittels biochemischer Methoden untersucht.

Diese Fragestellung wurde anhand verschiedener Wirt-Pathogensysteme bearbeitet, wobei für die biochemischen Untersuchungen die Interaktion Gurke/*Colletotrichum lagenarium* im Mittelpunkt stand. Bei Gurkenpflanzen konnte durch die Applikation basischer Kalium- und Natrium-Phosphate im Konzentrationsbereich von 10 – 100 mM systemische Resistenz gegenüber verschiedenen pilzlichen Schaderregern hervorgerufen werden. Gegenüber der Brennfleckenkrankheit, hervorgerufen durch *C. lagenarium*, manifestierte sich die SAR in einer starken Verminderung der Anzahl sowie des Durchmessers der durch den Pilz hervorgerufenen Läsionen auf den höher inserierten, unbehandelten Blättern. Wirkungsgrade von über 95 % konnten in diesem System erzielt werden. Geringere Wirkungsgrade wurden gegenüber dem Echten Gurkenmehltau, verursacht durch *Sphaerotheca fuliginea*, (bis zu 70 % Befallsreduktion) und gegenüber dem Falschen Mehltau, hervorgerufen durch *Pseudoperonospora cubensis*, (bis zu 50 %) festgestellt. In Tabak war eine Steigerung der Resistenz gegenüber dem Befall mit TMV nachzuweisen. Zur Ausprägung der SAR war ein minimales Induktionsintervall von drei Tagen erforderlich, maximale Effekte wurden nach sieben bis acht Tagen festgestellt.

Für eine erfolgreiche SAR-Auslösung war die Bildung von chlorotischen/nekrotischen Läsionen auf den Phosphat-behandelten Pflanzenteilen notwendig. Es konnte gezeigt werden, dass der Grad der durch Phosphat verursachten Gewebenekrotisierung mit der eingesetzten Induktorkonzentration und der resultierenden SAR-Ausprägung korrelierte. Die Verhinderung der Gewebenekrotisierung durch gezielte Steuerung der experimentellen Bedingungen war mit dem Ausbleiben der SAR-Auslösung verbunden. Mittels histochemischer Färbemethoden konnte bereits 48 h nach der Phosphatbehandlung das Auftreten deutlich abgegrenzter kleiner Bereiche mit toten Zellen nachgewiesen werden. Dem lokalen Zelltod ging die Bildung von reaktiven Sauerstoff-

spezies voraus. Dabei konnte die Bildung von Superoxidanionen bereits 6 h nach der Behandlung nachgewiesen werden, während Wasserstoffperoxid nach ca. 24 h vermehrt im behandelten Gewebe auftrat. Auch eine erhöhte Lipidperoxidation als Folge der durch reaktive Sauerstoffspezies initiierten Membranzerstörung konnte in den behandelten Blättern nachgewiesen werden. Die Untersuchungen der früh initiierten Reaktionen nach der Phosphatbehandlung zeigten deutliche Übereinstimmungen mit den Prozessen, welche nach biotischer Induktion mit dem ebenfalls Nekrose-hervorrufenden Tabak-Nekrose-Virus (TNV) zu beobachten waren.

Als ein bedeutendes Signalmolekül bei der Ausprägung und Weiterleitung der SAR ist in Gurkenpflanzen die Salizylsäure anzusehen. In den vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es nach der Phosphatapplikation in den behandelten Blättern zu einem schnellen Anstieg an freier sowie glucosidisch gebundener Salizylsäure kam. Bereits ein bis zwei Tage nach der Phosphatbehandlung war, wie nach biotischer Resistenzinduktion mittels TNV-Inokulation, ein stark erhöhter Salizylsäuregehalt in den behandelten Blättern nachzuweisen. In den Pflanzenteilen mit systemischer Resistenzausprägung wurde nach drei bis sechs Tagen ebenfalls ein Anstieg des Salizylsäuregehalts festgestellt, wobei die Zunahme deutlich geringer war als in den behandelten Blättern. Anhand von Experimenten mit transgenen nahG-Tabakpflanzen konnte gezeigt werden, dass eine Steigerung der Resistenz durch Phosphate sowie durch TMV-Inokulation von der Akkumulation der Salizylsäure im behandelten Gewebe abhängt.

Die erfolgreiche Resistenzauslösung durch Phosphate äußerte sich in Gurkenpflanzen mit der für diese Pflanzenart charakteristischen Steigerung bestimmter Abwehrenzime. So waren insbesondere im Apoplasten die Aktivitäten von Peroxidasen sowie Polyphenoloxidasen gegenüber Kontrollpflanzen in allen Pflanzenteilen stark erhöht.

Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass die Behandlung mit Nekrose-auslösenden Chemikalien wie Phosphatverbindungen zelluläre Reaktionen hervorrufen, die auch nach einer biotischen Resistenzinduktion durch Mikroorganismen vielfach nachgewiesen wurden. Somit kann gefolgert werden, dass Blattapplikationen von Phosphaten eine biotische Induktion imitieren.

5. Summary

While the mechanisms occurring following the induction of resistance by biotic inducers have been intensively investigated in the past years the mode of action of the most abiotic inducers is poorly understood. A typical example for this is the induction of systemic acquired resistance (SAR) by application of anorganic phosphates as nutrient solution. Beside the observed increase in yield an enhanced resistance in several plant species against pathogens was described following foliar applications of phosphates. The aim of this study was to investigate the cellular reactions leading to SAR after foliar phosphate application. The early biochemical responses of the resistance activation by phosphates have been compared with other forms of induction of SAR such as the biotic induction with pathogens and treatment with synthetic plant defense activators.

Several host/pathogen-systems have been tested to elucidate this mechanisms but especially the interaction cucumber/*Colletotrichum lagenarium* was used for the biochemical studies. The application of basic potassium and sodium phosphates in the range of 10 – 100 mM induced SAR against several fungal pathogens. The induction of resistance against anthracnose caused by *C. lagenarium* resulted in a reduction of the number of necrotic lesions and a significant decrease of the lesion diameters on the upper, non-treated leaves. Efficacy levels of more than 95 % could be achieved against this disease. Lower efficacy levels were observed against powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* (< 70 %) and downy mildew caused by *Pseudoperonospora cubensis* (< 50 %), respectively. In tobacco foliar phosphate application enhanced resistance against TMV. In cucumber and tobacco SAR was apparent after an interval of three days between inducer treatment and inoculation, but maximum protection was achieved after seven to eight days.

For successful induction of SAR the occurrence of chlorotic/necrotic lesions on the phosphate treated inducer leaves was necessary. A strong correlation between the intensity of tissue necrotization caused by phosphates, the phosphate concentration and the degree of protection was observed. If no necrotic reactions were expressed by modified experimental conditions also no SAR was detectable. Using histochemical staining procedures the occurrence of cell areas showing dead cells could be demonstrated 48 h after phosphate treatment. This localized cell death was preceded by the generation of reactive oxygen species. Superoxide anions were detected 6 h after phosphate treatment and hydrogen peroxide was generated after 24 h. Enhanced lipid peroxidation as consequence of the membrane deterioration by reactive oxygen species was observed in the treated leaves. The results of the early biochemical reactions following phosphate treatment showed striking similarities with the reactions occurring after biotic induction with necrotizing pathogens as tobacco necrosis virus (TNV).

An important signal molecule in the process of the establishment of SAR in cucumber plants is salicylic acid. The studies demonstrated that local phosphate treatments induced a rapid increase of the concentrations of free and bound salicylic acid in the treated leaves. In non-treated distal plant tissues exhibiting SAR a systemic increase of salicylic acid concentrations was observed after three to six days following the inducer treatment. In general, this systemic increase was at lower levels compared to the treated leaves. Experiments with transgenic nahG-tobacco plants showed that the expression of SAR by phosphate treatments and TNV-inoculation was strictly dependent on the accumulation of salicylic acid.

Successful induction of SAR by phosphates was accompanied by increased activities of characteristic defense-related enzymes. Especially in the apoplastic compartments of the induced plants the activities of peroxidases and polyphenoloxidases were highly increased.

In this study it could be shown that treatments with necrotizing chemicals such as phosphates cause similar cellular reactions as observed after biotic induction with pathogens which resulted in expression of SAR. Therefore it can be assumed that foliar phosphate treatments imitate the biotic induction of systemic acquired resistance.

6. LITERATURVERZEICHNIS

6. Literaturverzeichnis

- Abad**, L. R., D'Urzo, M. P., Liu, D., Narasimhan, M. L., Reuveni, M., Singh, N. K., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., Niu, X. M. (1996): Antifungal activity of tobacco osmotin has specificity and involves plasma membrane permeabilization. *Plant-Science-Limerick*, **118**, 11-23
- Abbott**, W. S. (1925): A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economical Entomology*, **18**, 265-267
- Adam**, A., Farkas, T., Somlay, G., Hevesi, M., Kiraly, Z. (1989): Consequence of O₂⁻-generation during a bacterially induced hypersensitive reaction in tobacco: deterioration of membrane lipids. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **34**, 13-26
- Agrios**, G. N. (1988): *Plant pathology*. 3. Auflage, Academic Press, San Diego, USA
- Agrios**, G. N. (1997): *Plant pathology*. 4. Auflage, Academic Press, San Diego, USA
- Aist**, J. (1976): Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annual Review of Phytopathology*, **14**, 145-163
- Aist**, J. R., Bushnell, W. R. (1991): Invasion of plants by powdery mildew fungi, and cellular mechanisms of resistance. In: *The Fungal spore and disease initiation in plants and animals*. Cole, G. T., Hoch, H. C. (Hrsg.), Plenum Press, New York, USA, 321-345
- Ahl-Goy**, P., Signer, H., Reist, R., Aichholz, R., Blum, W., Schmidt, E., Kessmann, H. (1993): Accumulation of scopoletin is associated with the high disease resistance of the hybrid *Nicotiana glutinosa* X *Nicotiana debneyi*. *Planta*, **191**, 200-206
- Alexander**, D., Goodman, R. M., Gut-Rella, M., Glascock, C., Weyman, K., Friedrich, L., Maddox, D., Ahl-Goy, P., Luntz, T., Ward, E., Ryals, J. (1993): Increased tolerance to two oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **90**, 7327-7331
- Alvarez**, M. E., Pennell, R. I., Meijer, P. J., Ishikawa, A., Dixon, R. A., Lamb, C. J. (1998): Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell*, **92**, 773-784
- Anderson**, M. C., Chen, Z., Klessig, D. F. (1998): Possible involvement of lipid peroxidation in salicylic acid-mediated induction of PR-1 gene expression. *Phytochemistry*, **47**, 555-566
- Antoniw**, J. F., White, R. F. (1980): The effects of aspirin and polyacrylic acid on soluble leaf proteins and resistance to virus infection in five cultivars of tobacco. *Journal of Phytopathology*, **98**, 331-341
- Apostol**, I., Heinstejn, P. F., Low, P. S. (1989): Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured parsley cells. *Plant Physiology*, **90**, 109-116
- Aust**, H. J., Bochow, H., Buchenauer, H., Klingauf, F., Niemann, P., Petzold, R., Pöhling, H.M., Scheinpflug, H., Schönbeck, F. (1993): *Glossar phytomedizinischer Begriffe*. Schriftenreihe der DPG, Band 3 (2. ergänzte Aufl.), Ulmer, Stuttgart
- Avdiushko**, S. A., Ye, X. S., Hildebrand, D. F., Kuc, J. (1993a): Induction of lipoxygenase activity in immunized cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **42**, 83-95
- Avdiushko**, S. A., Ye, X. S., Kuc, J. (1993b): Detection of several enzymatic activities in leaf prints of cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **42**, 441-454

