

Induktions- und Nachweismethoden für Stilbene bei Vitaceen

VON

U. STEIN und G. HOOS

Methods for induction and determination of stilbenes in Vitaceae

S u m m a r y . — The stilbenes resveratrol and ϵ -viniferin produced by leaves of different grapevine species and varieties in response to certain stimulants (*Botrytis* infection, UV radiation, sugar solutions, mucic acid) have been identified by use of quantitative thin-layer chromatography.

Without artificial induction, only small concentrations of resveratrol and/or ϵ -viniferin could be measured in the leaves of some grapevines.

Leaf pieces were placed on filter cardboard soaked with an aqueous solution of mucic acid. The edges of the pieces excreted stilbenes into the cardboard, the concentrations of which were estimated under long wavelength (366 nm) UV radiation. A significant correlation was shown between the data obtained by visual appraisal and the results from thin-layer chromatography.

Hence, this visual method allows quick and sufficiently reliable classification of grapevines according to their stilbene production.

The susceptibility to *B. cinerea* was negatively correlated with the ability of grape leaves to produce stilbenes after defined stimulation. The grapevines investigated could be classified as low, middle or highly resistant. A few exceptions showed low stilbene production together with low susceptibility to *B. cinerea*.

The stilbene production of leaves (induced by mucic acid) and that of berries (induced by saccharose solution) of 6 different grapevines were positively correlated. A negative correlation was found between stilbene production and susceptibility to *B. cinerea*.

Einleitung

Die allgemein zunehmende Resistenz von weinbaulichen Schadpilzen — insbesondere von *Botrytis cinerea* — gegenüber Spritzmitteln, läßt im Hinblick auf die Züchtung widerstandsfähiger Rebsorten die Erforschung pflanzeneigener Abwehrmechanismen als unbedingt notwendig erscheinen.

Als mögliche Resistenzfaktoren gegen eine Infektion und Ausbreitung von *B. cinerea* in der Pflanze werden u.a. die Struktur und Zusammensetzung des Abschlußgewebes, die Hemmung des Pilzwachstums auf der Pflanzenoberfläche, die Verhinderung der Penetration durch Zellwandverdickungen, die Wirkung präformiert vorliegender Hemmstoffe sowie eine Lignifizierung und Suberinisierung des infizierten Gewebes diskutiert (Literaturübersicht bei MANSFIELD 1980).

Nach Meinung zahlreicher Autoren kommt darüber hinaus den von vielen Pflanzen erst nach einer Infektion gebildeten niedermolekularen, antimikrobiell wirkenden Substanzen (Phytoalexinen) bei der Abwehr von Parasiten große Bedeutung zu (Literaturübersicht u.a. BILLEK 1964, INGHAM 1972, GRIESEBACH und EBEL 1978, 1983, KUC 1978, CRUICKSANK 1980, STOESSL 1980, LUCZKA 1982, BLAICH *et al.* 1982, STEIN 1984).

Die von LANGCAKE (1976, 1981), L. und PRYCE (1977 a, 1977 b), L. *et al.* (1979), L. und McCARTHY (1979) in Blättern verschiedener Rebsorten bzw. -arten nach unterschiedlicher Induktion (z. B. Bestrahlung mittels kurzwelligem UV-Licht, Inokulation mit Sporen von *Plasmopara viticola* und *B. cinerea*) nachgewiesenen pflanzlichen Stoffwechselprodukte besitzen fungistatische bzw. fungitoxische Eigenschaften und können, im

Sinne obiger Definition, als Phytoalexine bezeichnet werden. Sie wurden als Pterostilben (*trans*-3,5-Dimethoxy-4'-hydroxystilben), Resveratrol (*trans*-3,5,4'-Trihydroxystilben) sowie als Resveratrol-Polymere (ϵ -Viniferin, Dimer, α -Viniferin, Trimer) identifiziert.

In weiteren Untersuchungen an Reblättern wurde festgestellt, daß neben einer kurzweiligen UV-Bestrahlung und einer direkten Pilzinokulation auch isolierte pilzliche Stoffwechselprodukte sowie eine Vielzahl definierter chemischer Substanzen, zu denen u. a. auch die nach einem *Botrytis*-Befall im pflanzlichen Gewebe durch enzymatische Oxidation von Galakturonsäure gebildete Galaktarsäure, aber auch einfache Zucker wie Glucose und Fructose gehören, eine Resveratrolproduktion auslösen können (BLAICH und BACHMANN 1980, STEIN 1980).

Bei Blättern unterschiedlich pilzanfälliger Genotypen der Rebe stand die im Umkreis der Läsionen festgestellte Resveratrolkonzentration im umgekehrten Verhältnis zum Anfälligkeitsgrad, so daß vermutet werden kann, daß die Fähigkeit zu einer entsprechend schnellen und hohen Stilbenproduktion ein möglicher Resistenzfaktor der Rebe gegenüber Pilzbefall darstellt (LANGCAKE 1981, POOL *et al.* 1981).

Zum Nachweis und zur Identifizierung der im Pflanzenreich weit verbreiteten Stilbene wurden verschiedene Methoden wie fraktionierte Kristallisation, Papier-, Säulen- und Dünnschichtchromatographie, Hochdruckflüssigchromatographie, Gaschromatographie u. a. angewendet (Literatur s. HOOS 1983).

Im folgenden sollen verschiedene methodische Ansätze und die letztendliche Ausarbeitung einer gut reproduzierbaren und — vor allem im Hinblick auf den praktischen Einsatz in der Rebenzüchtung und Züchtungsforschung — möglichst einfach zu handhabende Induktions- und Bestimmungsmethode der pflanzlichen Stilbenproduktion (Resveratrol und ϵ -Viniferin) beschrieben werden (s. Abb. 1).

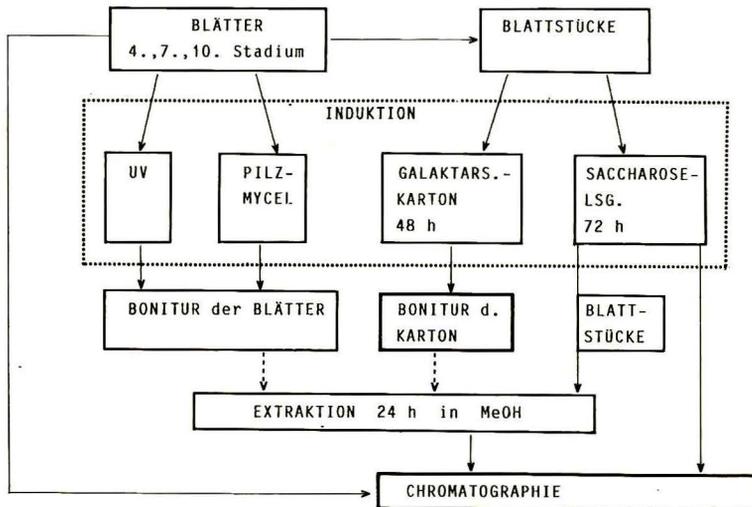


Abb. 1: Schematische Darstellung verschiedener Induktions- und Nachweismethoden für Stilbene bei Vitaceen.

Schematic presentation of different induction and determination methods for stilbenes in Vitaceae.

Material und Methoden

Die vorliegenden Untersuchungen wurden in den Jahren 1981—1983 an Blättern und Trauben von insgesamt 123 verschiedenen Rebart- und -sorten aus dem Versuchsgelände der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung Geilweilerhof durchgeführt.

