1. Einleitung

1.1 Verteidigungsstrategien von Pflanzen

Pflanzen sind im Laufe ihres Lebens vielen Umweltfaktoren ausgesetzt, die sich negativ auf ihr Überleben oder ihre Reproduktion auswirken können. Dazu zählen Wettereinflüsse und Standortbedingungen wie Temperatur, Feuchtigkeit, Nährstoffverfügbarkeit, mechanische Belastungen und Lichtintensität (Mittler, 2006), aber auch biotische Faktoren wie Symbiosen, Parasitismus, zwischen- oder innerartliche Konkurrenzsituationen und Herbivorie durch verschiedene Insekten- oder andere Tierarten (Thomas et al., 2002).

Der Herbivorie kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu. Pflanzen, die als autotrophe Primärproduzenten CO_2 aus der Luft als Kohlenstoffquelle nutzen können, stellen für herbivore heterotrophe Organismen, die die zum Wachstum benötigten Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen mit ihrer Nahrung aufnehmen müssen, eine fast allgegenwärtige und leicht verfügbare Beute dar (Harborne, 1995). Wird die Pflanze durch Herbivorie beschädigt, verliert sie durch fehlende Blattmasse die zur eigenen Energiegewinnung wichtige Photosynthesefläche und in Speicherorganen eingelagerte Nährstoffe, wodurch das weitere Wachstum oder die Reproduktion negativ beeinflusst wird (Zangerl et al., 2002). Im Extremfall kann die gesamte Pflanze dem Herbivoren zum Opfer fallen. Doch nicht nur der Verlust der Blattfläche bedroht die Pflanze, saugende Organismen wie Blattläuse können die Nährstoffe direkt aus den Leitgefäßen entnehmen und dabei schädliche Viren übertragen (Ng und Perry, 2004). Dazu kommen Angriffe durch Mikroorganismen, die in die Pflanze eindringen und Gewebe zerstören können.

Gegenüber diesen zahlreichen Bedrohungen ist die Pflanze jedoch nicht wehrlos. Unsere Welt ist weiterhin grün, was nahelegt, dass die Herbivoren in ihrer Zahl und Aktivität eingeschränkt sind und nicht ihre eigene Nahrungsgrundlage zerstören (Hairston et al., 1960). Wichtige Faktoren für das Entstehen dieses Gleichgewichts können Fraßfeinde der Herbivoren, Konkurrenz um Ressourcen, aber auch Abwehrmaßnahmen der Pflanzen sein („green world hypothesis“, Hairston et al., 1960). Pflanzen, die eine erhöhte Widerstandsfähigkeit entwickeln, erhalten sich mehr Photosynthesefläche und Nährstoffe als schlechter verteidigte Artgenossen, überleben besser und reproduzieren sich als Konsequenz erfolgreicher. Da

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

dies einen Vorteil gegenüber Konkurrenten darstellt, sind im Laufe der Evolution viele verschiedene Verteidigungsstrategien gegen Herbivoren entstanden (Strauss und Agrawal, 1999).

Pflanzen haben als ortsgebundene Lebewesen keine Möglichkeit zur räumlichen Flucht. Daher haben sich andere Mechanismen ausgebildet, um Schaden zu begrenzen. Beispielsweise ist ein „zeitliches Flüchten“ der Pflanze möglich, d. h. die Reproduktion der Pflanze findet statt, bevor Fraßfeinde in großer Zahl auftreten (Kawagoe und Kudoh, 2010). So wird möglicher Herbivorenfraß minimiert, dies setzt jedoch schnelles Wachstum bis zur Samenreife voraus.

Weitere Verteidigungsstrategien lassen sich in physikalische und chemische Methoden unterteilen. Physikalische Abwehrstrukturen stellen z. B. Barrieren wie verstärkte Zellwände dar, welche das Eindringen von phytopathogenen Pilzen erschweren oder Blattläuse beim Einführen des Stechrüssels behindern können (Lucas et al., 2000; Divol et al., 2007). Starke Ausbildung von Trichomen, zum Teil auch mit Silikaten verstärkt, schränkt die Mobilität von Insekten ein (Valverde et al., 2001), während Stacheln und Dornen auch zur Abwehr herbivorer Säugetiere geeignet sind (Belovsky et al., 1991).

Zusätzlich können Pflanzen sekundäre Pflanzenstoffe produzieren, welche nicht für die grundlegenden Lebensprozesse der Pflanze nötig sind. Diese können als Verteidigungs- und Kommunikationssubstanzen genutzt werden und vielfältige Möglichkeiten zur Abwehr von unterschiedlichen Fraßfeinden bieten (Hartmann, 2007).