- Avdiushko**, S. A., Ye, X. S., Kuc, J., Hildebrand, D. F. (1994): Lipoxygenase is an abundant protein in cucumber exudates. *Planta*, **193**, 349-357
- Babbs**, C. F., Pham, J. A., Coolbaugh, R. C. (1989): Lethal hydroxyl radical production in paraquat-treated plants. *Plant Physiology*, **90**, 1267-1270
- Baker**, C. J., Mock, N. M. (1994): An improved method for monitoring cell death in cell suspension and leaf disc assays using Evans blue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **39**, 7-12
- Baker**, C. J., Orlandi, E. W. (1995): Active oxygen in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, **33**, 299-321
- Baker**, C. J., Orlandi, E. W. (1999): Active Oxygen and Pathogenesis in Plants. In: *Plant-Microbe Interactions*, Stacey, G., Keen, N. T. (Hrsg.), Chapman and Hall, New York, USA
- Balder**, H., Schönbeck, F. I. (1983): The efficiency of induced resistance under practical culture conditions. II. Rust of chrysanthemum and carnation, downy mildew of rape, cucumber and lettuce. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **90**, 200-206
- Bär**, P. R. (1996): Apoptosis-the cell's silent exit. *Life Science*, **59**, 369-378
- Barna**, B., Adam, A. L., Kiraly, Z. (1993): Juvenility and resistance of a superoxide-tolerant plant to diseases and other stresses. *Naturwissenschaften*, **80**, 420-422
- Barna**, B., El-Abdou, S., Manninger, K. (1996): Induction of systemic resistance in wheat to stem rust correlates with higher activity of enzymes of lignification. In: *Proceedings of the 9th European and Mediterranean Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference*, Kema, G. H. J., Niks, R. E., Damen, R. A. (Hrsg.), Lunteren, Niederlande, 37-39
- Barna**, B., Adam, A. L., Kiraly, Z. (1997): Increased levels of cytokinin induce tolerance to necrotic diseases and various oxidative stress-causing agents in plants. *Phyton*, **37**, 25-30
- Beauverie**, J. (1901): Essais d'immunization des vegetaux contre la maladie de la toile. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Frankreich*, **133**, 107-110
- Beauchamp**, C. O., Fridovich, I. (1971): Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ. *Biochimica et Biophysica Acta*, **317**, 50-64
- Benhamou**, N., Belanger, R. R. (1998): Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiology*, **118**, 1203-1212
- Bergstrom**, G. C., Johnson, M. C., Kuc, J. (1982): Effects of local infection of cucumber by *Colletotrichum lagenarium*, *Pseudomonas lachrymans* or tobacco necrosis virus on systemic resistance to cucumber mosaic virus. *Phytopathology*, **72**, 922-926.
- Bi**, Y. M., Kenton, P., Mur, L., Darby, R., Draper, J. (1995): Hydrogen peroxide does not function downstream of PR protein expression. *The Plant Journal*, **8**, 235-245
- Bol**, J. F., Linthorst, H. J. M., Cornelissen, B. J. C. (1990): Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Annual Review of Phytopathology*, **28**, 113-138
- Bowles**, D. (1992): Local and systemic signalling during a plant defence response. *Seminar Series of the Society of Experimental Biology*, Cambridge, Cambridge University Press, Großbritannien, **48**, 123-135
- Boller**, T., Metraux, J. P. (1988): Extracellular localization of chitinase in cucumber. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **33**, 11-16

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Bolwell, G. P., Wojtaszek, P. (1997):** Mechanisms for the generation of active oxygen species in plant defence: a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **51**, 347-366
- Bolwell, G. P. (1999):** Role of active oxygen species and NO in plant defense responses. *Current Opinion in Plant Biology*, **2**, 287-294
- Börner, H. (1997):** Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart
- Bowling, S. A., Guo, A., Cao, H., Gordon, A. S., Klessig, D. F., Dong, X. (1994):** A mutation in *arabidopsis* that leads to constitutive expression of systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, **6**, 1845-1857
- Bradford, M. M. (1976):** A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254
- Broglie, K., Chet, I., Holliday, M., Cressman, R., Biddle, P., Knowlton, S., Mauvais, C. J., Broglie, R. (1991):** Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science*, **254**, 1194-1197
- Bryngelsson, T., Collinge, D. B. (1992):** Biochemical and molecular analyses of the response of barley to infection by powdery mildew. In: *Barley: Genetics, Molecular Biology and Biotechnology*. Shewry, P. R. (Hrsg.), C.A.B. International, Wallingford, Großbritannien, 459-480
- Buchanan-Wollaston, V. (1997):** The molecular biology of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, **48**, 181-199
- Buonaurio, R., Servili, M. (1999):** Involvement of lipoxygenase, lipoxygenase pathway volatiles, and lipid peroxidation during the hypersensitive reaction of pepper leaves to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **54**, 155-169
- Cao, H., Glazebrook, J., Clarke, J. D., Volko, S., Dong, X. (1997):** The *Arabidopsis* NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell*, **88**, 57-63
- Caruso, F. L., Kuc, J. (1977a):** Field protection of cucumber, watermelon and muskmelon against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology*, **67**, 1290-1292
- Caruso, F. L., Kuc, J. (1977b):** Protection of watermelon and muskmelon against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology*, **67**, 1285-1289
- Caruso, F. L., Kuc, J. (1979):** Induced resistance of cucumber to anthracnose and angular leaf spot by *Pseudomonas lachrymans* and *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, **14**, 191-201
- Caruso, C., Caporale, C., Chilosi, G., Vacca, F., Bertini, L., Magro, P., Poerio, E., Buonocore, V. (1996):** Structural and antifungal properties of a pathogenesis-related protein from wheat kernel. *Journal of Protein Chemistry*, **15**, 35-44
- Chen, Z., Silva, H., Klessig, D. F. (1993):** Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, **262**, 1883-1886
- Chester, K. S. (1933):** The problem of acquired physiological immunity in plants. *Quarterly Review of Biology*, **8**, 275-324
- Cleland, C. F., Ajami, A. (1974):** Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiology*, **54**, 904-906

- Cohen**, J. J. (1993): Apoptosis. *Immunology Today*, **14**, 126-130
- Cohen**, Y. (1994): 3-Aminobutyric acid induces systemic resistance against *Peronospora tabacina*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **44**, 273-288
- Cohen**, Y., Niderman, T., Möisinger, E., Fluhr, R. (1994): β -Aminobutyric acid induces the accumulation of pathogenesis-related proteins in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and resistance to late blight infection caused by *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology*, **104**, 59-66
- Conrath**, U., Chen, Z., Ricigliano, J. R., Klessig, D. F. (1995): Two inducers of defense responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **92**, 7143-7147
- Conti**, G. G., Bassi, M., Maffi, D., Violini, G., Magnani, L., Gatti, L. (1994): Induced systemic resistance against *Spaerotheca fuliginea* in cucumber: Efficiency of tobacco necrosis virus (TNV) and copper sulphate (CuSO₄) in eliciting defense reactions. *Journal of Phytopathology*, **140**, 123-132
- Coquoz**, J. L., Buchala, A. J., Meuwly, P., Métraux, J.-P. (1995): Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology*, **85**, 1219-1224
- Coutts**, R. H. A., Wagih, E. E. (1983): Induced resistance to viral infection and soluble protein alterations in cucumber and cowpea plants. *Phytopathologische Zeitschrift*, **107**, 57-69
- Crafts**, A. S., Lorenz, O. (1944): Composition of fruits and phloem exudate of cucurbits. *Plant Physiology*, **19**, 326-337
- Croft**, K. P. C., Voisey, C. R., Slusarenko, A. J. (1990): Mechanism of hypersensitive cell collapse: Correlation of increased lipoxygenase activity with membrane damage in leaves of *Phaseolus vulgaris* inoculated with *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **36**, 49-62
- Cruickshank**, I. A. M., Mandryk, A. (1960): The effect of stem infestations of tobacco with *Peronospora tabacina* Adam on foliage reaction to blue mold. *Journal of Australian Agricultural Science*, **26**, 369-372
- Daayf**, F., Schmitt, A., Bélanger, R. R. (1995): The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease*, **79**, 577-580
- Daayf**, F., Schmitt, A., Belanger, R. R. (1997): Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf extracts of *Reynoutria sachalinensis*. *Plant Physiology*, **113**, 719-727
- Dalisay**, R. F., Kuc, J. A. (1995): Persistence of induced resistance and enhanced peroxidase and chitinase activities in cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **47**, 315-327
- Dangl**, J. L., Dietrich, R. A., Richberg, M. H. (1996): Death don't have no mercy: Cell death programs in plant-microbe interactions. *The Plant Cell*, **8**, 1793-1807
- Dat**, J. F., Foyer, C. H., Scott, I. M. (1998): Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. *Plant Physiology*, **118**, 1455-1461
- Davies**, E. (1987): Wound responses in plants. *Biochemistry of Plants*, **12**, 243-264

