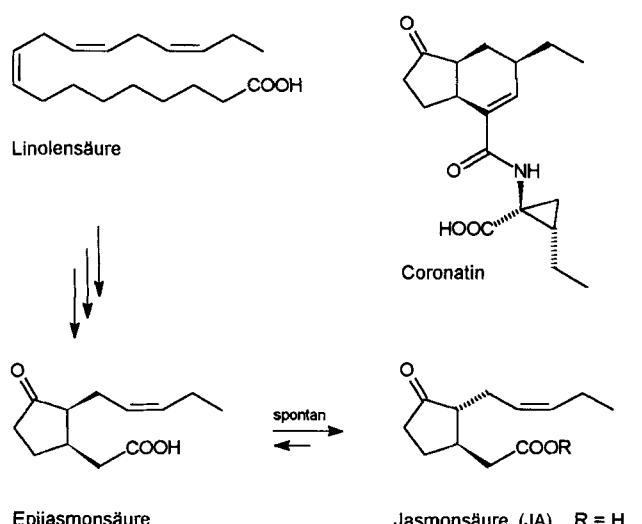


Jasmonsäure- und Coronatin-induzierte Duftproduktion in Pflanzen**

Wilhelm Boland*, Jörn Hopke, Jens Donath,
Jörg Nüske und Friedemann Bublitz

Professor Dieter G. Müller zum 60. Geburtstag gewidmet

Jasmonsäure (JA) und Derivate der Jasmonsäure (z. B. Jasmonsäuremethylester, JA-Me) spielen eine herausragende Rolle als Pflanzenhormone^[1]. Sie entstehen aus freier Linolensäure über mehrere Zwischenstufen^[2] (Schema 1) und induzieren die



Schema 1. Bildung von Jasmonsäure und Jasmonsäuremethylester aus Linolensäure sowie Struktur von Coronatin.

Expression spezifischer Gene, die über die Synthese von Proteinen (Jasmonate Induced Proteins, JIPs)^[3] eine Vielzahl von Effekten auslösen, z. B. Blattfall, Seneszenz (Alterung)^[4] und Ethylenemission^[5]. Ähnlich negative Effekte verursacht auch das Phytotoxin Coronatin, das aus Kulturfiltraten unterschiedlicher *Pseudomonas-syringae*-Pathovars^[6] und einiger *Xanthomonas-campestris*-pv.-*phomiicola*-Stämme^[7] isoliert werden kann. Die typischen Schadbilder sind auch hier Chlorose, Seneszenz und gesteigerte Ethylenfreisetzung^[8].

Allerdings wurden in den letzten Jahren auch einige bemerkenswerte Effekte entdeckt, bei denen JA eine stimulierende

[*] Prof. Dr. W. Boland, Dipl.-Chem. J. Hopke, Dr. J. Donath
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn
Telefax: Int. +228/735388

Dr. J. Nüske, Dr. F. Bublitz
Institut für Mikrobiologie der Universität Jena

[**] Herbivore-Induced Volatiles, 2. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Dr. R. Kaiser, Givaudan Company, Dübendorf, Schweiz, für Proben Methyljasmonat. – 1. Mitteilung: [18].

Rolle zukommt. Beispielsweise stimuliert JA das Wurzelwachstum (Tuberisierung)^[9] und das Spiralisieren von Ranken^[10]. In Zellkulturen von *Eschscholtzia californica* und *Rauvolfia canescens* wird die Biosynthese von Alkaloiden induziert^[11]. Auch diese Effekte können durch Coronatin ausgelöst werden^[12]. Darüber hinaus ist JA vermutlich als Stress-Signal an der pflanzlichen Verteidigung gegen Herbivore beteiligt, da JA und/oder JA-Me die Biosynthese von Proteinaseinhibitoren aktivieren^[13, 14]. Die pflanzliche Verteidigung beinhaltet aber auch die Abgabe von Duftstoffen, die in einigen Fällen sogar als intra- oder interspezifische Warnsignale wirken^[15]. Zuweilen profitieren Nützlinge von diesen Signalen, und es kommt zu einer duftvermittelten Reduktion des Schädlingsbefalls^[16, 17].