Für die Induktionsversuche mit *B. cinerea* stand ein von Müller-Thurgau-Beeren gewonnenes, hinsichtlich Mycel- und Sporenalter vergleichbares Inokulat zur Verfügung. Nach Durchführung verschiedener Vorversuche mit Konidien- und Mycelsuspensionen an verletzten und unverletzten Rebblättern wurden letztlich runde, mit *B. cinerea* bewachsene Agarstückchen zur Inokulation verwendet. In die verschieden alten Rebblätter (4., 7. und 10. Blatt, basipetal nummeriert) wurden mit Hilfe eines Edelstahlrohres (\varnothing 3 mm) kreisrunde Löcher gestanzt und diese mit ebenfalls ausgestanzten Mycelstückchen (\varnothing 6 mm) belegt. Die Fläche des nach 2, 4 und 6 d nekrotisierten Blattgewebes diente als Maß für die Anfälligkeit der untersuchten Rebblätter. Die im Umkreis der Läsionen befindlichen Stilbenkonzentrationen wurden mit langwelligem UV-Licht (366 nm) als unterschiedlich breite und helle Zonen visuell bonitiert bzw. nach methanolischer Extraktion (150 mg Blattgewebe/5 ml MeOH, 24 h im Dunkeln schütteln) mittels Dünnschichtchromatographie (DC) quantifiziert.

Die von BLAICH und BACHMANN (1980) beschriebene Induktion von Resveratrol in ausgestanzten Stücken von Vitaceen-Blättern diente als Grundlage für folgende Methode: Je Versuchsvariante 10 ausgestanzte Blattstücke von den für die Infektionsversuche verwendeten Rebblättern auf 2,5 cm breite und 20 cm lange, mit 6,5 ml Galaktarsäurelösung (0,01 % w/v in H_2O) getränkte Testkartonstreifen (S+S 2105) auflegen und in als Feuchteammer dienenden Plastikschalen 48 h im Dunkeln inkubieren. Die von den Blattstücken produzierte und in den Karton abgegebene Stilbenmenge nach Entfernen der Blattstücke nach 12, 24 und 48 h unter langwelligem UV-Licht mit Hilfe einer 8stufigen Skala visuell bonitieren.

In Zusatzversuchen wurde außerdem das Verlegen der Blattstücke nach 6, 12, 24 und 48 h auf jeweils neue Kartonstreifen sowie eine mögliche Induktorwirkung des systemischen Fungizides Aliette (Al-Fosetyl, Rhône Poulenc) untersucht. Weiterhin wurde die Wirkung von DL-p-Fluorphenylalanin (DLFP, Serva) und α -Aminooxy- β -phenyl-propionsäure (AOPP)¹⁾ auf die Stilbenbildung bzw. -abgabe von Blattstücken nach der oben beschriebenen Methode getestet. Ausgestanzte Blattstücke von *V. riparia* (8. Blatt) wurden vor dem Auflegen auf mit Galaktarsäure getränkten Karton mit DLFP (0,05 % w/v in H_2O) und AOPP (0,01 % w/v in H_2O) infiltriert und nach 18, 30 und 54 h auf jeweils neue Kartonstreifen verlegt, die visuell bonitiert sowie dünnschichtchromatographisch ausgewertet wurden. Als Kontrollen dienten mit L-Phenylalanin infiltrierte Blattstücke. Die Stilbeninduktion in Rebblättern bzw. Blattstücken mittels kurzwelligem UV-Licht (250 nm) erfolgte durch die Bestrahlung mit einer HANAU-Quarzröhre (35 W, Type 5135) aus 10 cm Entfernung für 10 min. Nach der Bonitur wurden die Kartonstreifen bei +40 °C im Dunkeln getrocknet und innerhalb der nächsten 5 d in 100 ml MeOH/Streifen 24 h extrahiert. Der Extrakt wurde im Vakuumrotationsverdampfer bei +40 °C eingeengt und in 2 x 1 ml MeOH : H_2O (1 : 1) aufgenommen.

Um Blattstückchen in flüssigem Medium zur Stilbenproduktion anzuregen, wurden in Vorversuchen verschiedene Substanzen (PVP, Sephadex, Agar, Chitin, Cellulose, Stärke, Pektin, Inulin, Mannit, Glucose, Saccharose und Galaktarsäure) als

¹⁾ Für die freundliche Überlassung von AOPP danken wir Herrn Prof. N. AMRHEIN, Ruhr-Universität, Bochum.

Induktoren getestet und folgende Methode angewendet: 10 Blattstückchen (Blätter mit 70 %igem Alkohol und sterilem Wasser gereinigt, \varnothing 1 cm) mit 5 ml 0,1 M Saccharoselösung 72 h in 50-ml-Erlenmeyerkolben bei Raumtemperatur im Dunkeln schütteln. Danach die Induktorlösung 1 : 1 mit MeOH verdünnen und die Blattstücke in 5 ml MeOH 24 h extrahieren.

Der Nachweis der Stilbene — Reveratrol und ϵ -Viniferin — erfolgte dünnschichtchromatographisch. Auf Mikropolyamid-Platten (S+S F 1700, halbierte Normalgröße 7,5 cm \times 15 cm) wurde mit einer Merck-Mikrokapillare 0,75 μ l Testlösung aufgetragen und mit den Fließmitteln A (MeOH : Ethylacetat, 2 : 1, für Kartonextrakte und Induktionsmedien) sowie B (Dichlormethan : Ethylacetat, 2 : 1, für Blattextrakte) entwickelt.

Die Auswertung der Dünnschichtplatten erfolgte mit dem Shimadzu-Chromatoscanner CS 920 bei einer Wellenlänge von 325 nm. Die einzelnen Testmedien konnten ohne weitere Anreicherungs- und Reinigungsschritte direkt vermessen und im Vergleich mit Eichreihen quantifiziert werden. Dabei entsprachen 1000 Scan-Einheiten 1,5 ng Resveratrol bzw. 3 ng ϵ -Viniferin. Bei den dünnschichtchromatographisch ermittelten und in den Tabellen und Abbildungen dargestellten Stilbenwerten entsprechen 1000 Scan-Einheiten 16 μ g Resveratrol bzw. 32 μ g ϵ -Viniferin/g Frischgewicht.

Ergebnisse und Diskussion

Blätter bzw. Blattstücke aller hier untersuchten Rebsorten bilden trans-Resveratrol und trans- ϵ -Viniferin (cis-Isomere konnten nicht nachgewiesen werden) und geben diese auch nach außen ab. Die Menge der gebildeten Stilbene ist von den Versuchsbedingungen, z. B. Art und Konzentration des Induktors sowie Induktionsdauer, abhängig.

Die nach einer entsprechenden Induktion produzierten Stilbene Resveratrol und ϵ -Viniferin konnten mit Methanol sowohl aus dem Blattgewebe wie auch aus den — als Unterlage und Träger verschiedener Induktionsmittel dienenden — Kartonstreifen extrahiert und dünnschichtchromatographisch gegen Vergleichssubstanzen bestimmt werden.

Von auf Testkarton aufgebrauchten Reinsubstanzen ließen sich nach 1wöchiger Lagerung 80 % der eingesetzten Resveratrol- und 70 % der Viniferinmenge wieder nachweisen. Die gemessenen Scan-Einheiten, die in einem weiten Konzentrationsbereich, entsprechend 0,2–20 ng Resveratrol bzw. ϵ -Viniferin je Fleck, ausreichend lineare Werte ergaben, wurden jeweils auf 100 % umgerechnet.

Da es unter Lichteinfluß (vor allem UV-Licht) zu einer schnellen Isomerisierung der Stilbene kommen kann (BILLEK 1964, BLAICH und BACHMANN 1980, HOOS 1983), wurden die jeweiligen Proben bei +5 °C im Dunkeln gelagert und immer möglichst schnell ausgewertet. Die R_f-Werte der in der stabileren trans-Konfiguration vorliegenden Stilbene (u. a. HATHWAY 1962, INGHAM 1976, LANGCAKE und PRYCE 1977 a) betragen in Methanol : Ethylacetat für Resveratrol 0,50 und ϵ -Viniferin 0,33, in Dichlormethan : Methanol 0,38 bzw. 0,17. Die chromatographisch getrennten Stilbene ließen sich weiterhin anhand ihrer unterschiedlichen Anregungsspektren identifizieren (HOOS 1983).