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Dean, R. A., Kuc, J. (1986a):** Induced systemic protection in cucumber: Effects of inoculum density on symptom development caused by *Colletotrichum lagenarium* in previously infected and uninfected plants. *Phytopathology*, **76**, 186-189
- Dean, R. A., Kuc, J. (1986b):** Induced systemic protection in cucumber: Time of production and movement of the signal. *Phytopathology*, **76**, 966-970
- Dean, R. A., Kuc, J. (1987a):** Rapid lignification in response to wounding and infection as a mechanism for induced systemic protection in cucumber. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **31**, 69-81
- Dean, R. A., Kuc, J. (1987b):** Immunisation against disease: The plant fights back. Symposium Series of the British Mycological Society, Cambridge, Cambridge University Press, **13**, 383-410
- Del Pozo, O., Lam, E. (1998):** Caspases and programmed cell death in the hypersensitive response of plants to pathogens. *Current Biology*, **8**, 1129-1132
- Delaney, T. P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., Gaffney, T., Gut-Rella, M., Kessmann, H., Ward, E., Ryals, J. (1994):** A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science*, **266**, 1247-1250
- Delaney, T. P., Friedrich, L., Ryals, J. (1995):** *Arabidopsis* signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **92**, 6602-6606
- Delaney, T. P. (1997):** Genetic dissection of acquired resistance to disease. *Plant Physiology*, **113**, 5-12
- Descalzo, R. C., Rahe, J. E., Mauza, B. (1990):** Comparative efficacy of induced resistance for selected diseases of greenhouse cucumber. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **12**, 16-24
- Desikan, R., Neill, S. J., Hancock, J. T. (1997):** Generation of active oxygen in *Arabidopsis thaliana*. *Phyton*, **37**, 65-70
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., Thorpe, T. (1981):** Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxid dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, **32**, 93-101
- Dixon, R. A., Harrison, M. J., Lamb, C. J. (1994):** Early events in the activation of plant defense responses. *Annual Review of Phytopathology*, **32**, 479-501
- Doke, N. (1983):** Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology*, **23**, 345-357
- Doke, N., Miura, Y., Sanchez, L. M., Park, H. J., Noritake, T., Yoshioka, H., Kawakita, K. (1996):** The oxidative burst protects plants against pathogen attack: Mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defence-a review. *Gene*, **179**, 45-51
- Doubrava, N. S., Dean, R. A., Kuc, J. (1988):** Induction of systemic resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum lagenarium* in cucumber by oxalate and extracts from spinach and rhubarb leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **33**, 69-79
- Draper, J. (1997):** Salicylate, superoxide synthesis and cell suicide in plant defence. *Trends in Plant Science*, **2**, 162-165
- Dudler, R. (1997):** Krankheitsresistenz bei Pflanzen. *Botanica Helvetica*, **107**, 151-170

- Durner**, J., Klessig, D. F. (1996): Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catabolases. *Journal of Biological Chemistry*, **271**, 28492-28501
- Duxbury**, C. L., Legge, R. L., Paliyath, G., Thompson, J. E. (1991): Lipid breakdown in smooth microsomal membranes from bean cotyledons alters membrane proteins and induces proteolysis. *Journal of Experimental Botany*, **42**, 103-112
- Dwyer**, S. C., Legendre, L., Low, P. S., Leto, T. L. (1995): Plant and human neutrophil oxidative burst complexes contain immunologically related proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1289**, 231-237
- Ellis**, R. E., Jacobson, D. M., Horvitz, H. R. (1991): Genes required for the engulfment of cell corpses during programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, **129**, 79-94
- Elliston**, J., Kuc, J., Williams, E. B. (1971): Induced resistance to bean anthracnose at a distance from the site of the inducing interaction. *Phytopathology*, **61**, 1110-1112
- Elliston**, J., Kuc, J., Williams, E. B. (1976a): Protection of *Phaseolus vulgaris* against anthracnose by *Colletotrichum* species nonpathogenic to bean. *Phytopathologische Zeitschrift*, **86**, 117-126
- Elliston**, J., Kuc, J., Williams, E. B. (1976b): A comparative study of the development of compatible, incompatible, and induced incompatible interactions between *Colletotrichum* spp. and *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathologische Zeitschrift*, **87**, 289-303
- Elstner**, E. F. (1982): Oxygen activation and oxygen toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, **33**, 73-96
- Enyedi**, A. J., Yalpani, N., Silverman, P., Raskin, I. (1992): Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. *Cell*, **70**, 879-886
- Enyedi**, A. J., Raskin, I. (1993): Induction of UDP-glucose:salicylic acid glucosyltransferase activity in TMV-inoculated tobacco leaves. *Plant Physiology*, **101**, 1375-1380
- Enyedi**, A. J. (1999): Induction of salicylic acid biosynthesis and systemic acquired resistance using the active oxygen species generator rose Bengal. *Journal of Plant Physiology*, **154**, 106-112
- Esquerre-Tugaye**, M. T., Mazau, D., Pelissier, B., Roby, D., Rumeau, D., Toppan, A. (1985): Induction by elicitors and ethylene of proteins associated to the defense of plants. *UCLA Symposium of Molecular Cell Biology*, New York, USA, **22**, 459-473
- Falkhof**, A. G., Dehne, H. W., Schönbeck, F. (1988): Dependence of the effectiveness of induced resistance on environmental conditions. *Journal of Phytopathology*, **123**, 311-321
- Feussner**, I., Fritz, I. G., Hause, B., Ullrich, W. R., Wasternack, C. (1997): Induction of a new lipoxygenase form in cucumber leaves by salicylic acid or 2,6-dichloroisonicotinic acid. *Botanica Acta*, **110**, 101-108
- Fodor**, J., Gullner, G., Adam, A. L., Barna, B., Komives, T., Kiraly, Z. (1997): Local and systemic responses to antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid to tobacco: Role in systemic acquired resistance. *Plant Physiology*, **114**, 1443-1451
- Fought**, L., Kuc, J. A. (1996): Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. *Journal of Phytopathology*, **144**, 1-6
- Fraser**, R. S. S. (1987): The biochemistry of resistance to viruses. In: *Biochemistry of virus-infected plants*. Fraser, R. S. S. (Hrsg.), Research Studies Press, Letchworth, Großbritannien, 103-171

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Friedrich**, L., Lawton, K., Ruess, W., Masner, P., Specker, N., Gut-Rella, M., Meier, B., Dincher, S., Staub, T., Uknes, S., Metraux, J. P., Kessmann, H., Ryals, J. (1996): A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *The Plant Journal*, **10**, 61-70
- Fukuda**, H. (1997a): Programmed cell death during vascular system formation. *Cell Death and Differentiation*, **5**, 684-688
- Fukuda**, H. (1997b): Tracheary element differentiation. *The Plant Cell*, **9**, 1147-1156
- Gaffney**, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negrotto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessmann, H., Ryals, J. (1993): Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science*, **261**, 754-756
- Garibaldi**, A., Minuto, G., Gullino, M. L. (1995): Alternative strategies to control zucchini powdery mildew. *Medelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, Belgien*, **60**, 317-320
- Gessler**, C., Kuc, J. (1982a): Induction of resistance to *Fusarium* wilt in cucumber by root and foliar pathogens. *Phytopathology*, **72**, 1439-1441
- Gessler**, C., Kuc, J. (1982b): Appearance of a host protein in cucumber plants infected with viruses, bacteria and fungi. *Journal of Experimental Botany*, **33**, 58-66
- Gianinazzi**, S., Martin, C., Vallee, J. (1970): Hypersensitivity to the virus, temperature and soluble protein of *Nicotiana xanthi*: Appearance of new macromolecules at the time of viral synthesis. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Frankreich*, **270**, 2383-2386
- Gilchrist**, D. (1998): Programmed cell death in plant disease: The purpose and promise of cellular suicide. *Annual Review of Phytopathology*, **36**, 393-414
- Glazener**, J. A., Orlandi, E. W., Baker, C. J. (1996): The active oxygen response of cell suspensions to incompatible bacteria is not sufficient to cause hypersensitive cell death. *Plant Physiology*, **110**, 759-763
- Glass**, A. D. M. (1973): Influence of phenolic acids on ion uptake. I. Inhibition of phosphate uptake. *Plant Physiology*, **51**, 1037-1041
- Glass**, A. D. M. (1974a): Influence of phenolic acids upon ion uptake. II. A structure-activity study of the inhibition of phosphate uptake by benzoic acid derivatives. *Bulletin of the Royal Society of New Zealand*, **12**, 159-164
- Glass**, A. D. M. (1974b): Influence of phenolic acids upon ion uptake. III. Inhibition of potassium absorption. *Journal of Experimental Botany*, **25**, 1104-1113
- Goodman**, R. N., Novacky, A. J. (1994): The hypersensitive reaction in plants to pathogens: a resistance phenomenon. *American Phytopathological Society, St. Paul, USA*
- Goodman**, R. N., Kiraly, Z., Wood, K. R. (1986): *The biochemistry and physiology of plant disease*. University of Missouri Press, Columbia, USA
- Gottstein**, H. D., Kuc, J. A. (1989): Induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. *Phytopathology*, **79**, 176-179
- Görlach**, J., Volrath, S., Knauf-Beiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K.-H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., Ryals, J. (1996): Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell*, **8**, 629-643