Wir zeigen hier, daß die Biosynthese und die Emission von flüchtigen Substanzen aus Blättern vieler Pflanzen ganz allgemein durch JA und Coronatin induziert werden kann. Dies ist in Abbildung 1 beispielhaft für Tabak (*Nicotiana tabacum*) gezeigt. So emittieren die Blätter der unbehandelten Pflanzen nur

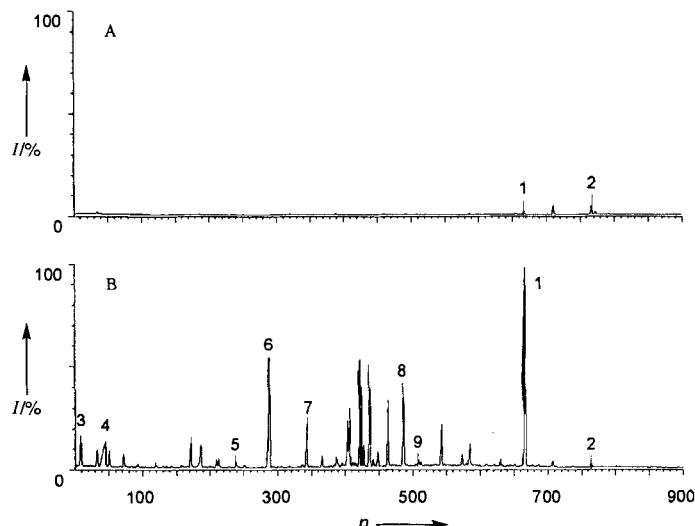


Abb. 1. Gaschromatographische Analysen der Duftkomponenten des Tabaks (*Nicotiana tabacum*): A) unbehandelt, B) Jasmonsäure-induziert. Aufgetragen ist die relative Signalintensität *I* gegen die Nummer *n* des Massenscans (1 Scan pro Sekunde). Ausgewählte identifizierte Verbindungen: Neophytadien 1, C₂₀H₃₂ 2, (3Z)-Hex-3-enylacetat 3, Oct-1-en-3-ol 4, Indol 5, (3Z)-Hex-3-enyltiglat 6, β-Elemen 7, (3Z)-Hex-3-enylbenzoat 8, 4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraen 9.

sehr geringe Mengen an flüchtigen Verbindungen (Abb. 1 A). Nach 30 h Inkubation mit JA (10 μmol mL⁻¹) ändert sich das Duftmuster grundlegend. Es werden zahlreiche neue Substanzen synthetisiert und an die Luft abgegeben (Abb. 1 B). Die Schwellenkonzentration an JA beträgt dabei 100 nmol mL⁻¹. Eine Übersicht über das Maß des Induktionseffekts und die Identität der induzierten Verbindungen ist für einige ausgewählte Zier- und Nutzpflanzen in Tabelle 1 zusammengestellt. Dabei ist die Duftproduktion 20–30 h nach Applikation von JA am höchsten, wie am Beispiel von Limabohne und Mais bereits früher gezeigt wurde^[18]. Die freigesetzten Verbindungen lassen

Tabelle 1. Semiquantitative Zusammenstellung der Jasmonsäure-induzierten Duftstoffe von ausgewählten Zier- und Nutzpflanzen [a].

	<i>Brassica oleracea</i>	<i>Dryopteris filix-mas</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Gerbera jamesonii</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Lathyrus vernus</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Salix alba</i>	<i>Zea mays</i>
Terpene											
(E)- β -Ocimen	-/-	o/o	+/-	o/o	-/-	-/-	-/-	o/+	o/++	-/-	
Linalool	-/-	-/o	+/-	o/+	-/+	-/-	-/-	-/o	-/+	o/o	-/-
C ₁₁ H ₁₈ [b]	-/-	-/-	+/-	-/+	-/-	-/-	-/-	o/+++*	+/-	-/o	
C ₁₀ H ₁₄ [c]	-/-	-/-	o/+	-/+	-/-	-/-	-/o	o/+	o/+	-/-	
Nerolidol	-/-	o/+	-/-	o/++	o/++	-/o	-/-	o/+	o/+	o/+	o/+
C ₁₆ H ₂₆ [d]	-/-	o/+	-/-	o/+	-/-	-/o	-/-	o/++	o/+	o/+	o/++
β -Caryophyllen	-/-	-/+	+/-	-/+	-/+	-/-	o/o	-/-	-/+	o/o	-/+
weitere Monoterpene	+/-	o/o	+++/+++*	o/+	o/o	-/-	+++/+++*	o/+	o/+++	o/++	-/-
weitere Sesquiterpene	o/o	+++/+++*	+++/+++	o/+++*	o/+++*	o/+++*	-/-	+++/+++	o/o	o/+++*	+++
Diterpene	-/-	o/+	-/-	-/-	o/o	-/-	-/-	+++/+++*	-/-	-/-	-/-
Acetogenine											
(3Z)-3-Hexenylacetat	+/-	-/-	-/o	o/+	-/-	-/o	-/+	-/+	-/+	o/o	-/o
1-Octen-3-ol	-/-	o/++	-/-	-/+	-/+	-/-	-/-	-/+	-/+	-/-	-/-
weitere Acetogenine	+++/+++*	-/-	-/-	o/o	+/+	-/-	+++/+++	-/+	o/+	+/o	
Arene											
Benzylalkohol	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/o	-/+	-/-	-/o
Methylsalicylat	-/-	-/-	-/-	-/-	-/o	-/-	-/+	-/o	-/+	o/o	-/-
Indol	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	o/+	-/+
weitere Arene	o/o	-/-	-/+	-/-	o/+	-/-	-/-	-/+	-/+	-/-	o/+
Methyljasmonat	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/+

[a] Die Eintragungen (unbehandelt/Jasmonsäure-induziert) entsprechen: -: nicht nachweisbar, o: < 5%, +: 0.5–5%, ++: 5–25%, +++: > 25%, *: Hauptprodukt im Duftmuster. Die prozentualen Angaben sind Relativwerte und beziehen sich auf die Intensität des Signals der jeweiligen Hauptkomponente im Gaschromatogramm.

[b] 4,8-Dimethylnona-1,3,7-trien. [c] Monoterpen. [d] 4,8,12-Trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraen.

sich drei Hauptgruppen zuordnen: 1) Mevalogenine: überwiegend Mono- und Sesquiterpene; 2) Acetogenine: Abbauprodukte von Fettsäurehydroperoxiden, z. B. Ester des Blätteralkohols und Oct-1-en-3-ol, und 3) aromatische Verbindungen: Alkohole und Ester, häufig auch Indol.

Während die Blätter der meisten Pflanzen nach Behandlung mit JA in hohen Konzentrationen von $10 \mu\text{mol mL}^{-1}$ ausgeprägte Seneszenzerscheinungen aufweisen (Bräunung entlang der Leitungsgefäße und Welken), bleiben diese bei Applikation von Coronatin (50 und 100 nmol mL^{-1}) weitgehend aus. Getestet wurden der Mais und die Limabohne als Beispiele für mono- und dicotyle Pflanzen. Die Duftinduktion durch Coronatin ist wesentlich stärker als die durch JA und kann deshalb bereits mit sehr niedrigen Konzentrationen (ab etwa 1 nmol mL^{-1}) ohne weitergehende Schädigung der Pflanze erreicht werden. Die erhaltenen Duftmuster entsprechen dabei weitgehend den durch JA induzierbaren und deuten damit auf eine weitere Parallele im Wirkprofil von JA und Coronatin hin.

Wie das Beispiel des Wurmfarns zeigt, ist JA auch in evolutionsgeschichtlich alten Pflanzen sehr wirksam. Offensichtlich wurde diese Signalschiene bereits zu einem frühen Zeitpunkt in der Pflanzenphylogenie entwickelt und bis zu den modernen dicotylen Pflanzen wie dem Tabak oder der Limabohne beibehalten. Auch der pharmazeutisch interessante Gingkobaum (*Ginkgo biloba*), als letzter Vertreter der in früheren Erdzeitaltern häufigen Gingkogewächse, reagiert auf dieses Signal, ebenso die heimische Weide, die auf JA-Behandlung mit der Emission von zahlreichen Terpenen antwortet.

Die Applikation von JA führt aber nicht grundsätzlich zur Produktion von neuen Verbindungen; häufig tritt lediglich eine Änderung der relativen Zusammensetzung des Duftmusters auf (siehe Tabelle 1, *Brassica oleracea* und *Eucalyptus globulus*).

Ob die hier beschriebene Emission von Duftstoffen als Begleiterscheinung einer JA-induzierten Seneszenz zu werten ist oder ob sie der Aktivierung von Verteidigungsgenen zugerechnet werden muß, ist noch unklar und bedarf weiterer Untersuchungen. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß bei Mais und Limabohne die JA-induzierten Duftkomponenten weitgehend mit Herbivor-induzierten übereinstimmen^[16–18].

Erwähnenswert ist auch die Bildung und die Emission von JA-Me aus Blättern einiger mit JA behandelter Pflanzen (Tabelle 1). Da JA-Me über die Gasphase in Nachbarpflanzen Verteidigungsreaktionen wie die Bildung von Proteinaseinhibitoren^[13] und Phytoalexinen^[10, 19] auslösen kann, sind die Bildung und die Freisetzung von JA-Me aus Blättern ein weiteres Indiz für die Bedeutung von flüchtigen Jasmonaten bei der interpflanzlichen Kommunikation. Ob auch die Abgabe von flüchtigem Methylsalicylat, z. B. durch die Limabohne (*Phaseolus lunatus*; Tabelle 1), analog zu der der freien Säure über die Gasphase zur Aktivierung von Resistenzgenen^[20] beitragen kann, ist noch zu prüfen.

Die hier beschriebene Induktion von Duftstoffen durch JA oder Coronatin eröffnet interessante Perspektiven. Da für viele Duftkomponenten die Biosynthesewege im Grundsatz verstanden sind, sollten durch die Identifizierung von induzierten Verbindungen bereits erste Rückschlüsse auf enzymatische oder molekularbiologische Aspekte der Induktionsprozesse möglich sein und Hinweise zur Identifizierung bislang nicht bekannter JIPs erhalten werden können. Das Anlocken von Nützlingen^[16, 17] in Herbivor-gefährdeten Kulturen durch prophylaktische Induktion von Duftstoffen und/oder Resistzenzen^[20] zu Beginn eines Befalls wäre ein interessanter Ansatz für den Pflanzenschutz. Es liegt darüber hinaus nahe, JA und Coronatin zur Induktion von wertvollen Aromakomponenten einzusetzen.

Orientierende Untersuchungen zur Duftinduktion mit JA an Zellkulturen von *Nicotiana tabacum* und *Phaseolus lunatus* machen aber deutlich, daß bei diesen artifiziellen Systemen die Emission von flüchtigen Verbindungen im Vergleich zu der der intakten Pflanze nur sehr eingeschränkt stimuliert werden kann.

Experimentelles

Frisch geschnittene Triebe mit 2 bis 5 Blättern der in Tabelle 1 aufgeführten Pflanzen werden in wäßrige Lösungen von racemischer *trans*-Jasmonsäure ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) oder Coronatin (50 und 100 nmol L^{-1}) eingestellt. Nach 10 h werden die vorinkubierten Pflanzen in ein geschlossenes Gefäß (ca. 750 mL Totvolumen) gebracht und die freigesetzten Duftstoffe 20 h durch Luftumwälzung an einem Aktivkohlefilter (1.5 mg) angereichert [21]. Nach Desorption mit Dichlormethan ($30 \mu\text{L}$) werden die Eluate durch GC-MS untersucht (DB1-Quarzkapillare, $10 \text{ m} \times 0.31 \text{ mm}$; Temperaturprogramm: 50°C (2 min), dann mit 10 Grad min^{-1} bis 200°C ; Detektion: Fisons-MD-800-Massenpektrometer, GC-Interface: 260°C ; Scansbereich: 35 – 300 Da sec^{-1}). Als Kontrollen dienten Duftmuster von frisch geschnittenen Pflanzen in Wasser ohne Zusatz von JA oder Coronatin. Die Pflanzen *Phaseolus lunatus* und *Zea mays* wurden wie in Lit. [18] beschrieben angezogen. *Gerbera jamesonii*, cv. *Sirtaki* wurde von Prof. M. Dicke, Landwirtschaftliche Universität, Wageningen (Niederlande), zur Verfügung gestellt. Alle übrigen Pflanzen stammen aus dem Botanischen Garten der Universität Bonn.

Eingegangen am 22. Dezember 1994,
veränderte Fassung am 6. März 1995 [Z7570]

Stichworte:

Duftstoffe · Jasmonsäure · Pflanzenhormone

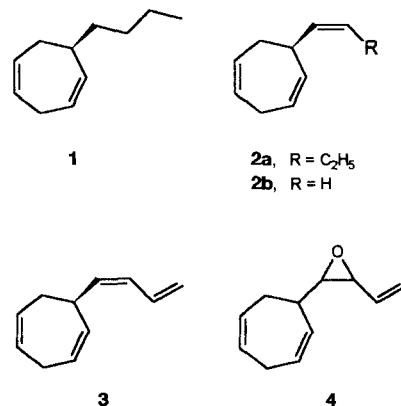
- [1] G. Sembdner, B. Parthier, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* **1993**, *44*, 569.
- [2] B. A. Vick, D. C. Zimmermann, *Plant Physiol.* **1984**, *75*, 458.
- [3] R. A. Weidhase, H. Kramell, J. Lehmann, H. Liebisch, W. Lerbs, B. Parthier, *Plant Sci. (Limerick, Irel.)* **1987**, *51*, 177.
- [4] J. Ueda, J. Kato, *Plant Physiol.* **1980**, *66*, 246.
- [5] M. Saniewski, J. Czapski, *Experientia* **1985**, *41*, 256.
- [6] J. Nüske, F. Bublitz, *J. Basic Microbiol.* **1993**, *33*, 241.
- [7] K. Tamura, Y. Takikawa, S. Tsuyumu, M. Goto, M. Watanabe, *Nippon Shokubutsu Byori Gakkaiho* **1992**, *58*, 276.
- [8] F. Greulich, T. Yoshihara, H. Toshima, A. Ichihara, *Abstract of the XV. Int. Botanical Congress*, Tokio, **1993**, S. 4152.
- [9] Y. Koda, Y. Okazawa, *Plant Cell Physiol.* **1988**, *29*, 969.
- [10] E. Falkenstein, B. Groth, A. Mithöfer, E. W. Weiler, *Planta* **1991**, *185*, 316.
- [11] H. Gundlach, M. J. Müller, T. M. Kutchan, M. H. Zenk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 2389.
- [12] E. W. Weiler, T. M. Kutchan, T. Gorba, W. Brodschelm, U. Niesel, F. Bublitz, *FEBS Lett.* **1994**, *345*, 9.
- [13] E. E. Farmer, C. A. Ryan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 7713.
- [14] E. E. Farmer, C. A. Ryan, *Plant Cell* **1992**, *4*, 129.
- [15] H. J. Zeringue, *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2305.
- [16] M. Dicke, M. A. Sabelis, J. Takabayashi, J. Bruun, M. A. Posthumus, *J. Chem. Ecol.* **1990**, *16*, 3091.
- [17] T. C. J. Turlings, J. H. Tumlinson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 8399.
- [18] J. Hopke, J. Donath, S. Blechert, W. Boland, *FEBS Lett.* **1994**, *352*, 146.
- [19] H. Dittrich, T. M. Kutchan, M. H. Zenk, *FEBS Lett.* **1992**, *309*, 11462.
- [20] J. P. Metraux, H. Signer, J. Ryals, E. Ward, M. Wyss-Benz, J. Gaudin, K. Raschdorf, E. Schmid, W. Blum, *Science* **1990**, *250*, 1004.
- [21] W. Boland, P. Ney, L. Jaenicke, G. Gassmann in *Analysis of Volatiles* (Hrsg.: P. Schreier), Walter De Gruyter, Berlin, New York, **1984**, S. 371.

Pericyclische Reaktionen in der Natur – Inaktivierung von Algenpheromonen durch spontane Cope-Umlagerung**

Wilhelm Boland*, Georg Pohnert und Ingo Maier

Professor Hans-Jürgen Bestmann zum 70. Geburtstag gewidmet

Bei der sexuellen Fortpflanzung nutzen weibliche Gameten von marinischen Braunalgen olefinische C_{11} -Kohlenwasserstoffe als chemische Signale zur Freisetzung und/oder Anlockung der männlichen Geschlechtszellen^[1, 2]. Als Prototyp einer ganzen Gruppe hinsichtlich ihrer Strukturen verwandter Signalstoffe wurde 1971 von Müller et al. Ectocarpfen **2a** als Sexualpheromon der weltweit verbreiteten Braunalge *Ectocarpus siliculosus* identifiziert^[3]. Seither wurden weitere an C-6 substituierte Cyclohepta-1,4-diene als Lockstoffe oder Substanzen, die eine Massenentlassung von männlichen Gameten induzieren (Release-Faktoren), gefunden. Zu den besonders häufigen Signalstoffen zählen Dictyoten **1**^[4], Desmaresten **3**^[5] und das für die hochentwickelten Laminariales typische Lamoxiren **4**^[6, 7]. Die jeweils zur Reaktionsauslösung erforderlichen Schwellenkonzentrationen liegen, abhängig von Spezies und Funktion, im Bereich von 0.01 bis 10 nmol L^{-1} .



Kürzlich haben wir gezeigt, daß **1** und **2a** in den weiblichen Gameten von marinischen Braunalgen aus ungesättigten C_{20} -Fettsäuren gebildet werden^[8, 9]. Arachidonsäure ist die Vorstufe für **1**, und **2a** entsteht analog aus *cis*-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure **5** (Schema 1). Obwohl die ersten Schritte der Fettsäureaktivierung noch nicht bekannt sind, kann wegen der Analogien zu Modelluntersuchungen an terrestrischen Pflanzen^[10] auf die 9-Hydroperoxyfettsäure **6** (9-HPEPE) als erstes O-funktionalisiertes Intermediat geschlossen werden. Aus **6** könnte eine Hydroperoxid-Lyase unter oxidativer Spaltung des C-Gerüstes gemäß Schema 1 das Dicarbonyl-C₉-Fragment **8** und das thermolabile *cis*-disubstituierte Cyclopropan (*1R,2S*)-**7a** (C_{11}) freisetzen. Divinylcyclopropane vom Typ **7** sind thermolabil und sollten durch eine spontan eintretende [3,3]-sigmatrope Umlagerung (Cope-Umlagerung) die Cyclohepta-1,4-diene **1**–**4** geben^[1, 11].

[*] Prof. Dr. W. Boland, Dipl.-Chem. G. Pohnert

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn
Telefax: Int. +228/735388

Dr. I. Maier

Fakultät für Biologie der Universität Konstanz

[**] Biosynthese von Algenpheromonen, 4. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Prof. Dr. D. G. Müller, Universität Konstanz, für seine Unterstützung. – 3. Mitteilung: [17].