Jeweils das 10. Blatt verschiedener Reben wurde ohne vorherige Versuchsinduktion 1981 und 1982 auf seinen Stilbengehalt untersucht. Die 1981 geernteten Blattproben waren bis zum Test tiefgefroren, die Proben des Jahres 1982 wurden direkt ausgewertet. Dabei zeigte sich, daß die Blätter einiger Sorten Resveratrol und/oder ϵ -Vini-

Tabelle 1

Vorkommen von Resveratrol und ϵ -Viniiferin in Blättern verschiedener Rebartensorten ohne vorherige Versuchsinduktion (Insertionshöhe: 10. Blatt; Entnahmetermine: 30. 7. 81 und 5. 7. 82)

Occurrence of resveratrol and ϵ -viniiferin in leaves of different grape species and varieties without artificial induction (leaf no. 10; dates of removal 30. 7. 81 and 5. 7. 82)

	1981		1982	
	Res- veratrol	Vini- ferin	Res- veratrol	Vini- ferin
Chenin Blanc	-	-		
Foster's White Seedling	-	-	-	-
Furmint	-	-		
Müller-Thurgau			-	-
Riesling (4)	-	-	-	-
Castor	+	-		
Pollux	+	-	-	-
Gf. Ga-49-22			-	-
Gf. Ga-54-14			+	-
Gf. Vi 1285	-	-		
<i>V. arizonica</i>	-	-	-	-
<i>V. armata</i>	-	+	-	+
<i>V. caucasica</i> (6-2-6)	-	-	-	-
<i>V. champinii</i>	+	-	+	+
<i>V. cordifolia</i>	-	-	-	-
<i>V. silvestris</i> (9-5-21)	-	-	+	+
<i>V. silvestris</i> (96-64)	-	-	-	-
<i>V. silvestris</i> (Ketsch)	-	-	-	-
<i>V. silvestris</i> (Ketsch 6)	-	-	-	-
<i>V. silvestris</i> (Ketsch 6-40)	-	-	+	-
<i>V. silvestris</i> (Ketsch 6-40)	-	-	-	+
<i>V. riparia</i>	+	+	-	-
<i>V. riparia</i> Orillia	+	-	+	+
Riparia Barret M3-43	+	+		
Riparia Barret 5-6	-	-	-	-
Riparia Barret 75	+	+	+	+
Riparia G 2			+	+
Riparia G 1 Engers	-	+		
<i>V. rupestris</i>			-	-
Rupestris du Lot			+	+
Riparia x Rupestris	-	-	-	-
<i>Ampelopsis cordata</i>	+	+		
<i>Ampelopsis vitifolia</i>	-	-	-	-

rin in geringen Konzentrationen auch ohne vorher gesetzte Induktion enthalten (s. Tabelle 1). Dies ist möglicherweise auf eine „natürliche“ Induktion (Infektion, Klima, Licht etc.) oder auf eine ständige Produktion der Stilbene für die Einlagerung in das Kernholz zurückzuführen (BLAICH und BACHMANN 1980, POOL *et al.* 1981).

Nach Untersuchungen von LANGCAKE und MCCARTHY (1979) und LANGCAKE (1981), die an Blättern verschiedener *V. vinifera*-Sorten die Verteilung von Resveratrol in den sich ausbreitenden, durch *B. cinerea* verursachten Läsionen überprüften, entsprach diese dem Auftreten einer Blaufluoreszenz, die bei langwelliger UV-Bestrahlung makroskopisch beobachtet werden konnte.

In einzelnen Gewebezonen in und um die Läsionen wurden dabei, in Abhängigkeit von den verwendeten Rebblättern, unterschiedliche Mengen von Resveratrol und ϵ -Viniferin sowie (als nicht fluoreszierende Komponente) α -Viniferin nachgewiesen.

In eigenen Untersuchungen konnten die Ergebnisse der obigen Autoren im Hinblick auf die unterschiedliche Verteilung von Resveratrol und ϵ -Viniferin in infizierten Rebblättern bestätigt werden.

In einem durchschnittlich 3—6 mm breiten Saum des an die Läsion angrenzenden (aber noch nicht sichtbar nekrotisierten) Gewebes war bei allen untersuchten Reben die höchste Stilbenkonzentration festzustellen (s. Abb. 2).

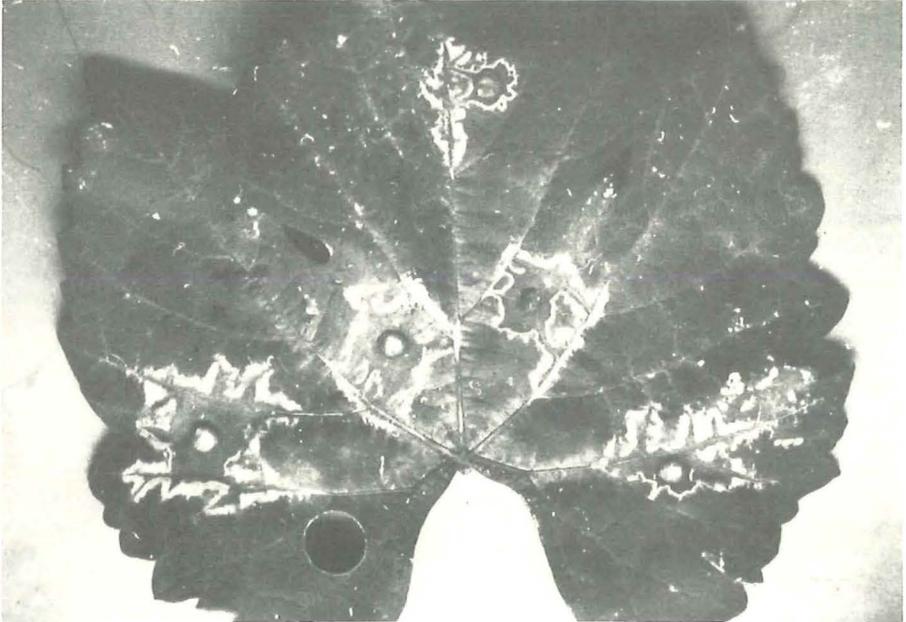


Abb. 2: *Botrytis*-Läsionen mit fluoreszierendem Hof auf einem Blatt von *V. vinifera* cv. Ga-49-22 (Insertionshöhe: 10. Blatt). Aufnahme: UV-Licht (366 nm).

Spreading lesions caused by *B. cinerea* surrounded by a band of blue fluorescence in a leaf of *V. vinifera* cv. Ga-49-22 (leaf no. 10, numbered from the shoot tip down). Exposure: UV-radiation (366 nm).

Da von der beobachteten Fluoreszenzintensität auf die entsprechende Stilbenmenge im Gewebe geschlossen werden konnte, wurden die Blätter 2, 4 und 6 d nach der Inokulation unter langwelligem UV-Licht auf Blaufluoreszenz bonitiert und jeweils einzelne Varianten dünn-schichtchromatographisch auf den Gehalt an Resveratrol und ϵ -Viniferin untersucht.

Dabei ergaben sich hinsichtlich der Stilbenproduktion als Reaktion auf einen *Botrytis*-Befall sowohl innerhalb als auch zwischen den einzelnen Blattstadien und Genotypen mehr oder weniger große Unterschiede. So wurde bei den gleichen Versuchsvarianten die produzierte Stilbenmenge teilweise sehr stark durch die jeweilige Läsionsgröße beeinflusst.