- Greenberg**, J. T., Guo, A., Klessig, D. F., Ausubel, F. M. (1994): Programmed cell death in plants: A pathogen-triggered response activated coordinately with multiple defense functions. *Cell*, **77**, 551-563
- Greenberg**, J. T. (1997): Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, **48**, 525-545
- Gross**, G. G. (1977): Biosynthesis of lignin and related monomers. *Recent Advances in Phytochemistry*, **11**, 141-184
- Guedes**, M. E. M., Richmond, S., Kuc, J. (1980): Induced systemic resistance to anthracnose in cucumber as influenced by the location of the inducer inoculation with *Colletotrichum lagenarium* and the onset of flowering and fruiting. *Physiological Plant Pathology*, **17**, 229-233
- Gutteridge**, J. M. C., Halliwell, B. (1990): The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Science*, **15**, 129-135
- Haber**, N. (1993): Effect of "alternative" preparations on diseases and yield of winter wheat. *Gesunde Pflanze*, **45**, 47-49
- Hall**, C. B., Knapp, F. W., Stall, R. E. (1969): Polyphenoloxidase activity in bacterially induced graywall of tomato fruit. *Phytopathology*, **59**, 267-268
- Hammerschmidt**, R., Acres, S., Kuc, J. (1976): Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* and *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopathology*, **66**, 790-793
- Hammerschmidt**, R., Kuc, J. (1982): Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber against *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, **20**, 61-71
- Hammerschmidt**, R., Nuckles, E. M., Kuc, J. (1982): Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, **20**, 73-82
- Hammerschmidt**, R., Lamport, D. T. A., Muldoon, E. P. (1984): Cell wall hydroxyproline enhancement and lignin deposition as an early event in the resistance of cucumber to *Cladosporium cucumerinum*. *Physiological Plant Pathology*, **24**, 43-47
- Hammerschmidt**, R., Yang-Cashman, P. (1995): Induced resistance in cucurbits. In: *Induced resistance to disease in plants*. Hammerschmidt, R., Kuc, J. (Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 63-85
- Hammond-Kossack**, K. E., Jones, J. D. G. (1996): Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, **8**, 1773-1791
- Havel**, L., Durzan, D. J. (1996): Apoptosis in plants. *Botanica Acta*, **109**, 268-277
- He**, S. Y., Bauer, D. W., Collmer, A., Beer, S. V. (1994): Hypersensitive response elicited by *Erwinia amylovora* harpin requires active plant metabolism. *Molecular Plant Microbe Interactions*, **7**, 289-292
- Heath**, R. L., Packer, L. (1968): Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **125**, 189-198
- Heath**, M. C. (1980): Effects of infection by compatible species or injection of tissue extracts on the susceptibility of nonhost plants to rust fungi. *Phytopathology*, **70**, 356-360

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Heath**, M. C. (1997): Signalling between pathogenic rust fungi and resistant or susceptible host plants. *Annals of Botany*, **80**, 713-720
- Heath**, M. C. (1998a): Apoptosis, programmed cell death and the hypersensitive response. *European Journal of Plant Pathology*, **104**, 117-124
- Heath**, M. C. (1998b): Involvement of reactive oxygen species in the response of resistant (hypersensitive) or susceptible cowpeas to the cowpea rust fungus. *New Phytologist*, **138**, 251-263
- Heath**, M. C. (1999): The enigmatic hypersensitive response: Induction, execution and role. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **55**, 1-3
- Herbert**, T. T. (1971): The perfect stage of *Pyricularia grisea*. *Phytopathology*, **61**, 83-87
- Heller**, W. E., Gessler, C. (1986): Induced systemic resistance in tomato plants against *Phytophthora infestans*. *Journal of Phytopathology*, **116**, 323-328
- Hennig**, J., Dewey, R. E., Cutt, J. R., Klessig, D. F. (1993a): Pathogen, salicylic acid and developmental dependent expression of a beta-1,3-glucanase/GUS gene fusion in transgenic tobacco plants. *The Plant Journal*, **4**, 481-493
- Hennig**, J., Malamy, J., Gryniewicz, G., Indulski, J., Klessig, D. F. (1993b): Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside in tobacco. *The Plant Journal*, **4**, 593-600
- Herger**, G., Klingauf, F., Mangold, D., Pommer, E. H., Scherer, M. (1988): Die Wirkung von Auszügen aus dem Sachalin-Staudenknöterich *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, gegen Pilzkrankheiten, insbesondere Echte Mehltau-Pilze. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **40**, 56-60
- Hermann**, W., Zingen-Sell, I., Beuther, E., Buchenauer, H. (1994): Untersuchungen zur resistenz-induzierenden Wirkung von Phosphaten gegenüber Getreidemehltau. *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem*, **301**, 284
- Hoffland**, E., Pieterse, M. J., Bik, L., Van Pelt, J. A. (1995): Induced systemic resistance in radish is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **46**, 309-320
- Hückelhoven**, R., Kogel, K.-H. (1998): Tissue-specific superoxide generation at interaction sites in resistant and susceptible near-isogenic barley lines attacked by the powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **11**, 292-300
- Hückelhoven**, R., Fodor, J., Preis, C., Kogel, K. H. (1999): Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiology*, **119**, 1251-1260
- Hunt**, M. D., Ryals, J. A. (1996): Systemic acquired resistance signal transduction. *Critical Reviews in Plant Science*, **15**, 583-606
- Hwang**, B. K., Heitefuss, R. (1982): Induced resistance of spring barley to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Phytopathologische Zeitschrift*, **103**, 41-47
- Irving**, H. R., Kuc, J. A. (1990): Local and systemic induction of peroxidase, chitinase and resistance in cucumber plants by K₂HPO₄. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **37**, 355-366
- Jabs**, T., Dietrich, R. A., Dangl, J. L. (1996): Initiation of runaway cell death in an *Arabidopsis* mutants by extracellular superoxide. *Science*, **273**, 1853-1856

- Jabs, T., Tschoepe, M., Colling, C., Hahlbrock, K., Scheel, D. (1997):** Elicitor-stimulated ion fluxes and O_2^- from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **94**, 4800-4805
- Jenns, A. E., Kuc, J. (1977):** Localized infection with tobacco necrosis virus protects cucumber against *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, **11**, 207-212
- Jenns, A. E., Caruso, F. L., Kuc, J. (1979):** Non-specific resistance to pathogens induced systemically by local infection of cucumber with tobacco necrosis virus, *Colletotrichum lagenarium* or *Pseudomonas lachrymans*. *Phytopathologia Mediteranea*, **18**, 129-134
- Jenns, A. E., Kuc, J. (1979):** Graft transmission of systemic resistance of cucumber to anthracnose induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. *Phytopathology*, **69**, 753-756
- Jenns, A. E., Kuc, J. (1980):** Characterization of anthracnose resistance induced by localized infection of cucumber with tobacco necrosis virus. *Physiological Plant Pathology*, **17**, 81-91
- Jeun, Y. C., Siegrist, J., Buchenauer, H. (2000):** Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to *Phytophthora infestans* in tomato plants. *Journal of Phytopathology*, **148**, 129-140
- Ji, C., Kuc, J. (1995):** Purification and characterization of an acidic beta-1,3-glucanase from cucumber and its relationship to systemic disease resistance induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **8**, 899-905
- Kalix, S. (1996):** Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsmechanismen verschiedener Resisteninduktoren gegenüber verschiedenen Schaderregern bei *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi nc. Dissertation Universität Hohenheim, Verlag Ulrich E. Grauer, Stuttgart
- Katsuhara, M., Kawasaki, T. (1996):** Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots. *Plant and Cell Physiology*, **37**, 169-173
- Kauss, H. (1989):** Fluorometric measurement of callose and other 1,3- β -glucans. In: *Modern Methods of Plant Analysis*. Linskens, H.F., Jackson, J.F. (Hrsg.), Springer, Heidelberg, 127-137
- Kauss, H., Theisinger-Hinkel, E., Mindermann, R., Conrath, U. (1992):** Dichloroisonicotinic and salicylic acid, inducers of systemic acquired resistance, enhance fungal elicitor responses in parsley cells. *The Plant Journal*, **2**, 655-660
- Kauss, H., Jeblick, W. (1995):** Pretreatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H_2O_2 . *Plant Physiology*, **108**, 1171-1178
- Kehlenbeck, H., Krone, C., Oerke, E. C., Schönbeck, F. (1994):** The effectiveness of induced resistance on yield of mildewed barley. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **101**, 11-21
- Keogh, R. C., Deverall, B. J., McLeod, S. (1980):** Comparison of histological and physiological responses to *Phakopsora pachyrhizi* in resistant and susceptible soybean. *Transactions of the British Mycological Society*, **74**, 329-333
- Keppler, L. D., Novacky, A. (1986):** Involvement of membrane lipid peroxidation in the development of a bacterially induced hypersensitive reaction. *Phytopathology*, **76**, 104-108
- Keppler, L. D., Novacky, A. (1987):** The initiation of membrane lipid peroxidation during bacteria-induced hypersensitive reaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **30**, 233-245