1.2 Die Bedeutung der strukturellen Diversität bei pflanzlichen Sekundärstoffen

Im Laufe der Evolution haben Pflanzen in Wechselwirkung mit anderen Organismen eine enorme Vielfalt an Sekundärstoffen entwickelt. Die Bedeutung dieser Diversität soll im Folgenden am Beispiel der Terpene näher erläutert werden. Terpene stellen neben den toxischen Alkaloiden und den unter anderem für die Blütenfarbe verantwortlichen Flavonoiden die größte Stoffgruppe der pflanzlichen Sekundärstoffe. Bisher sind etwa 30000 Verbindungen charakterisiert worden (Conolly und Hill 1991, zitiert in Degenhardt et al., 2009). Erstmals aus dem namensgebenden Harz Terpentin isoliert, baut ihre vielfältige Struktur auf C_5-

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Isopreneinheiten auf [Abb. 1]. Während der Biosynthese werden Terpene als Polymere aus den Grundbausteinen Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) und dessen Isomer Isopentenylpyrophosphat (IPP) synthetisiert. Beide Vorstufen können unabhängig voneinander über zwei verschiedene Biosynthesewege gebildet werden. Der Mevalonatweg im Cytosol führt, mit Acetyl-CoA als Ausgangsverbindung, vorwiegend zur Bildung von IPP und DMAPP für Sesqui- (C_{15}) und Triterpene (C_{30}) (Croteau und Loomis, 1972, 1973). Bei dem später entdeckten MEP(2-C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat)-Weg werden in den Plastiden DMAPP und IPP aus Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat synthetisiert (Rohmer, 1999). Diese dienen nachfolgend als Bausteine für hauptsächlich Mono- (C_{10}), Di- (C_{20}) und Tetraterpene (C_{40}). Zwischen den beiden Biosynthesewegen ist jedoch auch ein Stoffaustausch von IPP möglich (Dudareva et al., 2005). Weitere Modifikationen der Terpene durch Terpensynthasen, Dehydrogenasen, Reduktasen, P450-Hydroxylasen und Methyltransferasen führen schließlich zu der enormen Vielfalt dieser Stoffgruppe. Die Produktion von Terpenen kann konstitutiv erfolgen oder durch Signalmoleküle induziert werden (Erbilgin et al., 2006).

Die meisten Terpene sind lipophil. Die leicht flüchtigen Mono- und Sesquiterpene wie Pinen und Caryophyllen [Abb. 1] finden sich bei Pflanzen als Hauptbestandteil von ätherischen Ölen, die weniger flüchtigen Diterpene wie z. B. Abietinsäure [Abb. 1] kommen in Baumharzen vor. Terpene können aufgrund ihrer Strukturvielfalt eine Vielzahl von Funktionen übernehmen, welche nachfolgend beschrieben werden.

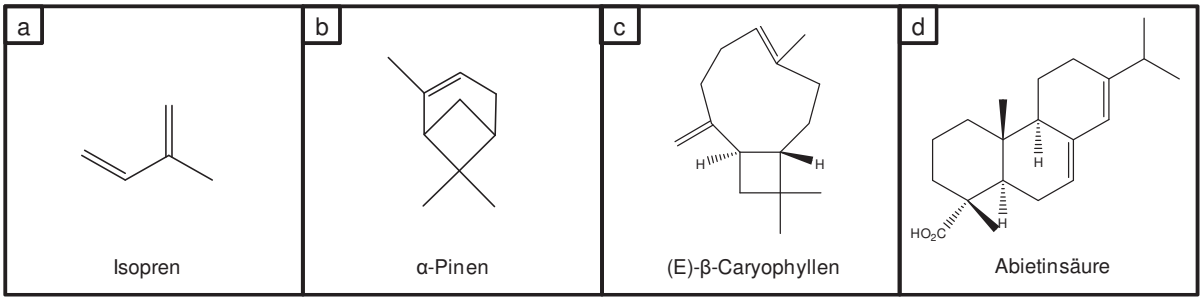

Abb. 1: Strukturen der Terpene

a): C_5-Grundstruktur; Strukturbeispiel für b): C_{10}-Monoterpene, c): C_{15}-Sesquiterpene, d): C_{20}-Diterpene

Gegenüber vielen Organismengruppen wie Insekten, Nematoden und Pilzen haben sich Terpene als giftig herausgestellt (Dambolena et al., 2008; Abdelgaleil et al., 2009; Ntalli et

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

al., 2010). Auch eine abschreckende Wirkung konnte bei Insekten, Mollusken und Säugetieren beobachtet werden (Frank et al., 2002; Müller, 2002; Stefanazzi et al., 2011). Monoterpenester wie die aus Chrysanthemen isolierte Pyrethroide wirken schädigend auf das Nervensystem von Insekten (Soderlund, 2011). Diese Verbindungen werden, wie auch das aus den Samen des Niembaums *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) gewonnene Tetranortriterpenoid Azadirachtin, welches die Larvalentwicklung von Insekten hemmt (Morgan, 2009), inzwischen auch kommerziell erfolgreich als natürliche Insektizide eingesetzt. Terpene können somit in Pflanzen wesentliche Verteidigungsfunktionen erfüllen.

Durch Verwendung von modernen Analysemethoden wie Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (GC-MS) konnten inzwischen die leicht flüchtigen Mono- und Sesquiterpene näher untersucht werden, welche von der Pflanze auch zur Kommunikation genutzt werden. Von Pflanzen durch von Insekten verursachten Blattfraß freigesetzt, kann durch Anlocken von Prädatoren der Herbivoren die eigene Verteidigung unterstützt werden. Von *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) befallene Maispflanzen setzen eine Mischung aus verschiedenen Terpenen frei, welche attraktiv auf den Parasitoiden *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), einem Fraßfeind von *S. exigua*, wirkt (Turlings und Tumlinson, 1992). Ein solcher Hilferuf kann sogar unterirdisch erfolgen. Von Larven des Westlichen Maiswurzelbohrer, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae), beschädigte Maiswurzeln produzieren das Sesquiterpen (E)-β-Caryophyllen [Abb. 1], welches einen Fraßfeind der Larven, den Nematoden *Heterorhabditis megidis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) anlockt (Rasmann et al., 2005). Kommunikation mittels Duftstoffe kann auch zwischen Pflanzenorganen erfolgen. Durch den Schwammspinner, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Noctuidae), beschädigte Blätter der Pappel, *Populus deltoides x nigra* (Salicaceae), setzen eine Mischung aus Terpenen frei. Diese wird von unbeschädigten Blättern detektiert, welche daraufhin vermehrt Terpene produzieren und somit gegen Angriffe durch Herbivoren besser geschützt sind (Frost et al., 2007). Auch benachbarte Pflanzen könnten durch Terpenfreisetzung gewarnt und so auf bevorstehende Herbivorenangriffe vorbereitet werden. In Experimenten mit der Spinnmilbe *Tetranychus urticae* (Arachnida: Tetranychidae) konnte festgestellt werden, daß befressene Pflanzen der Limabohne, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae), eine Mischung aus Duftstoffen freisetzen, welche hauptsächlich aus Terpenenverbindungen besteht. Diese können bei unbeschädigten Pflanzen verschiedene Verteidigungsgene aktivieren (Arimura et al., 2000). Terpene wie Limonen oder Pinen sind charakteristische Bestandteile von Blütenduft (Knudsen et al., 2006) und können eine wichtige Rolle bei der Anlockung von Bestäubern spielen.

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Auch die umgebende Lebensgemeinschaft von Pflanzen, welche Terpene produzieren, kann durch diese Sekundärstoffe entscheidend beeinflusst werden. Terpene können Keimung und Wachstum von anderen Pflanzen hemmen, was sowohl konkurrierende Arten behindern, als auch das Wachstum der eigenen Art steuern kann. Der Beifuß, *Artemisia californica* Less. (Asteraceae), und die Salbeiart *Salvia leucophylla* Greene (Lamiaceae) produzieren verschiedene Terpene wie Cineol und Campher, welche in den Boden gelangen und in niederschlagsarmen Gebieten dort verbleiben können. Diese hemmen das Wachstum von anderen Pflanzenarten derart, dass sich in direktem Umkreis dieser Pflanzen kahle Flächen ohne weiteren Bewuchs bilden können (Romagni et al., 2000).

In Harzen können Terpene neben ihrer giftigen und abschreckenden Wirkung noch weitere Funktionen wie den Aufbau von mechanischen Barrieren übernehmen. Gegen Herbivoren und Pilze wirksame Monoterpene wie z. B. Pinen [Abb. 1] kommen dort zusammen mit giftigen und abschreckenden Diterpenensäuren wie Abietinsäure [Abb. 1] vor. Bei Gewebeverletzung könnten die niedermolekularen Monoterpene den Transport der hochmolekularen Diterpene zur Wunde beschleunigen, welche dort bei Kontakt mit Sauerstoff polymerisieren und die Schadstelle versiegeln (Phillips und Croteau, 1999). Bei diesem Vorgang können auch Schadorganismen im aushärtenden Harz immobilisiert werden. Als gefährliche Baumschädlinge haben sich Borkenkäferarten wie z. B. *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae) und *Dendroctonus brevicomis* (Coleoptera: Curculionidae) erwiesen, welche nach Massenvermehrung große Baumbestände befallen und vernichten können. Das von geschädigten Exemplaren der Ponderosa-Kiefer, *Pinus ponderosa* Douglas ex P. ex C. Laws (Pinaceae), produzierte Harz enthält zahlreiche flüchtige Monoterpene und wirkt attraktiv auf *D. brevicomis* (Wood, 1982). Nach der Erstbesiedlung werden von den Käfern Aggregationspheromone produziert, welche weitere Artgenossen anlocken. Diese Verbindungen können auch aus Terpenen der Wirtspflanze gebildet werden, möglicherweise als Resultat einer Entgiftungsstrategie der Herbivoren. *I. typographus* nutzt für die Produktion des Aggregationspheromons (+)-cis-Verbenol das Terpen (+)-α-Pinen seiner Wirtspflanze, der Gemeinen Fichte, *Picea abies* (L.) H. Karst. (Pinaceae) (Phillips und Croteau, 1999). Andere Pheromone wie das von *D. brevicomis* aus pflanzlichem Myrcen gebildete (+)-Ipsdienol wirken abstoßend auf die Käfer und verhindern weitere Besiedlung der Wirtspflanze (Byers, 1982). Eine andere gut untersuchte Wechselbeziehung zwischen spezialisiertem Herbivor und terpenhaltiger Wirtspflanze besteht zwischen den Maulbeerbäumen *Morus nigra* L. und *M. alba* L. (Moraceae) und dem Seidenspinner *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), welcher von Terpenen als Lockstoff zum Auffinden seiner Nahrungspflanze abhängig ist (Hamamura, 1959).

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Auch Insekten können Terpene zur Verteidigung nutzen, indem sie die Wirkstoffe aus ihrer pflanzlichen Nahrung aufnehmen oder auch selber produzieren. Die Larven der Roten Kiefernbuschhornblattwespe, *Neodiprion sertifer* (Hymenoptera: Diprionidae), wehren Fraßfeinde mit einem Sekret aus pflanzlichen Terpenen ab (Eisner et al., 1974).

Die Diversität der Terpene ist besonders bedeutsam, wenn von der Pflanze nicht nur einzelne Terpene genutzt, sondern, wie in Harzen, mehrere in Mischungen eingesetzt werden. So lassen sich die vorteilhaften Wirkungen kombinieren. Bei Kommunikationen sind so spezifischere Signale oder die Codierung von verschiedenen Nachrichten möglich. Auch die Abwehr von Herbivoren kann gestärkt werden, da Anpassungen gegen mehrere Verteidigungssubstanzen weniger wahrscheinlich sind. So können verschiedene Terpene, welche gegen unterschiedliche Schadorganismen wie z. B. Pilze, Insekten oder Säugetiere wirksam sind, in einer Pflanze gespeichert werden, was für einen Schutz gegen ein breites Spektrum von Fraßfeinden sorgt. Die Wirkung von einzelnen Terpenen kann darüber hinaus in Mischungen verstärkt werden. In Experimenten mit *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) wurde der toxische Effekt einer Kombination aus zwei Monoterpenen zum Vergleich einer additiven Wirkung zehnfach verstärkt (Hummelbrunner und Isman, 2001).

1.3 Pflanzen in Koevolution mit Herbivoren

Gut verteidigte Pflanzen üben einen Selektionsdruck auf die herbivoren Organismen aus, die ihrerseits Gegenstrategien entwickeln, um diese Pflanzen dennoch als Nahrungsquelle nutzen zu können. Oligo- oder monophage Insekten, die ein sehr begrenztes Wirtspflanzenspektrum von wenigen Arten oder sogar nur einer Art haben, können hochspezialisierte Anpassungen wie z. B. spezifische Entgiftungsmechanismen nutzen, um die chemische Verteidigung zu überwinden oder zu umgehen (Holzinger et al., 1992; Hartmann et al., 1999; Winde und Wittstock, 2011). Dies kann ihnen auf den Wirtspflanzen einen entscheidenden Vorteil gegenüber weniger angepassten generalistischen Insekten einbringen. Als Folge des hohen Spezialisierungsgrades sind diese Herbivoren jedoch stark vom Vorkommen und von der Verteilung ihrer Wirtspflanze abhängig. Direkte Abwehrmechanismen der Pflanze sind gegen diese Herbivoren aufgrund ihrer besonderen Anpassung häufig nicht erfolgreich. Es können jedoch als indirekte Abwehr auch flüchtige Stoffe freigesetzt werden, welche von Prädatoren der Herbivoren detektiert werden können und sie so zu ihrer Beute führen (Kess-

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

ler und Baldwin, 2002; Dicke und Baldwin, 2010; Erb et al., 2010). Diese Stoffe können auch von anderen Pflanzen erkannt werden und Abwehrmechanismen aktivieren (Karban et al., 2003; Kessler et al., 2006).

Generalisten, welche ein breites Angebot an Wirtspflanzen nutzen, können ihre Nahrung flexibler auswählen, sind aber ohne spezielle Anpassungen anfälliger für die verschiedenen Verteidigungsstoffe der Wirtspflanzen. Ist eine kritische Menge an Pflanzenmaterial aufgenommen, ist ein Wechsel der Wirtspflanze nötig. Während dieser zeit- und energieaufwändigen Suche nach neuer Nahrung sind Generalisten gegenüber ihren Fraßfeinden stärker exponiert (Bernays, 1988; Bernays und Minkenberg, 1997).

Der Selektionsdruck der Pflanzen wirkt somit sowohl auf Generalisten als auch auf Spezialisten, wobei immer die Herbivoren die höchste Fitness haben, die am erfolgreichsten die Verteidigungsmechanismen der Pflanzen ausschalten oder umgehen können. Es ergibt sich daraus ein Wechselspiel aus Strategie und Gegenstrategie. Wird von einer Seite eine wirksame Anpassung entwickelt, vergrößert sich der Selektionsdruck auf die Gegenseite, woraufhin dieser Vorteil ausgeglichen und ein eigener Vorsprung ausgebaut wird, so dass schließlich der Selektionsdruck wieder entgegengesetzt wirkt (Lankau, 2007). Aufgrund der Ähnlichkeit dieses Vorgangs zur Entwicklung der Waffentechnik wird er „evolutionäres Wettrüsten“ oder „*evolutionary arms race*“ genannt (Ehrlich und Raven, 1964).

Der Aufbau von Verteidigungsmechanismen ist jedoch für die Pflanze mit Kosten in Form von Energie und Nährstoffen verbunden, die dann nicht mehr in Wachstum und Fortpflanzung investiert werden können (Heil, 2002; Strauss et al., 2002). Chemische Verteidigung ist daher nur bei optimalem Kosten-Nutzen-Gleichgewicht sinnvoll, um die eigenen Überlebenschancen und die der Nachkommen zu maximieren (Ito und Sakai, 2009). Dies kann abhängig von den jeweiligen Umweltbedingungen auf unterschiedliche Weise erreicht werden (Coley et al., 1985).

Wird eine Pflanze permanent durch Herbivoren bedroht, kann es von Vorteil sein, ständig Abwehrstoffe bereitzustellen. Bei dieser sogenannten konstitutiven Abwehr müssen jedoch kontinuierlich Verteidigungsstoffe synthetisiert und gelagert werden, was für die Pflanze sehr kostenintensiv sein kann (Herms und Mattson, 1992) und zusätzlich mit Gefahr durch Autotoxizität der Abwehrsubstanzen verbunden ist (Wittstock und Gershenzon, 2002). Ist eine Pflanze nur selten Angriffen von Herbivoren ausgesetzt, werden diese Kosten verringert, indem sie Abwehrsubstanzen erst dann produziert, wenn sie auch benötigt werden. Diese durch die Herbivoren induzierte Abwehr schließt eine Signaltransduktionskette ein und benö-

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

tigt eine gewisse Reaktionszeit der Pflanze, in der sie ihren Fraßfeinden relativ schutzlos ausgesetzt ist (Sequeira, 1983; Kessler und Baldwin, 2001).

In einer Kombination aus konstitutiver und induzierter Abwehr werden von der Pflanze relativ kostengünstige inaktive Vorstufen von Abwehrstoffen produziert und gelagert, diese jedoch erst durch den Herbivoren in biologisch aktive Komponenten umgewandelt (Wittstock und Gershenzon, 2002). Diese Möglichkeit bezeichnet man als aktivierte chemische Verteidigung oder „chemische Bombe“. Beispiele für die aktivierte Abwehr sind der enzymatische Abbau von cyanogenen Glycosiden unter Freisetzung von Blausäure (Vetter, 2000) sowie das im Folgenden vorgestellte Glucosinolat-Myrosinase-System (Halkier und Gershenzon, 2006) [Abb. 2], [Abb. 3].

1.4 Das Glucosinolat-Myrosinase-System

1.4.1 Vorkommen, Aufbau und Bedeutung

Das Glucosinolat-Myrosinase-System kommt bei Pflanzen der Ordnung Capparales, darunter bei den Familien Brassicaceae, Resedaceae und Capparidaceae vor (Rodman et al., 1996). Zu den Brassicaceae gehören viele wichtige Nutzpflanzen wie Raps, Kohl, Senf, Rettich, Radieschen und Meerrettich sowie der Modellorganismus *Arabidopsis thaliana* L. (Brassicaceae).

Das System besteht aus zwei Hauptkomponenten, den Glucosinolaten und ihren hydrolytischen Enzymen, den Myrosinasen. Glucosinolate oder Senfölglucoside sind Thioglucoside, die an einem Grundgerüst [Abb. 2] unterschiedliche Seitenketten tragen. Der Aufbau dieser Seitenketten wird durch die Struktur der Aminosäuren bestimmt, die als Vorstufen in die Biosynthese der Glucosinolate eingehen [Tab. 1] (Fahey et al., 2001; Mithen, 2001). Durch Modifikationen der Aminosäuren wie Kettenverlängerung sowie sekundäre Seitenkettenveränderungen der synthetisierten Glucosinolate ergibt sich aus nur acht in die Biosynthese eingehenden proteinogenen Aminosäuren eine enorme strukturelle Vielfalt. Bisher sind mehr als 120 verschiedene Glucosinolate beschrieben worden (Fahey et al., 2001).

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

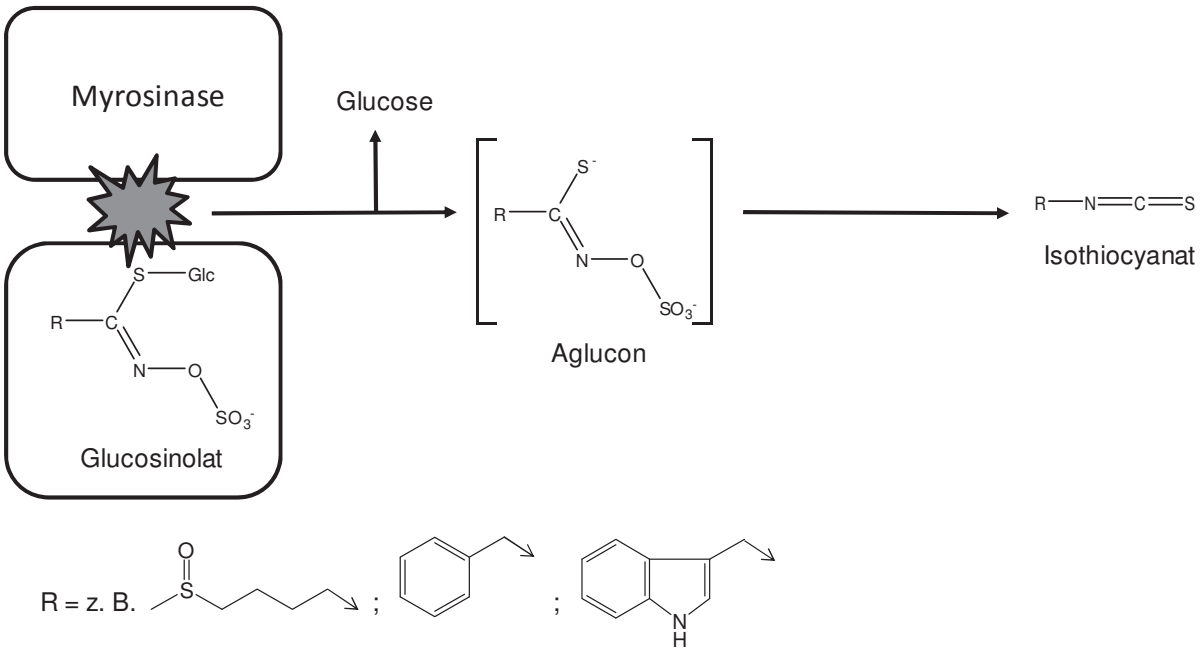

Abb. 2: Vereinfachte Darstellung des Glucosinolat-Myrosinase-Systems

Kommen Myrosinase und Glucosinolat (mit aliphatischer, aromatischer oder indolischer Seitenkette) durch Gewebeschädigung in Kontakt, führt die Hydrolysereaktion unter Abspaltung von Glucose zum instabilen Aglycon, welches sich spontan zu Isothiocyanaten umlagert.

Tab. 1: Aminosäuren mit unterschiedlicher Seitenkette als Ausgangsverbindung der Glucosinolat-Biosynthese

Glucosinolate lassen sich abhängig von der Seitenkette der als Vorstufe dienenden Aminosäure in verschiedene Gruppen einteilen. In *A. thaliana* werden aus Methionin aliphatische, aus Phenylalanin aromatische und aus Tryptophan indolische Glucosinolate gebildet.

	aliphatische Seitenkette	aromatische Seitenkette	indolische Seitenkette
Aminosäure	Methionin	Phenylalanin	Tryptophan
Glucosinolat-Strukturbeispiel	4-Methylsulfinylbutylglucosinolat	Benzylglucosinolat	Indol-3-ylmethylglucosinolat

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Glucosinolate und Myrosinase liegen im intakten Pflanzengewebe kompartimentiert vor und können zunächst nicht miteinander reagieren (Rask et al., 2000). Somit wird die vorzeitige Hydrolyse der Glucosinolate und damit eine Selbstvergiftung der Pflanze verhindert. In Blütenstängeln von *A. thaliana* wurde die Myrosinase in Idioblasten des Phloemparenchyms und in Schließzellen gefunden (Husebye et al., 2002), Glucosinolate in schwefelreichen „S-Zellen“ in direkter Nachbarschaft des Phloems (Koroleva et al., 2000). In Keimlingen vom Braunen Senf, *Brassica juncea* L. (Brassicaceae), dagegen wurden in denselben Zellen sowohl Glucosinolate als auch Myrosinase detektiert (Kelly et al., 1998). Die räumliche Trennung kann somit sowohl auf zellulärer als auch auf subzellulärer Ebene stattfinden.

Wird die Kompartimentierung durch Beschädigung des Pflanzengewebes z. B. durch Herbivoren aufgehoben, kommen Glucosinolate und Myrosinase in Kontakt und bilden als „Senfölbombe“ aktive Produkte (Matile, 1980). Dabei wird die thioglucosidische Bindung der Glucosinolate durch die Myrosinase hydrolytisch gespalten, was zur Bildung eines instabilen Aglucons unter Eliminierung von β-D-Glucose führt. Das Aglucon lagert sich spontan zu Isothiocyanaten um [Abb. 2] (Bones und Rossiter, 1996; Rask et al., 2000). Unter bestimmten Bedingungen können andere Produkte gebildet werden [Abb. 3]. Die gebildeten Hydrolyseprodukte sind für viele biologische Wirkungen verantwortlich und bestimmen außerdem maßgeblich den charakteristischen Geschmack und Geruch der Nutzpflanzen aus der Familie der Brassicaceae.

Die Isothiocyanate sind hauptsächlich für die vom Glucosinolat-Myrosinase-System ausgehenden toxischen Effekte verantwortlich und können als Gase, als Kontaktgifte oder erst nach Resorption im Darm wirken. Die Toxizität für viele generalistische und spezialisierte Insekten (Blau et al., 1978; Agrawal und Kurashige, 2003; Wittstock et al., 2003) als auch für andere Organismen wie Nematoden (Buskov et al., 2002), Mikroorganismen (Mithen et al., 1986; Tierens et al., 2001) und Säugetiere (Schmid und Schmid, 1992) ist experimentell nachgewiesen worden. Letzteren kommt durch Verwendung von Rapskuchen aus der Ölproduktion als Futtermittel besondere wirtschaftliche Bedeutung zu (Mawson et al., 1994).

Die Verteidigungsfunktion des Glucosinolat-Myrosinase-Systems ist experimentell auch in Fraßtests mit intakten Pflanzen und generalistischen Herbivoren untersucht worden. So werden z. B. Pflanzen von *B. juncea* mit hohem Glucosinolat- und hohem Myrosinasegehalt durch Larven des Falters *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) weniger stark geschädigt als Pflanzen mit niedrigen Gehalten an Myrosinase und Glucosinolaten (Li et al., 2000). Gegen spezialisierte Insekten sind Glucosinolate jedoch als Verteidigungsmittel durch spezifische Anpassungsmechanismen weitgehend wirkungslos (Müller et al., 2001; Ratzka et

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

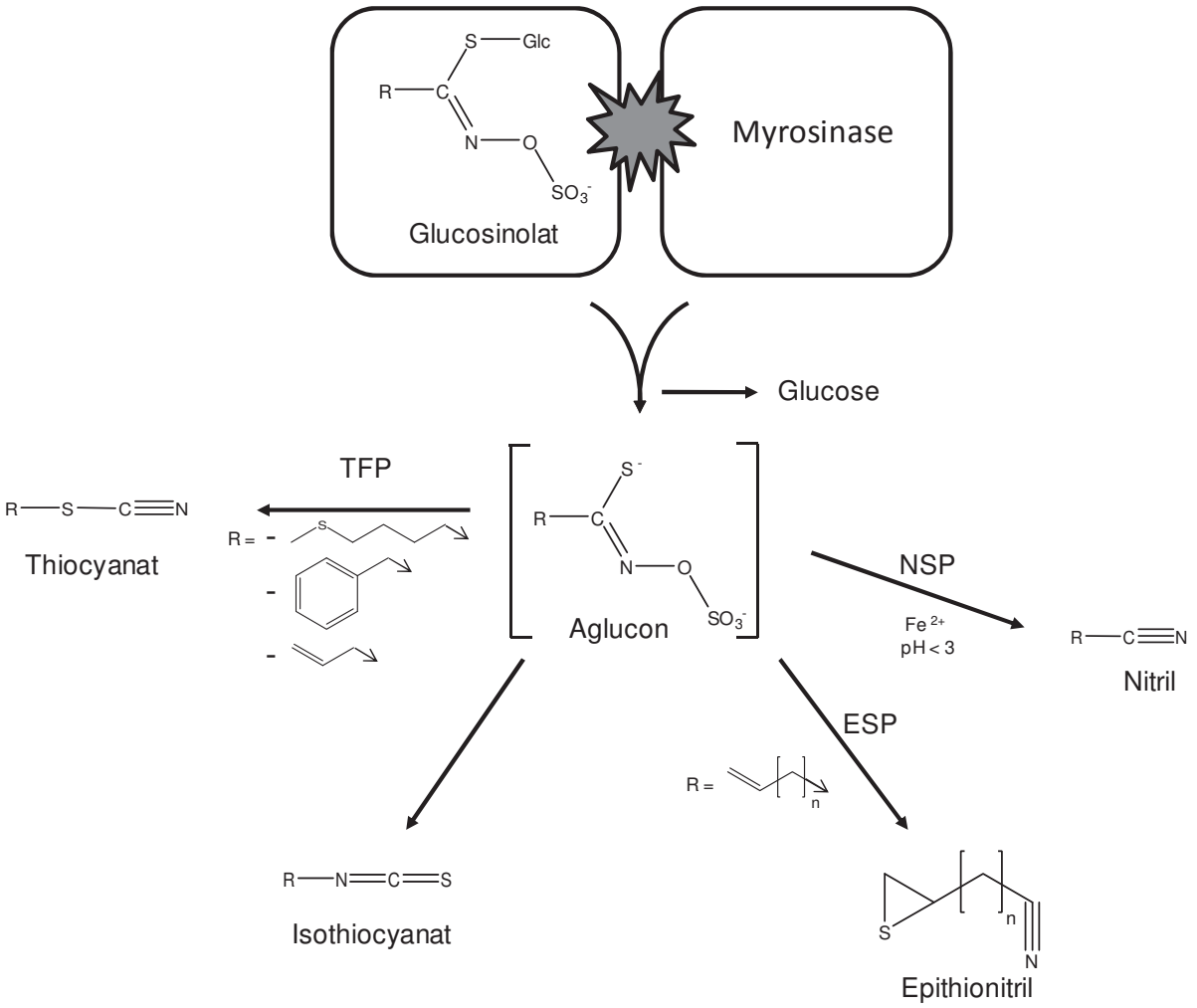

Abb. 3: Das Glucosinolat-Myrosinase-System

Bei Beschädigung des Pflanzengewebes werden Glucosinolate durch Myrosinase hydrolysiert, was zur Freisetzung des Glucoserests und Bildung eines instabilen Aglucons führt. Dieses lagert sich spontan zum Isothiocyanat um, bei niedrigem pH und in Gegenwart von Eisenionen können auch Nitrile entstehen. Unter dem Einfluss spezifizierender Proteine (TFP: Thiocyanatformendes Protein, ESP: Epithiospezifizierendes Protein, NSP: Nitrilspezifizierendes Protein) entstehen anstatt der Isothiocyanate alternative Produkte, nämlich Thiocyanate, Epithionitrile und einfache Nitrile. Thiocyanate können nur bei Anwesenheit von TFPs aus 4-Methylthiobutyl-, Benzyl-, oder Allylglucosinolat gebildet werden, wobei TFPs eine ausgeprägte Substrat- und Produktspezifität aufweisen. ESPs bewirken die Bildung von Epithionitrilen aus Glucosinolaten mit terminaler Doppelbindung. Die Bildung von Epithionitrilen ist auch eine Nebenaktivität von TFPs. Unter Einfluss von NSP entstehen dagegen ausschließlich einfache Nitrile. Einfache Nitrile können in Abhängigkeit von der Glucosinolatstruktur auch als Produkte von ESP- oder TFP-katalysierten Reaktionen entstehen. Indolglucosinolate wurden in dieser Abbildung aufgrund der instabilen Hydrolyseprodukte nicht berücksichtigt.

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

al., 2002; Wittstock et al., 2004). Herbivoren wie die Larven des Kleinen Kohlweißlings, *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae), und der Kohlmotte, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), können die Bildung toxischer Hydrolyseprodukte verhindern. Sie nutzen intakte Glucosinolate sogar als Signalstoffe zur Identifizierung ihrer Wirtspflanzen. In Chemorezeptoren beider Spezialisten rufen Glucosinolate spezifische Antwortreaktionen hervor und wirken fraßstimulierend (van Loon et al., 2002; Miles et al., 2005). Sie sind außerdem bei der Wahl der Wirtspflanze zur Eiablage von Bedeutung (Städler et al., 1995; Sarfraz et al., 2006).

Zusätzlich zu Glucosinolaten und Myrosinase spielen in vielen Pflanzen spezifizierende Proteine eine Rolle bei der Bildung von Hydrolyseprodukten. Diese erstmals aus der Krambe, *Crambe abyssinica* Hochst. ex. R. E. Fries (Brassicaceae), isolierten Proteine (Tookey, 1973) besitzen selbst keine hydrolytische Aktivität. Sie haben jedoch entscheidenden Einfluss auf das Spektrum der gebildeten Hydrolyseprodukte, indem sie die Bildung von Nitrilen, Epithionitrilen oder Thiocyanaten anstelle von Isothiocyanaten bewirken [Abb. 3] (Bernardi et al., 2000; Foo et al., 2000; Lambrix et al., 2001; Matusheski et al., 2006; Burow et al., 2007; Burow et al., 2009). Sie bieten der Pflanze dadurch die Möglichkeit, die Vielfalt der chemischen Strukturen des Verteidigungsarsenals zu erhöhen. Aus einem Glucosinolat können so in Folge der Hydrolysereaktion bis zu vier Produkte entstehen. Das Spektrum der entstehenden Hydrolyseprodukte ist von der Struktur der Glucosinolatseitenkette, Reaktionsbedingungen wie pH-Wert oder Metall-Cofaktoren wie Eisenionen sowie von der Substratspezifität der spezifizierenden Proteine gegenüber den Agluca der unterschiedlichen Glucosinolate abhängig. Die biologische Wirkung der verschiedenen Hydrolyseprodukte, insbesondere der Epithionitrile und Thiocyanate ist nur wenig untersucht. Sie unterscheiden sich jedoch in ihren physikochemischen Eigenschaften, z. B. der Flüchtigkeit, von den Isothiocyanaten, was unterschiedliche Funktionen der Hydrolyseprodukte vermuten lässt. Als Beispiel werden Nitrile gegenüber Isothiocyanaten als weniger giftig angesehen (Wittstock et al., 2003). Daher erscheint es aufgrund des verringerten Schutzes zunächst nicht sinnvoll, sie anstatt der wirksamen Isothiocyanate freizusetzen. Nitrile können jedoch aufgrund ihrer höheren Flüchtigkeit eine Rolle als Botenstoff in tritrophen Interaktionen übernehmen. Der Steuerung der Hydrolysereaktion durch die spezifizierenden Proteine kommt somit eine besondere Rolle bei der Feinjustierung der pflanzlichen Verteidigung zu.

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.

Die strukturelle Vielfalt sowohl der Glucosinolate als auch der möglichen Hydrolyseprodukte wirft Fragen nach ihrer ökologischen Bedeutung auf, welche noch nicht vollständig geklärt sind. Die Untersuchung der biologischen Wirkung und ökologischen Funktion ist experimentell nicht unproblematisch, da der Einsatz von Glucosinolaten und Glucosinolat-Hydrolyseprodukten als Reinsubstanzen in Bioassays die natürlichen Verhältnisse nur unzureichend simuliert. Durch ihren charakteristischen Geruch könnten die Hydrolyseprodukte in einer künstlichen Diät entscheidenden Einfluss auf das Verhalten von Herbivoren haben, natürlicherweise würden sie erst nach der Gewebeverletzung gebildet werden. Die hohe Reaktivität der Isothiocyanate könnte zu Reaktionen mit künstlichen Nahrungsmischungen führen, die ihre Wirksamkeit herabsetzen. Werden die intakten Glucosinolate in Diäten angeboten, kommt es nicht zur Bildung von Hydrolyseprodukten, da Myrosinasen fehlen. Ein kompletter Nachbau des Glucosinolat-Myrosinase-Systems mit künstlicher Diät ist bisher noch nicht realisiert worden. Für Biotests wurde häufig auf intakte Pflanzen zurückgegriffen. Experimente mit verschiedenen Pflanzenarten, die unterschiedliche Profile von Glucosinolaten oder Hydrolyseprodukten aufweisen, sind zwar generell möglich, jedoch unterscheiden sich Pflanzenarten meist auch in anderen Eigenschaften, so dass eine gute Vergleichbarkeit der Experimente nicht gegeben ist.

Durch die Verwendung von *A. thaliana* als Modellpflanze haben sich jedoch neue Ansätze zur Untersuchung der Stukturdiversität von Glucosinolaten und Hydrolyseprodukten ergeben. Das Genom dieser Pflanze ist vollständig sequenziert und der größte Teil der an der Glucosinolat-Biosynthese beteiligten Gene ist bekannt. Mit Hilfe des Bakteriums *Agrobacterium tumefaciens* (Rhizobiales: Rhizobiaceae) sind Transformationen einfach und effizient durchführbar. So steht gegenwärtig eine Vielzahl von Mutanten mit unterschiedlichem Profil von Glucosinolaten und Hydrolyseprodukten für vergleichende Untersuchungen zur Verfügung.

Dieses Werk ist copyrightgeschützt und darf in keiner Form vervielfältigt werden noch an Dritte weitergegeben werden.
Es gilt nur für den persönlichen Gebrauch.