Da eine *B. cinerea*-Inokulation bei den weniger anfälligen Reben zu einer deutlich geringeren Nekrotisierung des Blattgewebes führte, die anfälligeren Typen jedoch entsprechend größere Läsionen aufwiesen, erscheint die Bestimmung des Stilbengehaltes im Gewebe nach *Botrytis*-Befall mit zwei „Unbekannten“ behaftet, die es nicht erlauben, in jedem Fall zwischen Ursache und Wirkung zu unterscheiden: So resultiert aus der verschiedenen Anfälligkeit der einzelnen Rebsorten und Blattstadien ein unterschiedlicher Befall und — in Abhängigkeit davon — offensichtlich auch eine unterschiedliche Induktion, die wiederum eine entsprechende Reaktion (Stilbenbildung) zur Folge hat.

Bemerkenswert ist, daß an der durch das Ausstanzen von Blattstücken entstandenen Verletzung (sichtbar in Abb. 2 als kreisrundes Loch am oberen rechten Blattrand) keine oder nur eine sehr geringe Fluoreszenz nachweisbar war, d. h. eine bloße Verletzung reicht offensichtlich für eine Induktion der Stilbene nicht aus.

Stand bei einigen Reben, vor allem bei den anfälligeren wie Riesling, Forster's White Seedling, *V. caucasica* sowie den toleranteren wie *V. riparia* Barret, *V. riparia* Gloire de Montpellier, *V. rupestris* du Lot die Stilbenkonzentration im Umkreis der Läsionen in umgekehrtem Verhältnis zum Anfälligkeitsgrad, so zeigten dagegen vor allem die Varianten mit mittlerer Empfindlichkeit wie Ga-49-22, Pollux (B-6-18), *V. silvestris*, aber auch solche mit sehr geringem *Botrytis*-Befall (*V. rupestris* N, *V. riparia* G 1 Engers) ein unterschiedliches Verhalten.

Vergleicht man bei der letztgenannten Gruppe den Stilbengehalt im Gewebe, so zeigen die mittelanfälligen (bei entsprechend stärkerem *Botrytis*-Befall) einen höheren Gehalt als die resistenteren; bezieht man jedoch die Stilbenproduktion auf die Läsionsgröße (die möglicherweise sowohl ein Maß für die Induktion als auch für die Stärke des Pilz-, „Angriffs“ — den es ja „abzuwehren“ gilt — darstellt), so zeigen die resistenteren Sorten ein günstigeres Verhältnis zwischen produzierter Stilbenmenge und infiziertem Gewebe.

Weiterhin ergab sich aus den Untersuchungen, daß die jungen und anfälligeren Reblätter (4. Blatt) generell weniger Stilbene produzieren als ältere (7. und 10. Blatt). Bei diesen kam es, vor allem bei den weniger anfälligen Genotypen wie z. B. *V. riparia* Gloire de Montpellier, *V. riparia* Barret 75, *V. rupestris* du Lot, aber auch bei den mittelanfälligen wie Ga-49-22 und Pollux zu einer sehr schnellen Stilbenproduktion (und entsprechenden Blaufluoreszenz) bereits 36 h nach der Inokulation, d. h. zu einem Zeitpunkt, zu dem häufig noch keine oder lediglich eine sehr geringe Gewebeschädigung festgestellt werden konnte.

Auf der Blattoberseite war die Fluoreszenz im allgemeinen auf eine sehr schmale, auf der Unterseite auf eine breitere Zone beschränkt, die sich teilweise in und neben den Blattadern erstreckte. Mit zunehmender Mazeration bzw. Inkubationsdauer löste sich die anfänglich enge Umgrenzung rund um die Läsionen auf und es kam zu einer offensichtlich immer stärkeren Verteilung (oder einem Abbau?) der Stilbene im Gewebe.

Für Serientests stellt die direkte Bestimmung der Stilbene im Blatt nach *Botrytis*-Infektionen ein zu aufwendiges und — aus den oben genannten Gründen — auch teilweise zu unsicheres Verfahren dar. Es lag daher nahe, die Blätter der zu untersu-

chenden Reben durch einen definierten, gleichbleibenden und vergleichbaren Reiz zur Stilbenproduktion anzuregen und die Reaktion der einzelnen Varianten mit ihrer *Botrytis*-Anfälligkeit in Beziehung zu setzen.

Eine 10minütige Bestrahlung von Blättern bzw. Blattstücken mit kurzwelligem UV-Licht führte bei allen daraufhin untersuchten Rebsorten zu einer deutlichen Stilbenproduktion im bestrahlten Gewebe. Dies stimmt mit der Beobachtung einiger Autoren überein, deren Ergebnisse weitgehend bestätigt werden konnten (u. a. LANGCAKE 1976, LANGCAKE und PRYCE 1977 b, LANGCAKE und MCCARTHY 1979, SCHOEPPNER und KINDL 1979, BLAICH und BACHMANN 1980, STEIN 1980, POOL *et al.* 1981, LUCZKA 1982). Resveratrol war frühestens 9—10 h nach der UV-Induktion in älteren Rebblättern einiger Rebsorten festzustellen; die höchsten Gehalte resultierten nach 24—48 h. Resistere Reben wie verschiedene *V. riparia*- und *V. rupestris*-Klone reagierten dabei deutlich schneller als die anfälligeren *V. vinifera*-Sorten wie Riesling, Bacchus, Morio-Muskat und andere.

Mit zunehmendem Alter der Blätter (vor allem vom 4. bis zum 7. Blatt) nahm — ebenso wie bei den Versuchen mit *Botrytis*-Infektionen — die Fähigkeit zur hohen und schnellen Stilbenproduktion stetig zu, zwischen dem 7. und 10. Blatt waren dagegen nur noch geringe Unterschiede festzustellen. Eine Bestrahlung der Blattunterseite führte allgemein zu einer stärkeren Stilbenbildung als die der Blattoberseite (LANGCAKE und PRYCE 1977 b, POOL *et al.* 1981).

Untersuchungen von LANGCAKE und PRYCE (1977 b) ergaben, daß Blätter nach UV-Bestrahlung zunächst Resveratrol bilden und das Auftreten von ϵ -Viniferin ungefähr 24 h nachhinkt. Dieses Ergebnis konnte für *V. cordifolia* und *V. rupestris* im Induktionsversuch mit Saccharoselösung bestätigt werden. Dabei wurde auch deutlich, daß die Abgabe an der Wundzone gleichzeitig mit der Bildung einsetzt.

Obwohl die Verwendung von UV-Licht eine einheitliche Induktion der „Streßmetaboliten“ ermöglichte, stellt die Bestrahlung der Blätter offensichtlich eine zu grobe Methode dar. Die untersuchten Rebsorten ließen sich, in Abhängigkeit von der Reaktionsgeschwindigkeit und der produzierten Stilbenmenge, in lediglich zwei Gruppen einteilen, stärkere Differenzierungen waren nicht möglich. Außerdem wurde bei der UV-Induktion die Stilbenproduktion mehr vom jeweiligen Blattalter als von den einzelnen unterschiedlichen Rebsorten beeinflusst.

Nachdem die direkte Bestimmung des Stilbengehaltes in Rebblättern nach *Botrytis*-Inokulation und UV-Bestrahlung aus den oben genannten Gründen teilweise unbefriedigende Ergebnisse erbrachte, wurde die Fähigkeit von Rebblättern bzw. Blattstücken, auf einen definierten Reiz mit verschiedenen chemischen Substanzen Stilbene zu produzieren und in das umgebende Medium (Zuckerlösungen, Testkarton) abzugeben, untersucht und zu dem nach 6 d ermittelten *Botrytis*-Befall der entsprechenden Rebblätter in Beziehung gesetzt.