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., Ryals, J. (1994a):** Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology*, **32**, 439-459
- Kessmann, H., Ward, E., Ryals, J. (1994b):** A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science*, **266**, 1247-1250
- Kessmann, H., Oostendorp, M., Ruess, W., Staub, T. Kunz, W., Ryals, J. (1996):** Systemic activated resistance - a new technology for plant disease control. *Pesticide Outlook*, **7**, 10-13
- Klement, Z. (1965):** Method of obtaining fluid from the intercellular spaces of foliage and the fluid's merit as substrate for phyto-bacterial pathogens. *Phytopathological Notes*, **55**, 1033-1034
- Klessig, D. F., Malamy, J. (1994):** The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology*, **26**, 1439-1458
- Klessig, D. F., Durner, J., Shah, J., Yang, Y. (1998):** Salicylic acid mediated signal transduction in plant disease resistance. In: *Phytochemical Signals and Plant-Microbe Interactions (Recent Advances in Phytochemistry Vol. 32)*. Romero, J. T., Downum, K. R., Verpoorte, R. (Hrsg.), Plenum Press, New York, USA, 119-136
- Kloepper, J. W., Tuzun, S., Liu, L., Wei, G. (1993):** Plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic disease resistance. In: *Pest Management: Biologically based technologies*. Lumsden, R. D. F., Waughn, J. L. (Hrsg.), American Chemical Society Books, Washington, USA, 156-165
- Knox, J. P., Dodge, A. D. (1985):** Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry*, **24**, 889-896
- Kömives, T., Casida, J. E. (1996):** Acifluorfen increases the leaf content of phytoalexins and stress metabolites in several crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **31**, 751-755
- Kogel, K. H., Ortel, B., Jarosch, B., Atzorn, R., Schiffer, R., Wasternack, C. (1995):** Resistance in barley against the powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*) is not associated with enhanced levels of endogenous jasmonates. *European Journal of Plant Pathology*, **101**, 319-332
- Kowalewski, A., Schmitt, A. (1993):** Pflanzenextrakte und ihre Verwendung in der Phytomedizin. *Gesunde Pflanze*, **45**, 43-47
- Kováts, K., Binder, A., Hohl, H. R. (1991):** Cytology of induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Planta*, **183**, 484-490
- Kuc, J., Shockley, G., Kearney, K. (1975):** Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, **7**, 195-199
- Kuc, J. (1977):** Plant protection by the activation of latent mechanisms for resistance. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **83**, 463-471
- Kuc, J., Richmond, S. (1977):** Aspects of the protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology*, **67**, 533-536
- Kuc, J. (1982):** Induced immunity to plant disease. *BioScience*, **32**, 854-860
- Kuc, J. (1983):** Induced systemic resistance in plants to disease caused by fungi and bacteria. In: *The Dynamics of Host Defense*. Bailey, J. A., Deverall, B. J. (Hrsg.), Academic Press, New York, USA, 255-271

- Kuc, J.** (1985): Increasing crop productivity and value by increasing disease resistance through non-genetic techniques. In: Forest potentials: Productivity and value. Ballard, R., Farnum, P., Ritchie, G. A., Winjum, J. K. (Hrsg.), Symposium Tacoma, Washington, USA, 20.-24.8.1984, Weyerhaeuser Science Symposium, **4**, 147-190
- Kuc, J.** (1987): Plant immunization and its applicability for disease control. In: Innovative approaches to plant disease control. Chet, I. (Hrsg.), John Wiley, New York, USA, 255-274
- Kuc, J.** (1993): Induced resistance technology for the control of plant disease. In: New frontiers in rice research. Muralidharan, K., Siddiq, E. A. (Hrsg.), Directorate of Rice Research, Hyderabad, Pakistan, 213-220
- Kuc, J.** (1993): Signalling PR-proteins and induced resistance. Abstracts of the 6th International Congress of Plant Pathology, 28.7.-6.8.1993, Montreal, Kanada
- Kuc, J.** (1995): Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. Annual Review of Phytopathology, **33**, 275-297
- Kunoh, H., Aist, J. R., Hayashimoto, A.** (1985): The occurrence of cytoplasmic aggregates induced by *Erysiphe pisi* in barley coleoptile cells before the host cell walls are penetrated. Physiological Plant Pathology, **26**, 199-207
- Kutzner, B.** (1989): Zur systemischen Resistenzinduktion in *Phaseolus vulgaris* L. gegenüber dem Tabaknekrosevirus (TNV) durch *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint.: Charakterisierung von befalls-mindernden Komponenten im Interzellularraum. Dissertation Universität Hannover
- Kutzner, B., Hellwald, K. H., Buchenauer, H.** (1992): Systemic induction of resistance in *Phaseolus vulgaris* L. to tobacco necrosis virus (TNV) by *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. Journal of Phytopathology, **138**, 9-20
- Lagrimini, L. M., Burkhart, W., Moyer, M., Rothstein, S.** (1987): Molecular cloning of complementary RNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, **84**, 7542-7546
- Lamb, C. J., Dixon, R. A.** (1997): The oxidative burst in plant disease resistance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, **48**, 251-275
- Lawton, K., Weymann, K., Friedrich, L., Vernooij, B., Uknes, S., Ryals, J.** (1995): Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene. Molecular Plant-Microbe Interactions, **8**, 863-870
- Lawton, K., Friedrich, L., Hunt, M., Weyman, K., Kessmann, H., Staub, T., Ryals, J.** (1996): Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. The Plant Journal, **10**, 71-82
- Lee, H. I., Leon, J., Raskin, I.** (1995): Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, **92**, 4076-4079
- Leon, J., Shulaev, V., Yalpani, N., Lawton, M. A., Raskin, I.** (1995a): Benzoic acid 2-hydroxylase, a soluble oxygenase from tobacco, catalyzes salicylic acid biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, **92**, 10413-10417
- Leon, J., Lawton, M. A., Raskin, I.** (1995b): Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. Plant Physiology, **108**, 1673-1678
- Leslie, C. A., Romani, R. J.** (1986): Salicylic acid: a new inhibitor of ethylene biosynthesis. Plant Cell Reports, **5**, 144-146

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Leslie, C. A., Romani, R. J.** (1988): Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. *Plant Physiology*, **88**, 833-837
- Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R., Lamb, C.** (1994): H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, **79**, 583-593
- Linthorst, H. J. M., Meuwissen, R. L. J., Kauffmann, S., Bol, J. F.** (1989): Constitutive expression of pathogenesis-related proteins PR-1, GRP, and RP-S in tobacco has no effect on virus infection. *The Plant Cell*, **1**, 285-291
- Linthorst, H. J. M.** (1991): Pathogenesis-related proteins of plants. *Critical Reviews in Plant Science*, **10**, 123-150
- Liu, D., Ragothama, K. G., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A.** (1994): Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **91**, 1888-1892
- Liu, L., Kloepper, J. W., Tuzun, S.** (1995): Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology*, **85**, 1064-1068
- Liu, L., Kloepper, J. W., Tuzun, S.** (1996): Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, **85**, 695-698
- Low, P. S., Merida, J. R.** (1996): The oxidative burst in plant defense: function and signal transduction. *Physiologia Plantarum*, **96**, 533-542
- Lyon, G. D., Reglinski, T., Forrest, R. S., Newton, A. C.** (1995a): The use of resistance elicitors to control plant diseases. Physiological responses of plants to pathogens, 11.9.-13.9.1995, University of Dundee, Großbritannien, *Aspects of Applied Biology*, **42**, 227-234
- Lyon, G. D., Reglinski, T., Newton, A. C.** (1995b): Novel disease control compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. *Plant Pathology*, **44**, 407-427
- Madamanchi, N. R., Kuc, J.** (1991): Induced systemic resistance in plants. In: The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Cole, G. T., Hoch, H. C. (Hrsg.), Plenum Press, New York, USA, 347-362
- Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F., Raskin, I.** (1990): Salicylic acid: A likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, **250**, 1002-1004
- Malamy, J., Klessig, D. F.** (1992): Salicylic acid and plant disease resistance. *The Plant Journal*, **2**, 643-654
- Malamy, J., Hennig, J., Klessig, D. F.** (1992): Temperature-dependent induction of salicylic acid and its conjugates during the resistance response to tobacco mosaic virus infection. *The Plant Cell*, **4**, 359-366
- Malamy, J., Sanchez-Casas, P., Hennig, J., Guo, A., Klessig, D. F.** (1996): Dissection of the salicylic acid signaling pathway in tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **9**, 474-482
- Manandhar, H. K., Jorgensen, H. J. L., Mathur, S. B., Smedegaard-Petersen, V.** (1998): Resistance to rice blast induced by ferric chloride, di-potassium hydrogen phosphate and salicylic acid. *Crop protection*, **17**, 323-329

- Mauch**, F., Hadwiger, L. A., Boller, T. (1988a): Antifungal hydrolases in pea tissue. I. Purification and characterization of two chitinases and two beta-1,3-glucanases differentially regulated during development and in response to fungal infection. *Plant Physiology*, **87**, 325-333
- Mauch**, F., Mauch-Mani, B., Boller, T. (1988b): Antifungal hydrolases in pea tissue. II. Inhibition of fungal growth by combination of chitinases and glucanases. *Plant Physiology*, **88**, 936-942
- Mauch-Mani**, B., Slusarenko, A. J. (1996): Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. *The Plant Cell*, **8**, 203-212
- Mauch-Mani**, B., Metraux, J. P. (1998): Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Annals of Botany*, **82**, 535-540
- McIntyre**, J. L., Dodds, J. A., Hare, J. D. (1981): Effects of infection of *Nicotiana tabacum* by tobacco mosaic virus on systemic resistance against diverse pathogens and an insect. *Phytopathology*, **71**, 297-301
- Mehdy**, M. C. (1994): Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiology*, **105**, 467-472
- Mehdy**, M. C., Sharma, Y. K., Sathasivan, K., Bays, N. W. (1996): The role of activated oxygen species in plant disease resistance. *Physiologia Plantarum*, **98**, 365-374
- Metraux**, J. P., Boller, T. (1986): Local and systemic induction of chitinase in cucumber plants in response to viral, bacterial and fungal infections. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **28**, 161-169
- Metraux**, J. P., Streit, L., Staub, T. (1988): A pathogenesis-related protein in cucumber is a chitinase. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **33**, 1-9
- Metraux**, J. P., Burkhart, W., Moyer, M., Dincher, S., Middlesteadt, W., Williams, S., Payne, G., Carnes, M., Ryals, J. (1989): Isolation of a complementary DNA encoding a chitinase with structural homology to a bifunctional lysozyme/chitinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **86**, 896-900
- Metraux**, J. P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., Wyss-Benz, M., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmid, E., Blum, W., Inverardi, B. (1990): Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, **250**, 1004-1006
- Métraux**, J. P., Ahl-Goy, P., Staub, T., Speich, T., Steinemann, A., Ryals, J., Ward, E. (1991): Induced systemic resistance in cucumber in response to 2,6-dichloroisonicotinic acid and pathogens. In: *Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions*. Hennecke, H., Verma, D. P. S. (Hrsg.), Kluwer Academic Press, Dordrecht, Niederlande, 432-439
- Meuwly**, P., Metraux, J. P. (1993): Ortho-anisic acid as internal standard for the simultaneous quantitation of salicylic acid and its putative biosynthetic precursors in cucumber leaves. *Analytical Biochemistry*, **214**, 500-505
- Meuwly**, P., Mölders, W., Summermatter, C., Sticher, L., Metraux, J. P. (1994): Salicylic acid and chitinase in infected cucumber plants. *Acta Horticulturae*, **381**, 371-374
- Meuwly**, P., Mölders, W., Buchala, A., Metraux, J. P. (1995): Local and systemic biosynthesis of salicylic acid in infected cucumber plants. *Plant Physiology*, **109**, 1107-1114
- Mittler**, R., Herr, E. H., Orvar, B. L., van Camp, W., Willekens, H., Inze, D., Ellis, B. E. (1999): Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are

6. LITERATURVERZEICHNIS

- hyperresponsive to pathogen infection. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, **96**, 14165-14170
- Mölders**, W., Meuwly, P., Summermatter, K., Metraux, J. P. (1994): Salicylic acid content in cucumber plants infected with *Pseudomonas lachrymans* and tobacco necrosis virus. Acta Horticulturae, **381**, 375-378
- Mölders**, W., Buchala, A., Metraux, J. P. (1996): Transport of salicylic acid in tobacco necrosis virus-infected cucumber plants. Plant Physiology, **112**, 787-792
- Morris**, S. W., Vernooij, B., Titatarn, S., Starrett, M., Thomas, S., Wiltse, C. C., Frederiksen, R. A., Bhandhufalck, A., Hulbert, S., Uknes, S. (1998): Induced resistance responses in maize. Molecular Plant-Microbe Interactions, **11**, 643-658
- Mucharromah**, E., Kuc, J. A. (1991): Oxalate and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. Crop Protection, **10**, 265-270
- Murray**, D. C., Walters, D. R. (1992): Increased photosynthesis and resistance to rust infection in upper, uninfected leaves of rusted broad bean (*Vicia faba* L.). New Phytologist, **120**, 235-242
- Neuenschwander**, U., Vernooij, B., Friedrich, L., Uknes, S., Kessmann, H., Ryals, J. (1995): Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance? The Plant Journal, **8**, 227-233
- Neuhaus**, J. M., Ahl-Goy, P., Hinz, U., Flores, S., Meins, F. (1991): High-level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana glauca*: Susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection. Plant Molecular Biology, **16**, 141-151
- Niderman**, T., Genetet, I., Bruyere, T., Gees, R., Stintzi, A., Legrand, M., Fritig, B., Möisinger, E. (1995): Pathogenesis-related PR-1 Proteins are antifungal. Plant Physiology, **108**, 17-27
- Nielsen**, K. K., Bojsen, K., Collinge, D. B., Mikkelsen, J. D. (1994): Induced resistance in sugar beet against *Cercospora beticola*: Induction by dichloroisonicotinic acid is independent of chitinase and β -1,3-glucanase transcript accumulation. Physiological and Molecular Plant Pathology, **45**, 89-99
- Oerke**, E. C., Dehne, H. W., Schönbeck, F., Weber, A. (1994): Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Elsevier, Amsterdam, Niederlande
- Oostendorp**, M., Kessmann, H., Friedrich, L., Geissmann, A., Gorch, J., Hengy, G., Nordmeyer, D., Reist, R., Ruess, W., Staub, T. (1996): Influence of plant activator Bion[®] and of triazole-fungicides on plant defence mechanisms. Gesunde Pflanze, **48**, 260-264
- Orzaez**, D., Granell, A. (1997a): DNA fragmentation is regulated by ethylene during carpel senescence in *Pisum sativum*. The Plant Journal, **11**, 137-144
- Orzaez**, D., Granell, A. (1997b): The plant homologue of the defender against apoptotic death gene is down-regulated during senescence of flower petals. FEBS Letters, **404**, 275-278
- Ouchi**, S., Oku, H., Hibino, C. (1976a): Some characteristics of induced susceptibility and resistance demonstrated in powdery mildew (*Erysiphe graminis hordei*) of barley. In: Biochemistry and cytology of plant-parasite interaction. Tomiyama, K., Daly, J. M., Uritani, I., Oku, H., Ouchi, S. (Hrsg.), Kodansha, Tokyo, Japan, 181-194
- Ouchi**, S., Oku, H., Hibino, C. (1976b): Localization of induced resistance and susceptibility in barley leaves inoculated with the powdery mildew fungus. Phytopathology, **66**, 901-905

- Pasini, C., D'Aquila, F., Curir, P., Gullino, M. L. (1997):** Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. *Crop Protection*, **16**, 251-256
- Paxton, J. D. (1981):** Phytoalexins—a working redefinition. *Phytopathologische Zeitschrift*, **101**, 106-109
- Peng, M., Kuc, J. (1992):** Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity in vitro and on tobacco leaf disks. *Phytopathology*, **82**, 696-699
- Pennell, R. I., Lamb, C. (1997a):** Programmed cell death in plants. *Trends in Plant Science*, **4**, 114-119
- Pennell, R. I., Lamb, C. (1997b):** Programmed cell death in plants. *The Plant Cell*, **9**, 1157-1168
- Pieterse, C. M. J., van Wees, S. C. M., Hoffland, E., van Pelt, J. A., van Loon, L. C. (1996):** Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *The Plant Cell*, **8**, 1225-1237
- Ponstein, A. S., Bres-Vloemans, S. A., Sela-Buurlage, M. B., van den Elzen, P. J. M., Melchers, L. S., Cornelissen, B. J. C. (1994):** A novel pathogen- and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. *Plant Physiology*, **104**, 109-118
- Prell, H. H. (1996):** Interaktionen von Pflanzen und phytopathogenen Pilzen. Gustav Fischer Verlag, Jena
- Punja, Z. K., Zhang, Y. Y. (1993):** Plant chitinases and their roles in resistance to fungal diseases. *Journal of Nematology*, **25**, 526-540
- Raskin, I., Ehmann, A., Melander, W. R., Meeuse, B. J. D. (1987):** Salicylic acid - a natural inducer of heat production in *Arum* lilies. *Science*, **237**, 1601-1602
- Raskin, I., Turner, I. M., Melander, W. R. (1989):** Regulation of heat production in the inflorescences of an *Arum* lily by endogenous salicylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **86**, 2214-2218
- Raskin, I., Skubatz, H., Tang, W., Meeuse, B. J. D. (1990):** Salicylic acid levels in thermogenic and non-thermogenic plants. *Annals of Botany*, **66**, 376-373
- Raskin, I. (1992):** Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, **99**, 799-803
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R., Zook, M. N. (1991):** Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology*, **79**, 1342-1347
- Rathmell, W., Sequeira, L. (1974):** Soluble peroxidase in fluid from the intercellular spaces of tobacco leaves. *Plant Physiology*, **53**, 317-318
- Raupach, G. S., Murphy, J. F., Kloepper, J. W. (1995):** Biological control of cucumber mosaic virus in *Cucumis sativus* L. by PGPR-mediated induced systemic resistance. *Phytopathology*, **85**, 1167
- Raupach, G. S., Liu, L., Murphy, J. F., Tuzun, S., Kloepper, J. W. (1996):** Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Plant Disease*, **80**, 891-894

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Rauscher**, M., Adam, A. L., Wirtz, S., Guggenheim, R., Mendgen, K., Deising, H. B. (1999): PR-1 protein inhibits the differentiation of rust infection hyphae in leaves of acquired resistant broad bean. *The Plant Journal*, **19**, 625-633
- Ray**, J. (1901): Les maladies cryptogamiques des vegetaux. *Revue Generale de Botanique*, **13**, 145-151
- Reglinski**, T., Lyon, G. D., Newton, A. C. (1994): Induction of resistance mechanisms in barley by yeast-derived elicitors. *Annals of Applied Biology*, **124**, 509-517
- Retig**, N., Chet, I. (1974): Catechol-induced resistance of tomato plants to *Fusarium* wilt. *Physiological Plant Pathology*, **4**, 469-475
- Reuveni**, M., Agapov, V., Reuveni, R. (1993a): Induction of systemic resistance to powdery mildew and growth increase in cucumber by phosphates. *Biological Agriculture and Horticulture*, **9**, 305-315
- Reuveni**, M., Reuveni, R. (1993b): Efficacy of phosphates in controlling powdery mildew fungus on field grown winegrapes. *Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology*, 28.7.-6.8.1993, Montreal, Kanada, 214
- Reuveni**, R., Reuveni, M., Agapov, V. (1994a): Induction of growth increase and systemic resistance to *Exserohilum turcicum* in maize by foliar spray of phosphates. *Journal of Phytopathology*, **141**, 337-346
- Reuveni**, R., Agapov, V., Reuveni, M. (1994b): Foliar spray of phosphates induces growth increase and systemic resistance to *Puccinia sorghi* in maize. *Plant Pathology*, **43**, 245-250
- Reuveni**, R., Agapov, V., Reuveni, M., Raviv, M. (1994c): Effects of foliar sprays of phosphates on powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) of roses. *Journal of Phytopathology*, **142**, 331-337
- Reuveni**, M., Agapov, V., Reuveni, R. (1995): Induced systemic protection to powdery mildew in cucumber by phosphate and potassium fertilizers: Effects of inoculum concentration and post-inoculation treatment. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **17**, 247-251
- Reuveni**, M., Reuveni, R. (1995): Efficacy of foliar sprays of phosphates in controlling powdery mildews in field-grown nectarine, mango trees and grapevines. *Crop Protection*, **14**, 311-314
- Reuveni**, R., Reuveni, M., Agapov, V. (1996a): Foliar sprays of NPK fertilizers induce systemic protection against *Puccinia sorghi* and *Exserohilum turcicum* and growth response in maize. *European Journal of Plant Pathology*, **102**, 339-348
- Reuveni**, M., Agapov, V., Reuveni, R. (1996b): Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. *Crop Protection*, **15**, 49-53
- Reuveni**, M., Agapov, V., Reuveni, R. (1997): A foliar spray of micronutrient solutions induces local and systemic protection against powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in cucumber plants. *European Journal of Plant Pathology*, **103**, 581-588
- Reuveni**, M., Reuveni, R. (1998a): Foliar applications of mono-potassium phosphate fertilizer inhibit powdery mildew development in nectarine trees. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **20**, 253-258
- Reuveni**, R., Reuveni, M. (1998b): Foliar-fertilizer therapy-a concept in integrated pest management. *Crop Protection*, **17**, 111-118