Bei einer Stilbeninduktion auf Testkarton bewirkten nach BLAICH und BACHMANN (1980) verschiedene Konzentrationen der Chemikalien (0,1—0,001 %) keine qualitativen, sondern nur quantitative Unterschiede in der Wirkung. Untersuchungen mit *V. riparia* im Flüssigmedium zeigten, daß mit zunehmender Induktorkonzentration der Resveratrolgehalt anstieg, der Anteil an ϵ -Viniferin aber etwa konstant blieb. Das Verhältnis Resveratrol : ϵ -Viniferin wird demnach von der Induktormenge maßgeblich mitbestimmt. Der von BLAICH und BACHMANN (1980) gefundene Einfluß verschiedener Zucker auf die Menge der gebildeten Stilbene konnte im Flüssigmedium für Saccharose, Glucose und Mannit bestätigt werden. Während die Lösungen mit Mannit zu einer geringfügig erniedrigten Induktion gegenüber der Kontrolle (H₂O) führten, bildeten die Blattstücke in Gegenwart von Glucose und Saccharose die höchsten Stilben-

mengen. Die Bildung von Resveratrol und ϵ -Viniferin in Wasser ist möglicherweise auf die Elicitorwirkung von Zellinhaltsstoffen bzw. -trümmern zurückzuführen, die beim Ausstanzen der Blattstücke entstanden sein könnten (s. Tabelle 2).

Tabelle 2

Bildung und Abgabe von Resveratrol und ϵ -Viniferin (Scan-Einheiten) durch Blattstücke von *V. riparia* nach 72stündiger Induktion im Flüssigmedium (Saccharose, Glucose, Mannit und H₂O) · 1000 Scan-Einheiten entsprechen 16 μ g Resveratrol bzw. 32 μ g ϵ -Viniferin/g Blattfrischgewicht

Production of resveratrol and ϵ -viniferin by leave pieces of *V. riparia* after 72 h of induction in a liquid medium · Stilbene concentration (scan units) in the leave tissue and in the surrounding media was measured. 1000 scan units correspond to 16 μ g resveratrol or 32 μ g ϵ -viniferin produced by 1 g of leaf tissue

Induktor (Mol/l)	Resveratrol		ϵ -Viniferin		
	Blatt	Medium	Blatt	Medium	
Saccharose	0,5	26 500	91 800	16 200	9 900
	0,1	18 100	72 400	15 900	9 800
	0,05	13 700	50 800	16 900	9 500
	0,01	12 200	40 100	17 200	7 100
Glucose	0,5	18 200	53 400	17 600	7 400
	0,1	12 600	34 200	18 900	9 200
	0,05	10 700	32 600	17 800	7 400
	0,01	6 500	14 000	18 500	8 000
Mannit	0,5	5 200	25 300	9 600	7 900
	0,1	5 600	24 100	10 700	4 300
	0,05	4 000	11 900	12 000	4 200
	0,01	2 900	10 000	12 400	5 400
H ₂ O		8 600	11 100	14 800	4 900

Zur Bestimmung der Gesamtstilbenmenge wurde neben dem Gehalt im Induktionsmedium auch die Resveratrol- und ϵ -Viniferinkonzentration im Blatt, d. h. vor der Wundzone, gemessen. Eine direkte Auswertung der Blattextrakte auf Mikropolyamid ist mit dem Fließmittel B möglich, da die Blattfarbstoffe in der Front fließen, die Stilbene in ausreichender Menge vorliegen und hinreichend getrennt werden können. Bei Untersuchungen von 3 Blattstadien 12 verschiedener Rebsorten an 4 Terminen zeigte sich, daß die abgegebene Menge an Resveratrol in der Regel weitaus größer ist als die im Blatt, während bei ϵ -Viniferin genau umgekehrte Verhältnisse vorliegen.

Die Scan-Werte weisen aus, daß in den Blattstücken beachtliche Konzentrationen beider Stilbene angereichert werden können. Das Verhältnis des Jahresmittelwertes (Mittelwerte aller Termine und Blattstadien) von Viniferin und Resveratrol (in Blattstücken und Induktionsmedium) für die 12 Rebsorten schwankte zwischen Werten von 1 : 0,94 und 1 : 2,84 und betrug durchschnittlich 1 : 1,55.

Die Bestimmung des Stilbenproduktionsvermögens erlaubte eine Klassifizierung der untersuchten Rebsorten in hohe, mittlere und schwache Stilbenproduzenten.

Obwohl sich bei den untersuchten Varianten eine signifikant negative Korrelation zwischen Stilbenbildung und *Botrytis*-Anfälligkeit ergab, erscheint die beschriebene

Methode für eine schnelle Klassifizierung unterschiedlich anfälliger Rebsorten aufgrund der notwendigen dünn-schichtchromatographischen Stilbenbestimmung für Serientests als zu aufwendig.

Da es in den vorliegenden Untersuchungen vor allem um die Ausarbeitung einer einfach zu handhabenden „Screening-Methode“ ging, mit der ohne größeren Geräte- und Zeitaufwand eine möglichst hohe Zahl von Blattproben untersucht werden sollte, wurde eine diesen Anforderungen genügende Induktions- und Bonitierungsmethode zur Stilbenbestimmung entwickelt und angewendet.

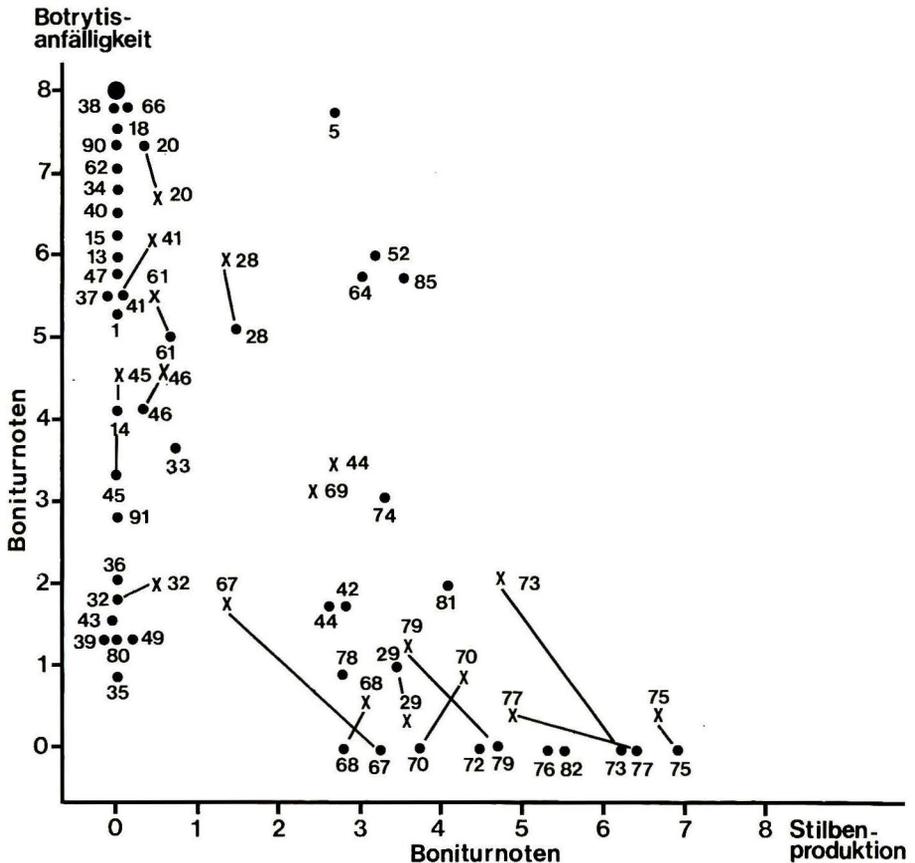


Abb. 3: Stilbenproduktion (nach 48stündiger Induktion) und *Botrytis*-Anfälligkeit (6 d nach Inokulation) von jungen Blättern (Insertionshöhe: 4. und 5. Blatt) bei 95 Genotypen der Rebe.

Entnahmeterrn 27. 7. 81: • = einzelne Genotypen; ● = Reben Nr. 2—4, 6—19, 22—27, 30, 34, 48, 50—58, 60, 63, 65, 78, 82, 86—89, 93.

Entnahmeterrn 29. 7. 81: x = einzelne Genotypen; ● = Reben Nr. 3, 4, 8, 9, 19, 25, 26, 48, 51, 60, 63. (Erläuterung der Nummern bei STEIN 1984.)

Stilbene production (after 48 h of induction) and susceptibility to *B. cinerea* (6 d after inoculation) of young leaves (nos. 4 and 5) of 95 grapevine species and varieties.

• and x = separate grapevines, removal of leaves on 27. 7. 81 and 29. 7. 81, respectively; ● = coinciding grapevines, removal of leaves on 27. 7. 81 and 29. 7. 81. For further details see German text. Grapevine numbers after STEIN (1984).

Die im Verlauf der Vegetationsperiode 1982 an insgesamt 12 Rebsorten, 3 Blattstadien und 4 Terminen (weitere 17 Sorten wurden an einem zusätzlichen Termin überprüft) von jeweils 10 Blattstücken nach Induktion mit Galaktarsäure produzierten und in Karton abgegebenen Stilbenmengen wurden bonitiert und parallel dazu dünn-schichtchromatographisch bestimmt. Eine Korrelationsberechnung der insgesamt 132 Wertepaare aus den Dauerversuchen ergab mit $r = + 0,757$ eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen den beiden Methoden.

Mit Hilfe der visuellen Bonitur war demnach eine hinreichend genaue sowie schnell und einfach durchzuführende Gruppierung unter den genannten Versuchsbedingungen in solche mit 0 oder sehr geringer, mittlerer und hoher Stilbenproduktion möglich. Als möglicher Nachteil ergibt sich, daß es gegenüber der DC oder anderen Methoden bei hohen Stilbenwerten zu stärkeren Abweichungen kam und eine Differenzierung der einzelnen Stilbene nicht vorgenommen, sondern lediglich deren Gesamtmenge bestimmt werden konnte.

In Abb. 3 ist die *Botrytis*-Anfälligkeit und die Stilbenproduktion von jeweils 10 jungen Blättern von insgesamt 95 verschiedenen Genotypen der Rebe an einem bzw. zwei Terminen im Jahre 1981 wiedergegeben. Der Befall wurde dabei wegen der großen Probenzahl nicht wie üblich durch Vermessen der entstandenen Mazerationszonen, sondern, ebenso wie die Stilbenbildung, mittels einer 8stufigen Bonitieringsskala bestimmt. Um festzustellen, wie sich die einzelnen Reben an unterschiedlichen Terminen verhalten, wurden 25 Sorten 2 d nach dem ersten Entnahmeterrnin nochmals untersucht. Die mit einem Strich verbundenen, doppelt geprüften Varianten reagieren demnach sowohl hinsichtlich *Botrytis*-Anfälligkeit wie Stilbenproduktion relativ einheitlich. Weitere 11 Sorten mit *Botrytis*-Anfälligkeit = 8 und Stilbenbildung = 0 zeigten in beiden Fällen gleiches Verhalten.

Die untersuchten Reben lassen sich nach ihrer Blatt-*Botrytis*-Anfälligkeit in drei Gruppen einteilen: Der größte Teil der Varianten zeigte bei hoher Anfälligkeit keine Stilbenproduktion; eine zweite Gruppe verhielt sich gerade umgekehrt, d. h. bei niedriger *Botrytis*-Anfälligkeit wurde eine mehr oder weniger hohe Stilbenbildung festgestellt, und eine dritte — kleinere — Gruppe war trotz geringer Stilbenproduktion nur wenig anfällig. Rebblätter mit hoher *Botrytis*-Anfälligkeit und gleichzeitig hoher Stilbenbildung wurden dagegen nicht gefunden. Zwischen Stilbenproduktion und *Botrytis*-Anfälligkeit bestand an beiden Untersuchungsterminen mit $r = -0,672$ bzw. $-0,696$ eine hochsignifikante negative Korrelation.

Da neben der auf Induktion hin produzierten Stilbenmenge möglicherweise auch die Produktionsgeschwindigkeit für die Resistenz von Reorganen gegen Pilzbefall von Bedeutung sein könnte, wurde in einem weiteren Versuch durch tägliche Auswertung der Kartonstreifen die Zunahme der von den jeweiligen Blattstücken abgegebenen Stilbenmenge je Tag bonitiert und ausgewertet (vgl. Abb. 4).

Demnach zeichneten sich die deutlich weniger *Botrytis*-anfälligen Varianten (Nr. 4—9), mit Ausnahme der Rebsorte Pollux, sowohl durch eine signifikant schnellere als auch stärkere Stilbenproduktion aus.

Bei der anfälligen Sorte Riesling und der nahezu resistenten *V. riparia* Michaux wurden am 7. Blatt detailliertere Untersuchungen im Hinblick auf Geschwindigkeit und Höhe der Stilbenproduktion vorgenommen. Dazu wurden Blattstücke nach 6stündiger Induktion auf neue Kartonstreifen gebracht und zum einen auf diesen weitere 72 h inkubiert, zum anderen innerhalb der 3tägigen Induktion dreimal (nach 12, 28 und 48 h) auf jeweils neue Unterlagen verlegt, diese anschließend extrahiert und die gebildete Stilbenmenge je Zeiteinheit dünn-schichtchromatographisch bestimmt (s. Abb. 5).

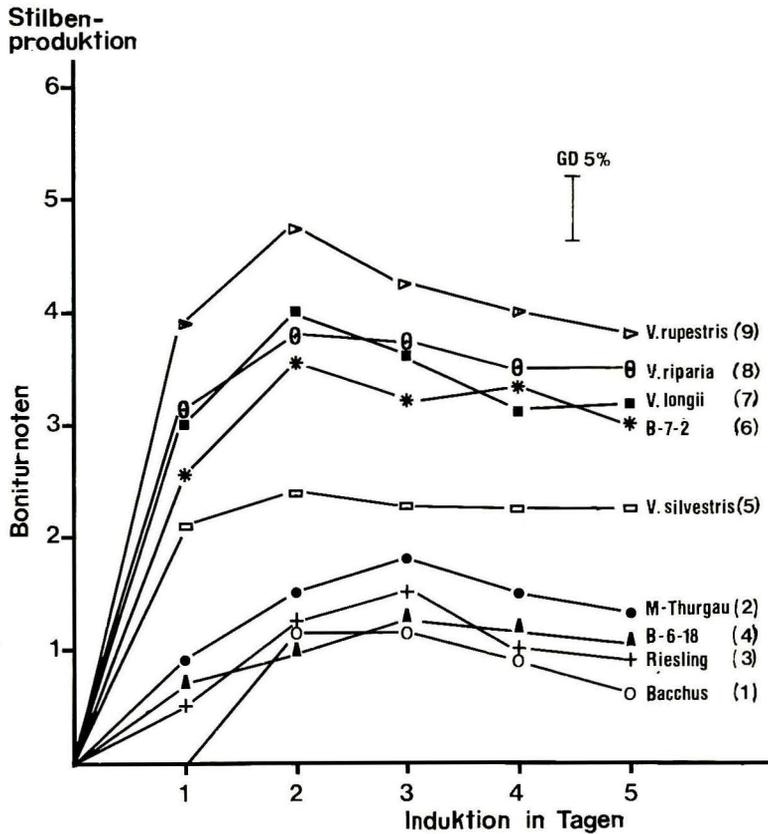


Abb. 4: Stilbenproduktion unterschiedlich *Botrytis*-anfälliger Reblätter (von 1 nach 6 abnehmend) nach verschieden langer Induktion (Insertionshöhe: 7. Blatt; Entnahmeterrnin: 1. 7. 81).

Stilbene production of grape vine leaves differing in their susceptibility to *B. cinerea* (decreasing from 1 to 6) after different times of induction (leaf no. 7; date of removal 1. 7. 81).

Die Stilbenabgabe in den Testkarton setzte bei beiden Varianten erst zwischen 6- bzw. 18stündiger Induktion ein und verlief bei der resistenteren *V. riparia* wesentlich schneller als beim *Botrytis*-anfälligen Riesling. Resveratrol wurde gegenüber ϵ -Viniferin von beiden Varianten sowohl früher als auch in größeren Mengen produziert. Die nach 72stündiger Induktion insgesamt abgegebene Stilbenmenge lag bei den auf einem Kartonstreifen verbliebenen Blattstücken rund 25 % niedriger als bei den verlegten. Möglicherweise führte das Transferieren der Blattstücke (und damit die Entfernung der schon gebildeten Stilbene aus dem System) zu einer erhöhten Abgabe in das umgebende Medium.

Bei der Bekämpfung verschiedener Pilzkrankheiten im Wein-, Obst-, Gemüse- und Zierpflanzenbau mit Hilfe des systemischen Fungizids Aluminium-Fosetyl wird neben einer direkten Wirkung auf unterschiedliche Stadien der Pilzentwicklung, wie z. B. Sporangien-, Zoosporen- und Oosporenbildung verschiedener *Phytophthora*-Arten (FARH *et al.* 1981, BUCHENAUER und SIKORA 1981), auch eine indirekte Wirkung

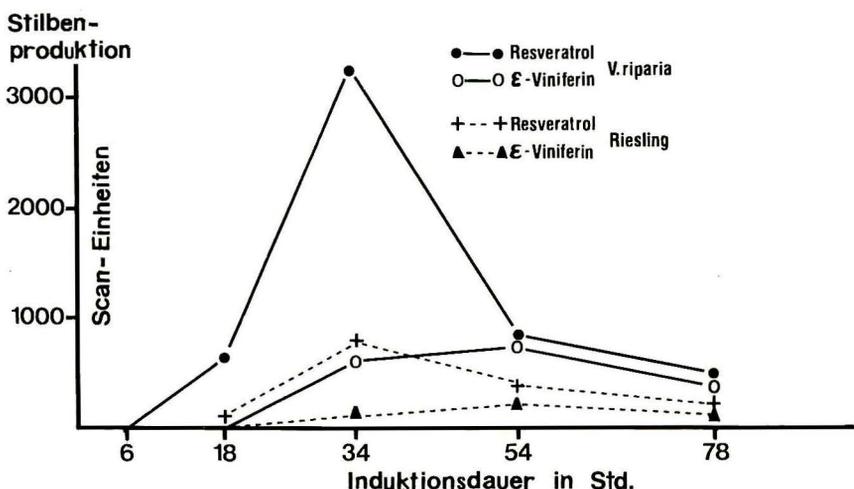


Abb. 5: Resveratrol- und ϵ -Viniferinproduktion durch Blätter von Riesling und *V. riparia* nach verschieden langer Induktion (Insertionshöhe: 7. Blatt; Entnahmeterrn 7. 7. 81).

Leaf synthesis of resveratrol and ϵ -viniferin by Riesling and *V. riparia* after different times of induction (leaf no. 7; date of removal 7. 7. 81).

durch die Stimulation eines oder mehrerer pflanzeigener Abwehrmechanismen diskutiert.

Neben einer generellen Erhöhung phenolischer Substanzen im behandelten und infizierten Pflanzengewebe und der Bildung eines sogenannten „osmiophilen Bandes“ (BOMPELX *et al.* 1980, DURAND und SALLE 1981) wird auch über eine erhöhte Stilbenproduktion in mit *Plasmopara viticola* infizierten und mit Al-Fosetyl behandelten Rebblättern berichtet (RAYNAL *et al.* 1980).

Es lag daher nahe, die Wirkung von Al-Fosetyl auf die Stilbenproduktion verschiedener Rebblätter mit der oben beschriebenen Methode zu überprüfen. Dabei zeigte sich, daß bei den 6 daraufhin untersuchten Rebsorten Riesling, Müller-Thurgau, Bacchus, Pollux, Ga-54-15 und Ga-49-22 durch das Fungizid als Induktor die Stilbenabgabe bei jungen Blättern (4. Blatt), mit Ausnahme des Rieslings, signifikant erhöht wurde; bei älteren Blättern (7. Blatt) konnte dagegen keine oder nur eine ganz geringe Beeinflussung der Stilbenproduktion bzw. -abgabe festgestellt werden.

In einem weiteren Versuch wurde die Wirkung der, als Hemmstoffe des für den gesamten Phenolstoffwechsel wichtigen Enzyms L-Phenylalanin-ammonium-lyase, bekannten Substanzen DL-p-Fluorphenylalanin (DLFP) und α -Aminoxy- β -phenylpropionsäure (AOPP) auf die Stilbenbildung von Blättern der Rebenart *V. riparia* getestet (Literatur s. AMRHEIN und HOLLANDER 1979, GEBALLE und GALSTON 1983). Gegenüber der mit L-Phenylalanin infiltrierte Kontrolle führte die DLFP-Behandlung (1 mg/ml) zu einer um 30 %, die AOPP-Behandlung (0,2 mg/ml) zu einer um rund 50 % verringerten Stilbenabgabe in den Testkarton.

Da aus arbeits- und versuchstechnischen Gründen die in lediglich zweifacher Wiederholung durchgeführten Versuche mit Al-Fosetyl und AOPP bzw. DLFP nicht weiter verfolgt werden konnten, sind die hier aufgeführten Ergebnisse nur als Hinweise zu werten, die durch weiterführende Experimente ergänzt und noch besser abgesichert werden müßten.

B. cinerea verursacht im Weinbau die größten Schäden durch den Befall der Trauben. Daher stellt die Überprüfung möglicher Korrelationen zwischen Blatt- und Trauben-*Botrytis* eine, vor allem für die rebzüchterische Praxis, relevante Aufgabe dar.

LANGCAKE und PRYCE (1977 b) und STEIN (1980) induzierten die Resveratrolsynthese in Traubenbeeren mittels UV-Bestrahlung. In eigenen Versuchen gelang es, durch Verletzung der Beerenhaut und Induktion im Saccharosemedium Beeren mit einem Gesamtextrakt von 20—30 °Oe der unterschiedlich *Botrytis*-anfälligen Reben Müller-Thurgau, Pollux, Ga 54-14, *V. champinii*, *V. riparia* G 2 sowie *V. rupestris* (STEIN 1984) zur Bildung und Abgabe von Resveratrol und ϵ -Viniferin anzuregen. Trotz der Schwierigkeiten, sterile Ansätze zu erhalten sowie im Hinblick auf Reifezustand und Beerengröße vergleichbare Versuchsbedingungen zu schaffen, zeigten die Rebsorten ähnliche Unterschiede, wie sie auch bei Induktionsversuchen mit Blättern aufgetreten sind. Beeren *Botrytis*-fester Sorten zeichneten sich gegenüber anfälligen durch eine deutlich höhere Stilbenabgabe in das umgebende Medium aus.

Die in den obigen Versuchen sowie in weiterführenden Arbeiten (STEIN und BLAICH, in Vorbereitung) festgestellte positive Korrelation zwischen der Stilbenproduktion von Blättern und Beeren und einer entsprechend negativen Beziehung zur *Botrytis*-Anfälligkeit stellt eine erste Grundlage für eine vergleichende Bewertung verschiedener Reborgane und damit für die frühe Selektion *Botrytis*-fester Rebsorten dar.

Zusammenfassung

Die von Blättern verschiedener Rebarten und -sorten als Reaktion auf bestimmte Reize (*Botrytis*-Infektionen, UV-Licht, Zuckerlösungen, Galaktarsäure) gebildeten Stilbene Resveratrol und ϵ -Viniferin konnten dünn-schichtchromatographisch identifiziert und quantifiziert werden.

In einigen Varianten ließen sich auch ohne vorherige gezielte Induktion Resveratrol und/oder ϵ -Viniferin in geringen Konzentrationen nachweisen.

Von den durchgeführten Versuchen stellt die Bestimmung der von Rebblättern nach Induktion mit Galaktarsäure in eine entsprechende Unterlage (Testkarton) abgegebene Stilbenmenge mittels visueller Bonitur unter langwelligem UV-Licht eine einfache und gut reproduzierbare Screening-Methode dar. Die erhaltenen Werte zeigten mit den dünn-schichtchromatographisch ermittelten eine hoch signifikante Übereinstimmung und erlaubten eine hinreichend genaue und schnell durchzuführende Gruppierung der einzelnen Genotypen in solche mit keinem oder sehr geringem, geringem, mittlerem und hohem Stilbenproduktionsvermögen.

Die Fähigkeit von Rebblättern, als „Antwort“ auf einen definierten Reiz mit einer möglichst schnellen und hohen Stilbenproduktion zu reagieren, ist mit ihrer *Botrytis*-Anfälligkeit negativ korreliert. Die daraufhin untersuchten Reben ließen sich, mit Ausnahme einiger Varianten mit sowohl schwacher Stilbenbildung wie niedrigem Befall, in gering, mittel und hoch anfällige Arten und Sorten klassifizieren.

Bei 6 daraufhin untersuchten Genotypen ergab sich zwischen dem Stilbenproduktionsvermögen der Rebblätter (induziert durch Galaktarsäure in Testkarton) und dem der Beeren (induziert in Saccharosemedium) eine positive, zwischen Stilbenbildung und *Botrytis*-Anfälligkeit dagegen eine negative Korrelation.

Literaturverzeichnis

- AMRHEIN, N. and HOLLANDER, H., 1979: Inhibition of anthocyanin formation in seedlings and flowers by the enantiomers of α -amino- β -phenylpropionic acid and their N-benzyloxycarbonyl derivatives. *Planta* **144**, 385—389.
- BILLEK, G., 1964: Stilbene im Pflanzenreich. *Fortschr. Chemie d. Naturstoffe* **22**, 115—152.
- BLAICH, R. und BACHMANN, O., 1980: Die Resveratrolsynthese bei Vitaceen. Induktion und cytologische Beobachtungen. *Vitis* **19**, 230—240.
- — — et STEIN, U., 1982: Causes biochimiques de la résistance de la vigne à *Botrytis cinerea*. *Bull. OEPP* **12**, 167—170.
- BOMPEIX, G., RAVISÉ, A., RAYNAL, G., FETTOUCHE, F. et DURAND, M. C., 1980: Modalités de l'obtention des nécroses bloquantes sur feuilles détachées de tomate par l'action du tris-*o*-éthyl phosphonate d'aluminium (phoséthyl d'aluminium), hypothèses sur son mode d'action *in vivo*. *Ann. Phytopathol.* **12**, 337—351.
- BUCHENAUER, H. und SIKORA, I., 1981: Wirkung von Aluminiumfoseytl (Alette) auf *Phytophthora cactorum*. Intern. Symp. Pflanzenschutz, Univ. Gent, 5. 5. 1981.
- CHRUICKSHANK, I. A. M., 1980: Defenses triggered by the invader: Chemical defenses. Plant disease, an advanced treatise, Vol. V, 247—267. In: HORSFALL, J. G. and COWLING, E. B. (Eds.): Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco.
- DURAND, M. C. et SALLE, G., 1981: Effet du tris-*o*-éthyl phosphonate d'aluminium sur le couple *Lycopersicon esculentum* MILL. — *Phytophthora capsici* LEON. Etude cytologique et cytochimique. *Agronomie* **1**, 723—731.
- FARH, A., TSAO, P. H. and MENGE, J. A., 1981: Fungitoxic activity of efosite aluminium on growth, sporulation, and germination of *Phytophthora parasitica* and *P. citrophthora*. *Phytopathology* **71**, 934—936.
- GEBALLE, G. T. and GALSTON, H. W., 1983: Wound-induced lignin formation and resistance to cellulase in oat leaves. *Phytopathology* **73**, 619—623.
- GRISEBACH, H. und EBEL, J., 1978: Phytoalexine, chemische Abwehrstoffe höherer Pflanzen? *Angew. Chemie* **90**, 668—681.
- — — und — — —, 1983: Phytoalexine und Resistenz von Pflanzen gegenüber Schadorganismen. *Biologie in unserer Zeit* **5**, 129—136.
- HATHWAY, D., 1962: The use of hydroxystilbene compounds as taxonomic tracers in the genes of *Eucalyptus*. *Biochem. J.* **83**, 80—84.
- HOOS, G., 1983: Untersuchungen über Induktions- und Nachweismethoden für Resveratrol und ϵ -Viniferin bei Reben. Diplomarb., Univ. Kaiserslautern.
- INGHAM, J., 1972: Phytoalexins and other natural products as factors in plant disease resistance. *Bot. Rev.* **38**, 343—424.
- — —, 1976: 3,5,4'-Trihydroxystilbene as a phytoalexin from groundnuts (*Arachis hypogea*). *Phytochemistry* **15**, 1791—1793.
- KUC, J. A., 1978: Phytoalexins. In: HEITFUSS, R. and WILLIAMS, P. H. (Eds.): *Physiological plant pathology*, 632—652. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- LANGCAKE, P., 1976: The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol.* **9**, 77—86.
- — —, 1981: Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, ϵ -viniferin, α -viniferin and pterostilbene. *Physiol. Plant Pathol.* **18**, 213—226.
- — —, CORNFORD, C. A. and PRYCE, R. J., 1979: Identification of pterostilbene as a phytoalexin from *Vitis vinifera* leaves. *Phytochemistry* **18**, 1025—1027.
- — — and MCCARTHY, W. V., 1979: The relationship of resveratrol production to infection of grapevine leaves by *Botrytis cinerea*. *Vitis* **18**, 244—253.
- — — and PRYCE, R., 1977 a: A new class of phytoalexins from grape wines. *Experientia* **33**, 151—157.
- — — and — — —, 1977 b: The production of resveratrol and the viniferins by grape wines in response to ultraviolet irradiation. *Phytochemistry* **16**, 1193—1196.
- LUCZKA, C. J., 1982: Stilbene phytoalexins and susceptibility to *Botrytis cinerea* in *Vitis*. Thesis, Cornell Univ., Ithaca, USA.
- MANSFIELD, J., 1980: The infection process and host-pathogen interactions. In: COLEY-SMITH, J. R., VERHOEFF, K. and JARVIS, W. R. (Eds.): *The biology of Botrytis* 153—180. Academic Press, London, New York.
- POOL, R. M., CREASY, L. L. and FRACKELTON, A. S. 1981: Resveratrol and the viniferins, their application to screening for disease resistance in grape breeding programs. *Vitis* **20**, 136—145.

- RAYNAL, G., RAVISÉ, A. et BOMPEIX, G., 1980: Action du tris-o-éthylphosphonate d'aluminium (phos-éthyl d'aluminium) sur la pathogénie de *Plasmopara viticola* et sur la stimulation des réactions de défense de la vigne. *Ann. Phytopathol.* **12**, 163—175.
- SCHOEPFNER, A. and KINDL, H., 1979: Stilbene synthase (pinosylvine synthase) and its induction by ultraviolet light. *FEBS Lett.* **108**, 349—352.
- STEIN, U., 1980: Untersuchungen über phytotoxische Stoffwechselprodukte von *Botrytis cinerea* im Zusammenhang mit der Stadienresistenz von Reblättern. Diplomarb., Univ. Mainz.
- —, 1984: Untersuchungen über biochemische und morphologische Merkmale der Botrytisresistenz bei Vitaceen. Diss. Univ. Karlsruhe.
- STOESSL, A., 1980: Phytoalexins — a biogenetic perspective. *Phytopathol. Z.* **99**, 251—272.

Eingegangen am 2. 5. 1984

Dr. U. STEIN
Dipl. Biol. G. Hoos
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
D-6741 Siebeldingen