- Reuveni, M., Oppenheim, D., Reuveni, R. (1998a):** Integrated control of powdery mildew in apple trees by monopotassium phosphate fertilizer and sterol inhibitor fungicides. *Crop Protection*, **17**, 563-568
- Reuveni, M., Harpaz, M., Reuveni, R. (1998b):** Integrated control of powdery mildew on field-grown mango trees by foliar sprays of mono-potassium phosphate fertilizer, sterol inhibitor fungicides and the strobilurin Kresoxim-methyl. *European Journal of Plant Pathology*, **104**, 853-860
- Reuveni, R., Dor, G., Reuveni, M. (1998c):** Local and systemic control of powdery mildew (*Leveillula taurica*) on pepper plants by foliar spray of mono-potassium phosphate. *Crop Protection*, **17**, 703-709
- Reuveni, R., Dor, G., Raviv, M., Reuveni, M., Tuzun, S. (2000):** Systemic resistance against *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber plants exposed to phosphate in hydroponics system, and its control by foliar spray of mono-potassium phosphate. *Crop Protection*, **19**, 355-361
- Richael, C., Gilchrist, D. (1999):** The hypersensitive response: A case of hold or fold? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **55**, 5-12
- Richmond, S., Kuc, J., Elliston, J. E. (1979):** Penetration of cucumber leaves by *Colletotrichum lagenarium* is reduced in plants systemically protected by previous infection with the pathogen. *Physiological Plant Pathology*, **14**, 329-338
- Ross, A. F. (1961a):** Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology*, **14**, 329-339
- Ross, A. F. (1961b):** Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology*, **14**, 340 - 358
- Ross, A. F. (1966):** Systemic effects of local lesion formation. In: *Viruses of Plants*. Beemster, A. B. R., Dijkstra, J. (Hrsg.), North-Holland, Amsterdam, Niederlande, 127-150
- Ruess, W., Mueller, K., Knauf-Beiter, G., Kunz, W., Staub, T. (1996):** Plant activator CGA 245704: an innovative approach for disease control in cereals and tobacco. Brighton Crop Protection Conference: Pests & Diseases, 18.-21.11.1996, Brighton, Großbritannien, Vol. 1, 53-60
- Rusterucci, C., Stallaert, V., Milat, M. L., Pugin, A., Ricci, P., Blein, J.-P. (1996):** Relationship between active oxygen species, lipid peroxidation, necrosis, and phytoalexin production induced by elicitors in *Nicotiana*. *Plant Physiology*, **111**, 885-891
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H.-Y., Hunt, M. D. (1996):** Systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, **8**, 1809-1819
- Sandermann, H., Ernst, D., Heller, W., Langebartels, C. (1998):** Ozone: An abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends in Plant Science*, **3**, 47-50
- Schmele, I., Kauss, H. (1990):** Enhanced activity of the plasma membrane localized callose synthase in cucumber leaves with induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **37**, 221-228
- Schneider, S., Ullrich, W. R. (1994):** Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **45**, 291-304
- Schönbeck, F., Dehne, H. W., Beicht, W. (1980):** Untersuchungen zur Aktivierung unspezifischer Resistenzmechanismen in Pflanzen. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **87**, 654-666

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Schönbeck**, F., Dehne, H. W., Balder, H. (1982): The efficiency of induced resistance under practical culture conditions. I. Powdery mildew of grape, cucumber and wheat. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **89**, 177-184
- Schönbeck**, F., Steiner, U., Kraska, T. (1993): Induzierte Resistenz: Kriterien, Mechanismen, Anwendung und Bewertung. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **100**, 541-557
- Schraudner**, M., Moeder, W., Wiese, C., van Camp, W., Inzé, D., Langebartels, C., Sandermann, H. (1998): Ozone-induced oxidative burst in the ozone biomonitor plant, tobacco Bel W3. *The Plant Journal*, **16**, 235-245
- Schweizer**, P., Hunziker, W., Mosinger, E. (1989): cDNA cloning, in vitro transcription and partial sequence analysis of mRNAs from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) with induced resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Molecular Biology*, **12**, 643-654
- Sequeira**, L. (1983): Mechanisms of induced resistance in plants. *Annual Review of Microbiology*, **37**, 51-79
- Seskar**, M., Shulaev, V., Raskin, I. (1997): Non-volatile methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants. *Plant Physiology*, **116**, 387-392
- Shah**, J., Tsui, F., Klessig, D. F. (1997): Characterization of a salicylic acid-insensitive mutant (sai1) of *Arabidopsis thaliana*, identified in a selective screen utilizing the SA-inducible expression of the tms2 gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **10**, 69-78
- Shapiro**, A. D. (2000): Using *Arabidopsis* mutants to delineate disease resistance signalling pathways. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **22**, 199-216
- Shirasu**, K., Nakajima, H., Rajasekhar, V. K., Dixon, R. A., Lamb, C. (1997): Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell*, **9**, 261-270
- Shulaev**, V., Leon, J., Raskin, I. (1995): Is salicylic acid a translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco? *The Plant Cell*, **7**, 1691-1701
- Shulaev**, V., Silverman, P., Raskin, I. (1997): Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, **385**, 718-721
- Siedow**, J. N. (1991): Plant lipoxygenase: structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **42**, 145-188
- Siegrist**, J., Glenewinkel, D., Kollé, C., Schmidtke, M. (1997): Chemically induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **104**, 599-610
- Siegrist**, J., Orober, M., Buchenauer, H. (2000): beta-aminobutyric acid-mediated enhancement of resistance in tobacco to tobacco mosaic virus depends on the accumulation of salicylic acid. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **56**, 95-106
- Singh**, N. K., Nelson, D. E., Kuhn, D., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A. (1989): Molecular cloning of osmotin and regulation of its expression by ABA and adaptation to low water potential. *Plant Physiology*, **90**, 1096-1101
- Slusarenko**, A. J., Meier, B. M., Croft, K. P. C., Eiben, H. G. (1993): Lipoxygenase in plant disease. In: *Mechanisms of plant defense responses*. Fritig, B., Legrand, M. (Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 211-220

- Smith, J. A., Hammerschmidt, R. (1988):** Comparative study of acidic peroxidases associated with induced resistance in cucumber, muskmelon and watermelon. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **33**, 255-261
- Smith, J., Métraux, J.-P. (1991):** *Pseudomonas syringae* induces systemic resistance to *Pyricularia oryzae* in rice. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **39**, 451-461
- Smith, J., Hammerschmidt, R., Fulbright, D. (1991):** Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **38**, 223-235
- Smith-Becker, J., Marois, E., Huguet, E. J., Midland, S. L., Sims, J. J., Keen, N. T. (1998):** Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems. *Plant Physiology*, **116**, 231-238
- Stakman, E. C. (1915):** Relation between *Puccinia graminis* and plants highly resistant to its attack. *Journal of Agricultural Research*, **4**, 193-199
- Staub, T. H., Kuc, J. (1980):** Systemic protection of cucumber plants against disease caused by *Cladosporium cucumerinum* and *Colletotrichum lagenarium* by prior infection with either fungus. *Physiological Plant Pathology*, **17**, 389-393
- Staub, T., Ahl-Goy, P., Kessmann, H. (1993):** Chemically induced disease resistance in plants. In: *Proceedings of the 10th International Reinhardsbrunn Symposium on Systemic Fungicides and Antifungal Compounds*, Lyr, H., Polter, C. (Hrsg.), 3.-9.5.1992, Ulmer, Stuttgart, 239-249
- Stein, B. D., Klomparens, K., Hammerschmidt, R. (1993):** Histochemistry and ultrastructure of the induced resistance response of cucumber plants to *Colletotrichum lagenarium*. *Journal of Phytopathology*, **137**, 177-188
- Steiner, U., Schönbeck, F. (1995):** Induced resistance in monocots. In: *Induced resistance to disease in plants*. Hammerschmidt, R., Kuc, J. (Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande, 86-110
- Steiner, U., Schönbeck, F. (1997):** Induced resistance. In: *Resistance of crop plants against fungi*. Hartleb, H., Heitefuss, R., Hoppe, H. H. (Hrsg.), Gustav Fischer, Jena, 272-297
- Stermer, B. A., Hammerschmidt, R. (1987):** Association of heat shock induced resistance to disease with increased accumulation of insoluble extensin and ethylene synthesis. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **31**, 453-461
- Sticher, L., Mauch-Mani, B., Métraux, J. P. (1997):** Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **35**, 235-270
- Stierl, R., Steiner, U., Ortega, F., Dehne, H. W. (1997):** Effects of induced resistance on different host-parasite interactions. *Proceedings of the 49th International symposium on crop protection*, Gent, Belgium, 6.5.1997, Mededelingen – Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universitat Gent, Belgien, Part IV., 1009-1013
- Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M., Fritig, B. (1993):** Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie*, **75**, 687-706
- Strobel, N. E., Kuc, J. A. (1995):** Chemical and biological inducers of systemic resistance to pathogens protect cucumber and tobacco plants from damage caused by paraquat and cupric chloride. *Phytopathology*, **85**, 1306-1310

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Strobel**, N. E., Ji, C., Gopalan, S., Kuc, J. A., He, S. Y. (1996): Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 HrpZPss protein. The Plant Journal, **9**, 431-439
- Strömberg**, A., Brishammer, S. (1991): Induction of systemic resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) plants to late blight by local treatment with *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Phytophthora cryptogaea*, Laff. or dipotassium phosphate. Potato Research, **34**, 219-225
- Strömberg**, A., Brishammer, S. (1993): A histological evaluation of induced resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato leaves. Journal of Phytopathology, **137**, 15-25
- Stumm**, D., Gessler, C. (1986): Role of papillae in the induced systemic resistance of cucumbers against *Colletotrichum lagenarium*. Physiological and Molecular Plant Pathology, **29**, 405-410
- Sunwoo**, J. Y., Lee, Y. K., Hwang, B. K. (1996): Induced resistance against *Phytophthora capsici* in pepper plants in response to DL- β -amino-n-butyric acid. European Journal of Plant Pathology, **102**, 663-670
- Sutherland**, M. W. (1991): The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection. Physiological and Molecular Plant Pathology, **39**, 79-93
- Sziraki**, I., Balazs, E., Kiraly, Z. (1980): Role of different stresses in inducing systemic acquired resistance to TMV (tobacco mosaic virus) and increasing cytokinin level in tobacco. Physiological Plant Pathology, **16**, 277-284
- Tenhaken**, R., Levine, A., Brisson, L. F., Dixon, R. A., Lamb, C. (1995): Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, **92**, 4158-4163
- Tenhaken**, R., Rubel, C. (1997): Salicylic acid is needed in hypersensitive cell death in soybean but does not act as a catalase inhibitor. Plant Physiology, **115**, 291-298
- Thompson**, J. E., Paliyath, G., Brown, J. H., Duxbury, C. L. (1987): The involvement of activated oxygen in membrane deterioration during senescence. In: Plant senescence: its biochemistry and physiology. Thomson, W. W., Nothnagel, E. A., Huffaker, R. C. (Hrsg.), Proceedings of the 10th Annual Symposium in Plant Physiology, 8.-10.1.1987, University of California, Riverside, Kalifornien, USA, 146-155
- Thordal-Christensen**, H., Zhang, Z., Wie, Y., Collinge, D. B. (1997): Subcellular localization of H₂O₂ in plants: H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. The Plant Journal, **11**, 1187-1194
- Tuzun**, S., Kuc, J. (1985): Movement of a factor in tobacco infected with *Peronospora tabacina* Adam which systemically protects against blue mold. Physiological Plant Pathology, **26**, 321-330
- Tuzun**, S., Nesmith, W., Ferriss, R. S., Kuc, J. (1986): Effect of stem injections with *Peronospora tabacina* on growth of tobacco and protection against blue mold in the field. Phytopathology, **76**, 938-941
- Tuzun**, S., Kuc, J. (1987): Persistence of induced systemic resistance to blue mold in tobacco plants derived via tissue culture. Phytopathology, **77**, 1032-1035
- Uknes**, S., Mauch-Mani, B., Moyer, M., Potter, S., Williams, S., Dincher, S., Chandler, D., Slusarenko, A., Ward, E., Ryals, J. (1992): Acquired resistance in *Arabidopsis*. The Plant Cell, **4**, 645-656

- Uknes, S., Winter, A. M., Delaney, T., Vernooij, B., Morse, A., Friedrich, L., Nye, G., Potter, S., Ward, E., Ryals, J. (1993):** Biological induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **6**, 692-698
- Ullrich, W. R., Kunz, G., Stiller, A., Novacky, A. J. (1993):** Role of ammonium accumulation in bacteria-induced hypersensitive and compatible reactions of tobacco and cotton plants. *Physiologia Plantarum*, **89**, 644-652
- van Camp, W., van Montagu, M., Inze, D. (1998):** H₂O₂ and NO: Redox signals in disease resistance. *Trends in Plant Science*, **3**, 330-334
- van Loon, L. C., van Kamen, A. (1970):** Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble proteins from *Nicotiana tabacum* var. Samsun and Samsun NN: Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*, **40**, 199-211
- van Loon, L. C., Antoniw, J. F. (1982):** Comparison of the effects of salicylic acid and ethephon with virus-induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **88**, 237-256
- van Loon, L. C. (1983a):** The induction of pathogenesis-related proteins by pathogens and specific chemicals. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **89**, 265 - 273
- van Loon, L. C. (1983b):** Mechanisms of resistance in virus infected plants. In: *The dynamics of host defense*. Bailey, J. A., Deverall, B. J. (Hrsg.), Sidney Academic, Australien, 123-190
- van Loon, L. C. (1985):** Pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology*, **4**, 111-116
- van Loon, L. C., Pierpoint, W. S., Boller, T., Conejero, V. (1994):** Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reports*, **12**, 245-264
- van Loon, L. C. (1997):** Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, **103**, 753-765
- van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J. (1998):** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, **36**, 453-483
- van Loon, L. C., van Strien, E. A. (1999):** The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **55**, 85-97
- Vance, C. P., Kirk, T. K., Sherwood, R. T. (1980):** Lignification as a mechanism of disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **18**, 259-288
- Vera-Estrella, R., Blumwald, E., Higgins, V. J. (1992):** Effect of specific elicitors of *Cladosporium fulvum* on tomato suspension cells: evidence for the involvement of active oxygen species. *Plant Physiology*, **99**, 1208-1215
- Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Kolditz-Jahwar, R., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H., Ryals, J. (1994):** Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *The Plant Cell*, **6**, 959-966
- Vernooij, B., Friedrich, L., Ahl-Goy, P., Staub, T., Kessmann, H., Ryals, J. (1995):** 2,6-Dichloroisonicotinic acid-induced resistance to pathogens without the accumulation of salicylic acid. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **8**, 228-234
- Walters, D. R., Murray, D. C. (1992):** Induction of systemic resistance to rust in *Vicia faba* by phosphate and EDTA: Effects of Calcium. *Plant Pathology*, **41**, 444-448

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Wang**, M., Oppedijk, B. J., Caspers, M. P. M., Lamers, G. E. M., Boot, M. J., Geerlings, D. N. G., Bakhuizen, B., Meijer, A. H., van Duijn, B. (1998): Spatial and temporal regulation of DNA fragmentation in the aleurone of germinating barley. *Journal of Experimental Botany*, **49**, 1293-1301
- Ward**, E. R., Uknes, S. J., Williams, S. C., Dincher, S. S., Wiederhold, D. L., Alexander, D. C., Ahl-Goy, P., Metraux, J.-P., Ryals, J. A. (1991): Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, **3**, 1085-1094
- Wei**, G., Kloepper, J., Tuzun, S. (1991): Induction of systemic resistance in cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, **81**, 1508-1512
- Weymann**, K., Hunt, M., Uknes, S., Neuenschwander, U., Lawton, K., Steiner, H. Y., Ryals, J. (1995): Suppression and restoration of lesion formation in *Arabidopsis* lsd mutants. *The Plant Cell*, **7**, 2013-2022
- White**, R. F. (1979): Acetylsalicylic acid (Aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, **99**, 410-412
- Willits**, M. G., Ryals, J. (1998): Determining the relationship between salicylic acid levels and systemic acquired resistance induction in tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **8**, 795-800
- Wojtaszek**, P. (1997): Oxidative burst: an early response to pathogen infection. *Biochemical Journal*, **322**, 681-692
- Woloshuk**, C. P., Meulenhoff, J. S., Sela-Buurlage, M., van den Elzen, P. J. M., Cornelissen, B. J. C. (1991): Pathogen-induced proteins with inhibitory activity towards *Phytophthora infestans*. *The Plant Cell*, **3**, 1085-1094
- Wrather**, J. A., Elrod, J. M. (1990): Apparent systemic effect of *Colletotrichum truncatum* and *C. lagenarium* on the interaction between soybean and *C. truncatum*. *Phytopathology*, **80**, 472-474
- Wu**, G., Shortt, B. J., Lawrence, E. B., Levine, E. B., Fitzsimmons, K. C., Shah, D. M. (1995): Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *The Plant Cell*, **7**, 1357-1368
- Xuei**, X. L., Järfors, U., Kuc, J. (1988): Ultrastructural changes associated with induced systemic resistance of cucumber to disease: Host response and development of *Colletotrichum lagenarium* in systemically protected leaves. *Canadian Journal of Botany*, **66**, 1028-1038
- Yalpani**, N., Silverman, P., Wilson, T. M. A., Kleier, D. A., Raskin, I. (1991): Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. *The Plant Cell*, **3**, 809-818
- Yalpani**, N., Leon, J., Lawton, M. A., Raskin, I. (1993a): Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. *Plant Physiology*, **103**, 315-321
- Yalpani**, N., Shulaev, V., Raskin, I. (1993b): Endogenous salicylic acid levels correlate with accumulation of pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Phytopathology*, **83**, 702-708
- Yamaguchi**, I. (1998): Activators of systemic acquired resistance. In: Fungicidal activity: Chemical and biological approaches to plant protection. Hutson, D. H., Miyamoto, J. (Hrsg.), Wiley & Sons Inc., New York, USA, 193-219

Ye, X. S., Pan, S. Q., Kuc, J. (1989): Pathogenesis-related proteins and systemic resistance to blue mould and tobacco mosaic virus induced by tobacco mosaic virus, *Peronospora tabacina* and aspirin. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **35**, 161-175

Ye, X. S., Pan, S. Q., Kuc, J. (1990): Activity, isozyme pattern, and cellular localization of peroxidase as related to systemic resistance of tobacco to blue mold (*Peronospora tabacina*) and to tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, **80**, 1295-1299

Zhang, Y. Y., Punja, Z. K. (1994): Induction and characterization of chitinase isoforms in cucumber (*Cucumis sativus* L.): Effect of elicitors, wounding and pathogen inoculation. *Plant-Science-Limerick*, **99**, 141-150

Ziv, O., Zitter, T. A. (1992): Effects of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. *Plant Disease*, **76**, 513-517

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Buchenauer danke ich für die Überlassung des Themas und für die Freiheit und das Vertrauen bei der Bearbeitung. Sein stetes Interesse und die zahlreichen anregenden Diskussionen haben wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. V. Römheld danke ich für die Übernahme des Koreferates. Ferner gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenernährung, die mich bei der Durchführung einiger Experimente unterstützt haben.

Bei Herrn Dr. J. Siegrist bedanke ich mich für die kollegiale Zusammenarbeit. Seine rege wissenschaftliche Anteilnahme und sein Interesse an den Arbeiten haben maßgeblich zum Erfolg beigetragen.

Frau G. Moll, Frau I. Zingen-Sell, Frau S. Jasarevic und Herrn J. Kreer danke ich für die technische Unterstützung.

Allen Kolleginnen und Kollegen aus den verschiedenen Fachgebieten des Instituts für Phytomedizin gilt mein aufrichtiger Dank.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung.