

Trends und Perspektiven moderner Fungizidforschung

Timm Anke und Eckhard Thines

Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung IBWF e. V., Erwin-Schrödinger-Strasse 56, 67663
Kaiserslautern (timm.anke@ibwf.de)

Einleitung

Pflanzenkrankheiten, verursacht durch Pilze, haben in der Vergangenheit auch in Europa große Ernteverluste und damit zusammenhängend Hungersnöte und Migrationswellen verursacht. Daher wurde schon sehr früh, parallel zu den Entwicklungen in der Bekämpfung menschlicher Infektionskrankheiten, versucht, durch Mikroorganismen verursachte Pflanzenkrankheiten analog zu Paul Ehrlichs Konzept der Chemotherapie mit Hilfe von Chemikalien zu bekämpfen. Ein erster bedeutender Meilenstein auf dem Weg zur Behandlung mit synthetischen Fungiziden war die Einführung von Thiram, einem Dithiocarbamat, in den USA und Deutschland 1930 und 1932. Die damit angestoßene Entwicklung hat dazu geführt, daß der chemische Pflanzenschutz, zusammen mit großen Erfolgen der Züchtungsforschung heute die Ernährung einer sehr viel größeren Zahl von Menschen als das noch vor 80 Jahren möglich erschien gewährleistet. Dennoch und trotz der bisher erreichten Erfolge steht die moderne Fungizidforschung vor einer Reihe großer Herausforderungen, die es zu meistern gilt, um eine nachhaltige und sichere Versorgung der Weltbevölkerung mit gesunden Nahrungsmitteln zu gewährleisten. Wie im Bereich der in der Humanmedizin verwendeten Antiinfektiva bereitet im Pflanzenschutz das Auftreten von resistenten Pilzen zum Teil erhebliche Probleme. Dazu kommt das Auftreten von „neuen“ Pathogenen an Orten, wo sie bisher nicht vorkamen, ein aktuelles Beispiel dafür ist die rasche Verbreitung des Asiatischen Sojabohnenrosts in Südamerika. Auch die höheren Anforderungen an die Umweltverträglichkeit und Sicherheit sowohl für die Anwender als auch für die Verbraucher machen erhöhte Anstrengungen bei der Entwicklung neuer Fungizide zwingend erforderlich. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß im Pflanzenschutz die Entwicklungskosten für einen neuen Wirkstoff nur wenig unter denen für die Entwicklung eines Medikaments liegen, andererseits die zu erzielenden Preise sehr deutlich unter denen von Arzneimitteln liegen.

Bei der Suche nach neuen Wirkstoffen, die allen heutigen Anforderungen gerecht werden, spielen mehrere Überlegungen eine wichtige Rolle. Für die Suche nach resistenzbrechenden Fungiziden sind Wirkmechanismen und Wirkorte von besonderem Interesse, die noch nicht mit marktgängigen Wirkstoffen abgedeckt sind. Zu diesen

können neue chemische Strukturen oder detaillierte Kenntnisse von Stoffwechselwegen, die für den Pilz lebenswichtig und für die Infektion und die Besiedelung der Wirtspflanzen essentiell sind, führen. Auf beide Wege soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Wege zu neuen für die Bekämpfung von Schadpilzen nützlichen chemischen Strukturen (NCE's)

Der klassische Weg: Die chemische Synthese

Zu neuen Wirkstoffen führen prinzipiell zwei Wege, die chemische Synthese und die Suche nach neuen Naturstoffen. Da Pflanzenschutzmittel in großen Mengen kostengünstig und mit großer Reinheit herstellbar sein müssen, ist die chemische Synthese bisher in den meisten Fällen zielführend gewesen. Der größte Teil der auf dem Markt befindlichen Agrarfungizide sind daher synthetischen Ursprungs. Zu ihnen gehören beispielhaft die weltweit mit großem Erfolg eingesetzten Azole und andere in die Biosynthese des für viele Pilze lebenswichtigen Ergosterins eingreifende Wirkstoffe. Zur Zeit befinden sich fungizide Wirkstoffe aus ungefähr 60 chemischen Gruppen und mit - soweit bekannt - 33 verschiedenen Angriffspunkten im Stoffwechsel der pathogenen Pilze im Handel (FRAC, 2006). Die meisten entstammen kostengünstigen chemischen Synthesen und sind daher von der Komplexität der Strukturen her limitiert. Überraschend wenig Erfolge zeitigte bisher die kombinatorische Synthese. Die mit ihrer Hilfe hergestellten Substanzbibliotheken weisen eine recht beschränkte Diversität auf, was die Auffindung nur sehr weniger „hits“, das heißt neuer potentieller Leitstrukturen, zur Folge hatte.

Die Alternative: Naturstoffe

Als Alternative bieten sich Naturstoffe an, die, was die strukturelle Vielfalt angeht, ein nahezu unbegrenztes Reservoir anbieten. Unter den Naturstoffen ist der Anteil an biologisch aktiven Verbindungen vergleichsweise hoch. Man führt dies unter anderem darauf zurück, daß diese sogenannten „privileged structures“ von Proteinen gebildet wurden und an den Stoffwechsel von lebenden Zellen angepasst sind. Sie bieten zudem den Vorteil einer guten Umweltverträglichkeit (Abbaubarkeit, keine Persistenz). Dagegen sind, was die Toxizität betrifft, keine intrinsischen Vorteile erkennbar. Große Probleme können bei den Naturstoffen die Herstellungskosten und die Verfügbarkeit von größeren Mengen bereiten. Dies gilt insbesondere für seltene, langsam wachsende Pflanzen resp. ihre Inhaltsstoffe und vor allem für viele Naturstoffe aus marinen Tieren und mit ihnen assoziierte nicht kultivierbare Mikroorganismen.

Im Pharmabereich, bei geringerem Druck auf die Herstellungskosten, sind diese Probleme in einigen Fällen längerfristig mit gentechnischen Methoden lösbar. Im Pflanzenschutz dagegen würde sich die Entwicklung einer chemischen Synthese anbieten. Auf dem Weltmarkt befinden sich nur wenige fermentativ hergestellte Fungizide darunter **Validamycin A**, **Kasugamycin** und **Polyoxin D** (Iwasa et al., 1970; Umezawa et al.,

1965; Isono et al., 1969) (Abb. 1). Alle werden von Streptomycceten produziert und nur sehr beschränkt eingesetzt. Im Unterschied dazu haben sich auf dem Insektizidmarkt die Avermectine und neuerdings Spinosyn/Spinosad zu bedeutenden Produkten entwickelt (Tanaka & Omura, 1993; Sparks et al., 1998).

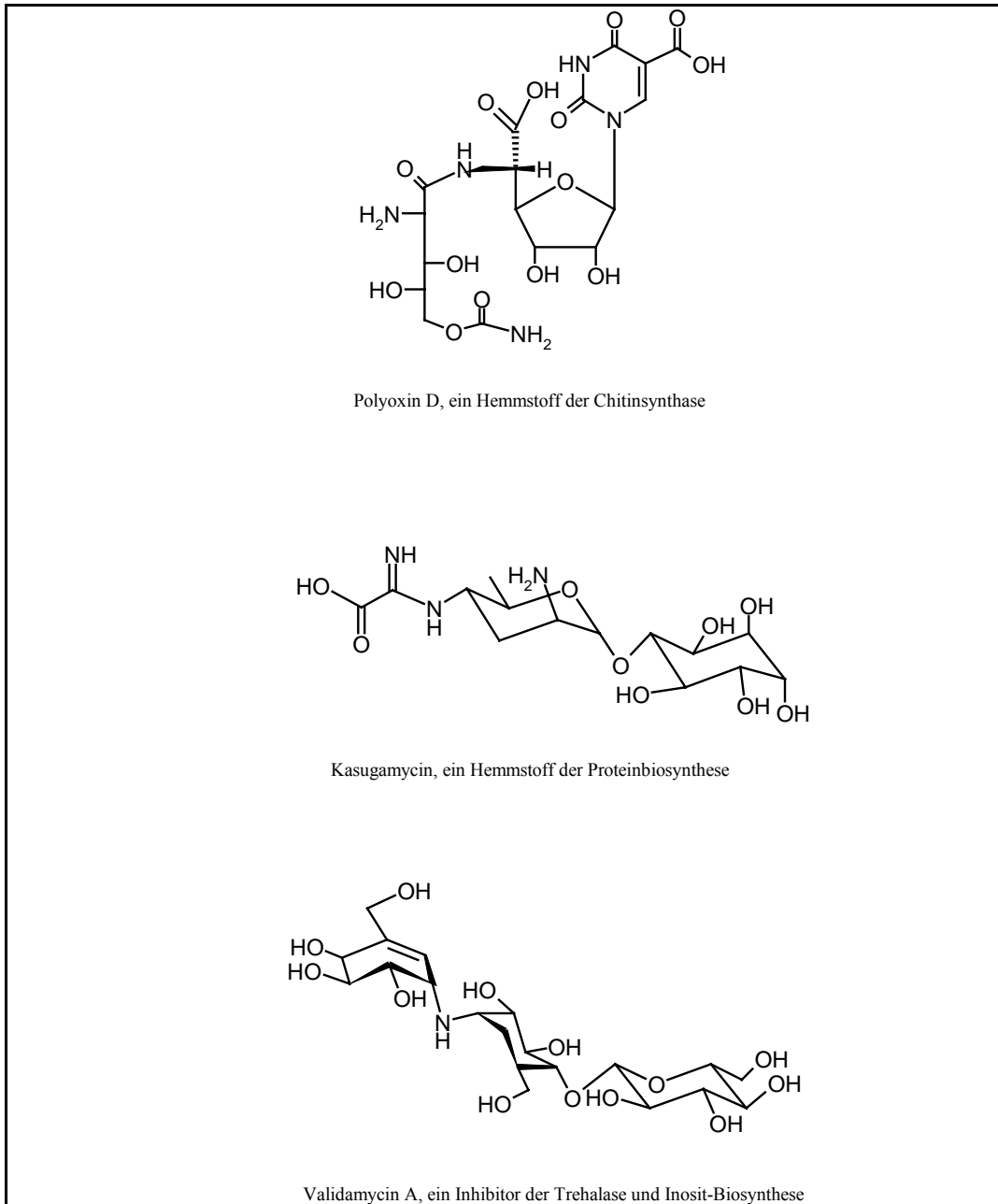


Abb. 1: Als Fungizide eingesetzte Naturstoffe

In der Humanmedizin wurde unlängst mit **Caspofungin** ein semisynthetisches, sehr wirksames und wenig toxisches neues Antibiotikum aus der Echinocandin-Reihe (Bartizal et al., 1997) (Abb. 2) eingeführt, das das Potenzial hat, in einigen Anwendungen (invasive Aspergillose, Candida-Infektionen) das sehr toxische Amphotericin B abzulösen. Der Wirkort, die (1,3) β -D-Glucansynthase wäre auch ein sehr interessanter Angriffspunkt für Agrarfungizide, die sich aber strukturell deutlich von den Echinocandinen unterscheiden sollten, um Kreuzresistenzen zu vermeiden

Im Bereich Pflanzenschutz können Naturstoffe idealerweise als Ideenlieferanten für die Synthesechemie dienen und gleichzeitig Anhaltspunkte für neue interessante Angriffspunkte (Targets) geben. Ein neueres Beispiel hierfür sind die **Strobilurine**, die zur Entwicklung einer sehr erfolgreichen Klasse von Agrarfungiziden führten (Sauter et al., 1999). Ursprünglich isoliert aus einer Reihe von Basidiomyceten, die mit Strobilurinen und Oudemansinen ihr Habitat und Substrat verteidigen und zum Teil in Gegenwart von Konkurrenten die Produktion stark erhöhen (Kettering et al., 2004), ergaben sich aus der Aufklärung des Wirkortes in der Atmungskette und ersten Synthesen zur Auffindung des Toxophors genügend Anreize für eine Kooperation mit einem Industriepartner.

Dies führte in einem spannenden Wettlauf mit der internationalen Konkurrenz zur Markteinführung des ersten Produkts 1996 (Abb. 3). Die Entwicklung der Strobilurine belegt eindrucksvoll, daß Naturstoffe unter Beibehaltung ihrer intrinsischen ökologischen Vorteile für die Bedürfnisse des Pflanzenschutzes optimiert werden können.

Die infektionsrelevante Differenzierung in phytopathogenen Pilzen als Angriffspunkt für moderne Fungizide

Fungizide, die die pathogenitätsrelevante Differenzierung von Schadpilzen während der Präpenetrationsphase hemmen und dadurch die Besiedlung der Wirtspflanze verhindern, erfüllen die Anforderungen an moderne Agarwirkstoffe in zweifacher Hinsicht. Das vegetative Wachstum von bodenständigen oder Mykorrhiza-assoziierten Pilzen bleibt unbeeinträchtigt und die Wirkorte sind größtenteils neu.

Im Laufe der Evolution haben phytopathogene Pilze diverse Strategien entwickelt, um Pflanzen zu infizieren. Sie durchbrechen die Kutikula mithilfe lytischer Enzyme, durch mechanische Kraft oder sie dringen durch Wunden oder Stomata in die Wirtspflanzen ein. Die Keimung der Konidien, die apikale Extension des Keimschlauchs, sowie die Bildung von Infektionsorganen sind Voraussetzungen für eine erfolgreiche Infektion und Besiedlung der Wirtspflanze. Wirkstoffe, die diese Differenzierungsprozesse hemmen, können als Pflanzenschutzmittel sehr interessant sein (Thines et al., 2004). Aufgrund der unterschiedlichen Infektionsstrategien versprechen besonders Hemmstoffe der Konidienkeimung, einem Differenzierungsschritt, der bei allen luftbürtigen Phytopathogenen essentiell ist, ein entsprechend großes Anwendungsspektrum.

Die **Melaninbiosynthese** im Reisbranderreger *Magnaporthe grisea* ist ein Beispiel für einen Differenzierungsprozess, der durch nicht-fungitoxische Pflanzenschutzmittel

während der Präpenetrationsphase gehemmt werden kann.

Die Synthese von Dihydroxynaphthalin-Melanin und die Anlagerung des Polymers in die Zellwand der Appressorien (Infektionsorgane), sind essentielle und spezifische Voraussetzungen für die Funktionalität der Infektionsstrukturen (Howard, 1997). Mutanten, in denen die Biosynthese von DHN-Melanin gehemmt ist, können im Inneren der Appressorien keinen Turgor mehr generieren, so dass die Kutikula von Reisblättern nicht mehr penetriert wird (Howard & Valent, 1996).

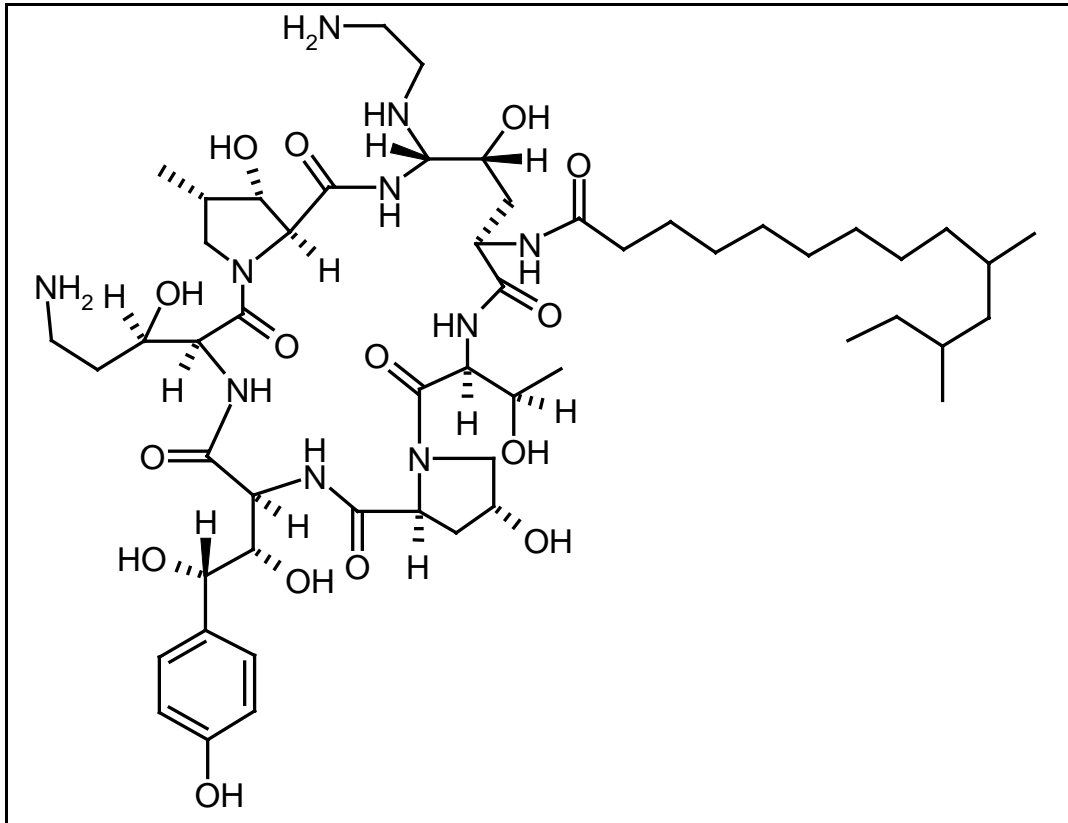


Abb. 2: Caspofungin, ein Inhibitor der (1,3) β -D-Glucansynthase

Hemmstoffe der DHN-Melaninbiosynthese werden seit etwa 30 Jahren erfolgreich im Reisanbau eingesetzt. Während ältere Pestizide wie Beam (**Trizyklazol**) die Schlüsselenzyme Tetra- bzw. Trihydroxynaphthalinreduktase der Melaninbiosynthese in *Magnaporthe grisea* hemmen, unterscheidet sich das kürzlich entwickelte/zugelassene Fungizid **Carpropamid** in der Wirkungsweise. Carpropamid hemmt die Reaktionen von Scytalon zu 1,3,8-Trihydroxynaphthalin und von Vermelon zu 1,8-Dihydroxynaphthalin (Thieron et al., 1998). DHN-Melaninbiosynthesehemmstoffe beeinträchtigen

ausschließlich die Funktionalität der Appressorien, das Myzelwachstum wird nicht gehemmt. Ein Nachteil dieser Verbindungen ist das eingeschränkte Pathogenspektrum, da der Penetrationsmechanismus nicht sehr weit verbreitet ist. Die Hemmstoffe der DHN-Melaninbiosynthese wirken protektiv und werden gegen Reisbrand eingesetzt.

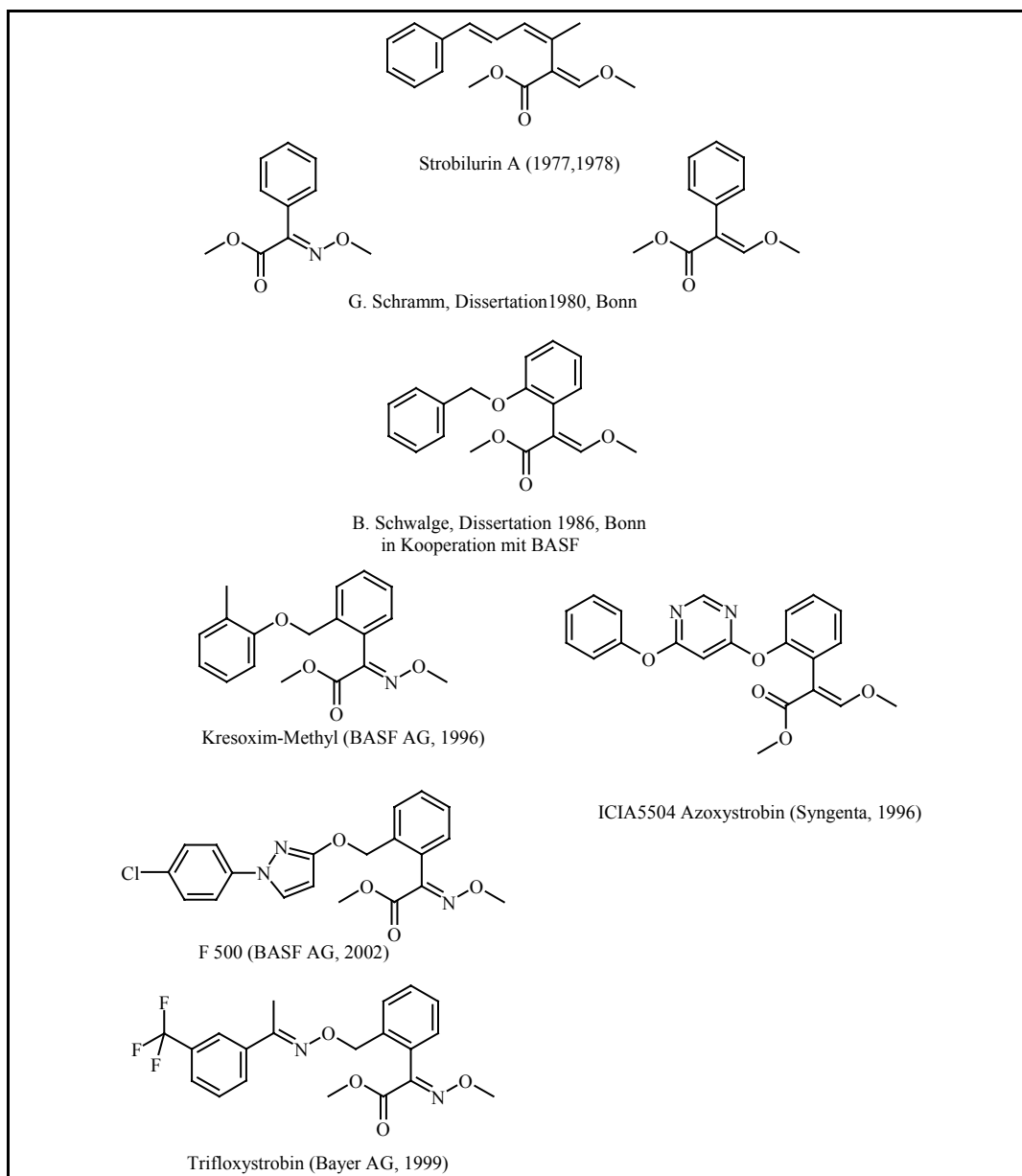


Abb. 3: Der lange Weg vom Naturstoff Strobilurin A zu weltweit eingesetzten Agrarfungiziden.

Quinoxifen, aus der chemischen Klasse der Phenoxyquinoline, ist ein weiteres Beispiel für ein Fungizid, das spezifisch in Differenzierungsprozesse während der Präpenetrationsphase eingreift und die Appressorienbildung in *Blumeria graminis*, dem Erreger des echten Mehltaus am Weizen, effizient hemmt. Der genaue molekulare Wirkort von Quinoxifen ist bislang noch nicht identifiziert. Da die Verbindung keine toxische Wirkung auf das Myzelwachstum vieler Pilze hat, wird angenommen, dass die frühe Signaltransduktion, die zur Bildung von Appressorien/Infektionsorganen führt, gehemmt wird (Wheeler et al., 2000). In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Transkriptmenge der Protein Kinase C und cAMP-abhängigen Protein Kinase A durch die Einwirkung von Quinoxifen verändert werden, wobei bislang nicht geklärt ist, ob die enzymatische Aktivität dieser Kinasen direkt beeinträchtigt wird (Wheeler et al., 2003). Eine Identifizierung des Wirkorts mithilfe resistenter Mutanten gestaltet sich schwierig, da diese Stämme weniger Sporen bilden und eine geringere Fitness haben.

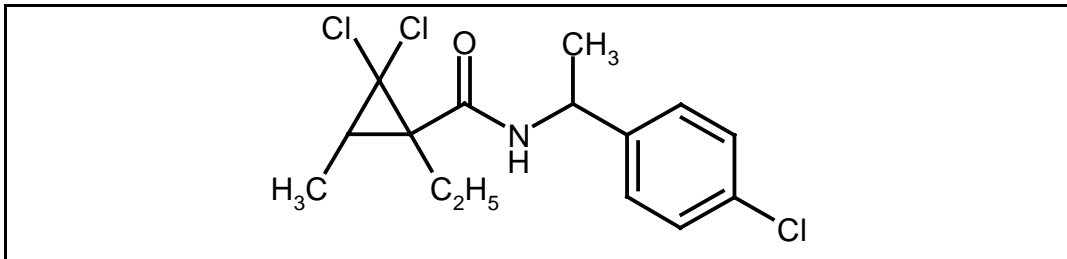


Abb. 4: Carpropamid, Hemmstoff der DHN-Melaninbiosynthese in *Magnaporthe grisea*

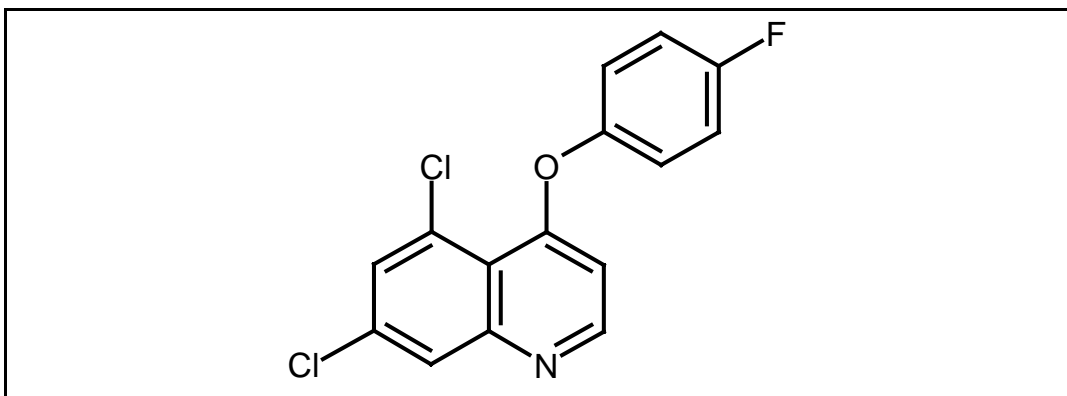


Abb. 5: Quinoxifen, Hemmstoff der Appressorienbildung in *Blumeria graminis*

Modulatoren von Signaltransduktionswegen in Pilzen als Fungizide

Außer Quinoxifen gibt es noch weitere Fungizide, die mit der intrazellulären Signalweiterleitung in phytopathogenen Pilzen interagieren. Im Gegensatz zu Hemmstoffen von Signalprozessen, wird durch **Fludioxonil** ein MAP Kinase Signalweg in Pilzen hyperaktiviert (Kojima et al., 2004). Bei diesem Wirkstoff handelt es sich um ein Phenylpyrrol-Fungizid, das chemisch vom Naturstoff Pyrrolnitrin abgeleitet ist (Gehmann et al., 1990). Fludioxonil wird aufgrund seines breiten Wirkspektrums gegen eine Reihe ökonomisch wichtiger Pflanzenpathogene eingesetzt.

Hinweise zur Wirkungsweise der Verbindung brachten Beobachtungen an resistenten Mutanten, z.B. in *Botrytis cinerea*, die im Vergleich zu Wildtyp-Stämmen sensitiv für osmotischen Stress waren (Yoshimi et al., 2003; Kojima et al., 2004). In *Saccharomyces cerevisiae* ist die MAP Kinase Hog1 ein zentrales Element bei der Regulation der zellulären Antwort auf osmotischen Stress (Brewster et al., 1993). In den filamentösen Pilzen *Neurospora crassa* und *Colletotrichum lagenarium* zeigten Mutanten, in denen *HOG1* homologe Gene deletiert sind, eine erhöhte Osmosensitivität und Resistenz gegen Fludioxonil (Zhang et al., 2002; Kojima et al., 2004). Es konnte gezeigt werden, dass nach Wirkstoff-Behandlung in *C. lagenarium* eine Hog1-verwandte MAP Kinase phosphoryliert und damit aktiviert war. Daher wird angenommen, dass die Aktivierung der MAP Kinase Hog1 für den fungiziden Effekt von Fludioxonil verantwortlich ist (Kojima et al., 2004).

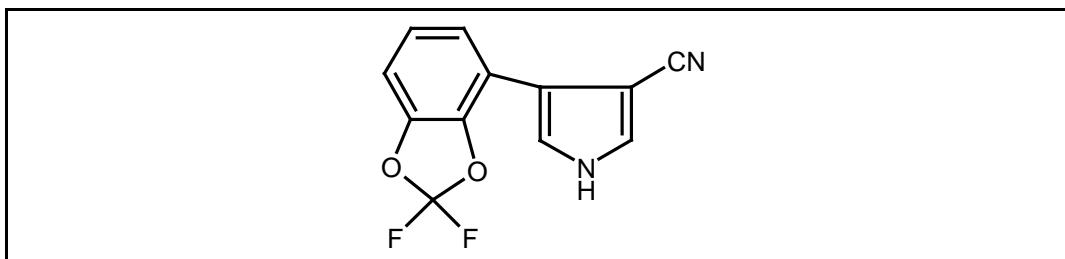


Abb. 6: Fludioxonil, ein Effektor der Signalweiterleitung in Pilzen

Die Osmoregulation in Pilzen gilt auch als Wirkort für **Pyrrolnitrin**, einem antifungischen Metabolit von *Pseudomonas sp.* (Pillonel & Meyer, 1997). Der Wirkstoff hemmt eine Proteinkinase in der Signaltransduktion, die an der zellulären Antwort auf Salzstress beteiligt ist.

Ein weiterer Hinweis für die Beeinträchtigung osmoregulatorischer Systeme durch Phenylpyrrol- und Dicarboximid-Fungizide kommt aus molekularbiologischen Untersuchungen am Maispathogen *Cochliobolus heterostrophus*. Mutanten, denen eine Histidin Kinase der Gruppe III fehlt, sind weniger empfindlich gegen diese Fungizide als

Wildtyp-Stämme. Es wird angenommen, dass Histidin Kinasen der Gruppe III an der Aktivierung der Hog1-abhängigen MAP Kinase Signalkaskade beteiligt sind (Yoshimi et al., 2005). Im humanpathogenen Pilz *Cryptococcus neoformans* konnte nachgewiesen werden, dass drei unabhängige Signaltransduktionswege an der Sensitivität gegen Fludioxonil beteiligt sind. Neben dem Hog1 MAP Kinase Signalweg konnten auch Calcineurin- und Mpk1 MAP Kinase Signalkaskaden identifiziert werden, die zur Resistenz gegen das Fungizid beitragen (Kojima et al., 2006).

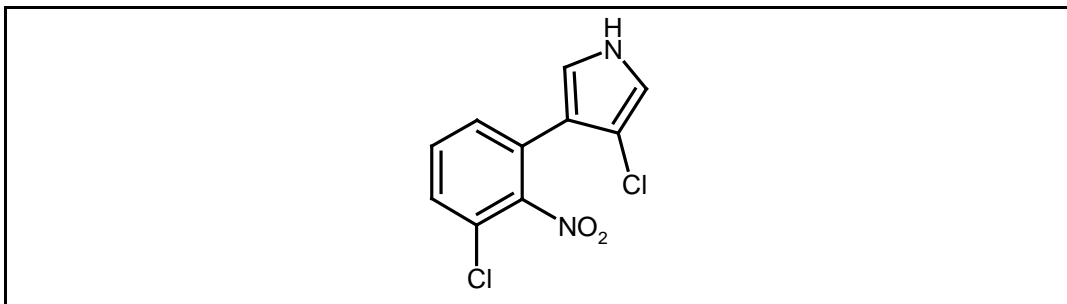


Abb. 7: Pyrrolnitrin

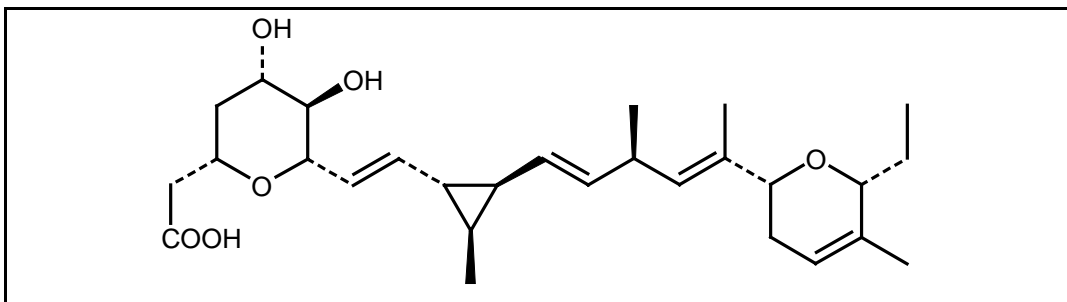


Abb. 8: Ambruticin S

Obwohl die genaue Wirkungsweise von Phenylpyrrol-Fungiziden noch nicht bekannt ist, scheint die Signaltransduktion, die am osmoregulatorischen System in Pilzen beteiligt ist, ein gutes Target zu sein für die Entwicklung neuer Fungizide.

Eine ähnliche Wirkungsweise wird auch für den Naturstoff **Ambruticin**, einem antifungischen Sekundärmetaboliten aus Kulturen des Myxomyceten *Polyangium cellulosum*, angenommen (Knauth & Reichenbach 2000). Pyrrolnitrin-resistente Stämme sind auch weniger empfindlich gegen Ambruticin. Unter Einwirkung des Naturstoffs konnte in *Zygosaccharomyces rouxii* neben der Akkumulation von Glycerin eine Veränderung des Lipidmusters festgestellt werden. Der letale Effekt von Ambruticin

beruht wahrscheinlich auf dieser Veränderung der Lipidzusammensetzung (Knauth & Reichenbach 2000).

Aktuelle Ansätze zur Identifizierung neuer Targets für Fungizide

Ein Nachteil von Fungiziden, die Differenzierungsvorgänge in der infektionsspezifischen Morphogenese hemmen, ist die zum Teil geringe Anwendungsbreite. Um neue Wirkorte für Pflanzenschutzmittel zu identifizieren, die im Infektionsprozess vieler phytopathogener Pilze wichtige Funktionen haben, gewinnt daher die funktionelle Genomforschung immer mehr an Bedeutung. Derzeit werden die Genome mehrerer Pilze sequenziert. Die resultierenden Datenbanken ermöglichen eine vergleichende Analyse von Genen, die an Entwicklungsprozessen beteiligt sind und die charakteristisch für Pilze sind bzw. als spezifische Angriffspunkte für Fungizide in Frage kommen (Xu et al., 2006). Vor allem Untersuchungen des Genexpressionsprofils haben sich als wertvolles Werkzeug erwiesen, um Gene zu identifizieren, deren Produkte an frühen Infektionsprozessen, oder an essentiellen physiologischen Reaktionen beteiligt sind (Beffa, 2004). Eine signifikante Regulation der Transkriptmenge identifizierter Gene ist ein erster Hinweis dafür, dass die korrespondierenden Proteine wichtige Funktionen in solchen Prozessen haben.

Die Sequenz-Informationen haben auch die molekularbiologische Manipulation, wie die Deletion von Genen, wesentlich vereinfacht, was wiederum die Grundlage für das Verständnis von Biosynthese-, Differenzierungs- und Signalvorgängen ist. Die Zerstörung von Genen birgt jedoch gravierende Nachteile. Oft führen Deletionen zu pleiotropen Effekten, d.h. die beobachteten Veränderungen in der Mutante können durch Sekundäreffekte hervorgerufen sein, wodurch Rückschlüsse auf das zu untersuchende Gen/Protein nicht zulässig sind.

Bei der Identifizierung von Pathogenitätsfaktoren bedeutet ein apathogener Phänotyp bei der Charakterisierung der entsprechenden Mutante noch nicht, dass das Genprodukt auch ein geeigneter Wirkort für ein Fungizid ist. In diesem Fall ist die Validierung eines möglichen Targets für die Therapie von großer Bedeutung. Dies kann mittels posttranskriptionalem ‚**gene silencing**‘ (PTGS) erfolgen. Dabei wird die mRNA eines Gens sequenzspezifisch abgebaut. (Nakayashiki et al., 2005). Besonders für Faktoren, von denen angenommen wird, dass die Deletion des korrespondierenden Gens zu einem letalen Phänotyp führt, ist das PTGS ein wertvolles Werkzeug, um die physiologische Rolle zu validieren.

Zur Identifizierung und Validierung von potenziellen Targets für Pflanzenschutzmittel können auch Hemmstoffe verwendet werden. Diese haben den großen Vorteil, dass sie in unterschiedlicher Dosierung und zu verschiedenen Zeitpunkten angewendet werden können. Dabei sind Naturstoffe unter anderem durch ihre hohe chemische Diversität von großem Interesse. Während in der Vergangenheit Substanzbibliotheken oft nur nach ‚Assay-fähigen‘ biologischen Aktivitäten untersucht wurden, werden neuerdings auch spezifische biologische Vorgänge wie Signaltransduktion und Differenzierung

einbezogen. Daher können in Zukunft noch viele interessante Effektoren dieser Stoffwechselfvorgänge erwartet werden und damit neue Ansätze für den Pflanzenschutz.

Literatur

- Bartizal, K., Gill, C. J., Abruzzo, G. K., Flattery, A. M., Kong, L., Scott, P. M., Smith, J. G., Leighton, C. E., Bouffard, A., Dropinski, J. F., Balkovec, J., 1997: In vitro preclinical evaluation studies with the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743,872). *Antimicrob. Agents Chemother* **41**, 2326-2332.
- Beffa, R., 2004: Genomics and biochemistry in the discovery process of modern fungicides. *Bayer Pflanzenschutz Nachrichten* **57**, 46-61.
- Brewster, J.L., de Valoir, T., Dwyer, N.D., Winter, E., Gustin, M.C., 1993: An osmosensing signal transduction pathway in yeast. *Science* **259**, 1760–1763.
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee (<http://www.frac.info/frac/index.htm>), 2006.
- Gehmann, K., Nyfeler, R., Leadbeater, A. J., Nevill, D., Sozzi, D., 1990: CGA 173506: a new phenylpyrrole fungicide for broad-spectrum disease control. *Brighton Crop Prot Conf Pests Dis* **2**, 399–406.
- Howard, R.J., Valent, B., 1996: Breaking and entering: host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. *Ann Review Microbiology* **50**, 491-512.
- Howard, R.J., 1997: Breaching the outer barriers – cuticle and cell wall penetration. In *The Mycota 5A: Plant Relationships* (G. C. Carroll & P. Tudzynski, eds). Springer-Verlag: Berlin, pp. 43-60.
- Isono, K., Asahi, K., Suzuki, S., 1969: Studies on polyoxins, antifungal antibiotics. 13. The structure of polyoxins. *J Am Chem Soc* **91**, 7490-7505.
- Iwasa, T., Hagashide, E., Shibata, M., 1970: Studies on validamycins, new antibiotics. I. *Streptomyces hygrosopicus* var. *limoneus* nov. var., validamycin-producing organism. *Jpn J Antibiot* **6**, 595-602.
- Kettering, M., Sterner, O., Anke, T., 2004: Antibiotics in the chemical communication of fungi. *Z Naturforsch* **59c**, 816-823.
- Knauth, P., Reichenbach, H., 2000: On the mechanism of action of the myxobacterial fungicide ambruticin. *J Antibiot* **53**(10), 1182-90.
- Kojima, K., Bahn, Y.-S., Heitman, J., 2006: Calcineurin, Mpk1 and Hog1 MAPK pathways independently control fludioxonil antifungal sensitivity in *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology* **152**, 591-604.
- Kojima, K., Takano, Y., Yoshimi, A., Tanaka, C., Kikuchi, T., Okuno, T., 2004: Fungicide activity through activation of a fungal signaling pathway. *Mol Microbiol* **53**, 1785–1796.
- Nakayashiki H., Hanada S., Nguyen B.Q., Kadotani N., Tosa, Y., Mayama, S., 2005: RNA silencing as a tool for exploring gene function in ascomycete fungi. *Fungal Genet Biol* **42**(4), 275-83.

- Pillonel, C., Meyer, T., 1997: Effect of phenylpyrroles on glycerol accumulation and protein kinase activity of *Neurospora crassa*. Pestic Sci 49, 229-236.
- Sauter, H., Steglich, W., Anke, T., 1999: Strobilurine: Evolution einer neuen Wirkstoffklasse. Angew Chem 111, 1416-1438; Int. Ed., 39, 1328-1349.
- Sparks, T.C., Thompson, G.D., Kirst, H.A., Hertlein, M.B., Mynderse, J.S., Turner, J.R., Worden, T.V., 1998: Fermentation-Derived Insect Control Agents The Spinosyns. In: F. R. Hall and J. J. Menn (eds) Methods in Biotechnology, Biopesticides: Use and Delivery, Humana Press, Totowa, NJ, 5, 171-188.
- Tanaka, Y., Omura, S., 1993: Agroactive compounds of microbial origin. Ann Review Microbiology 47, 57-87.
- Thieron, M., Pontzen, R., Kurahashi, Y., 1998: Carpropamid: a rice fungicide with two modes of action. Bayer Pflanzenschutz Nachrichten 51, 257-277.
- Thines, E., Anke, H., Weber, R.W.S., 2004: Fungal secondary metabolites as inhibitors of infection-related morphogenesis in phytopathogenic fungi. Mycol Res 108, 14-25.
- Umezawa, H., Hamada, M., Suhara, Y., Hashimoto, T., Ikekawa, T., 1965: Kasugamycin, a new antibiotic. Antimicrobial Agents Chemother 5, 753-757.
- Wheeler, I., Hollomon, D.W., Longhurst, C., Green, E., 2000: Quinoxifen signals a stop infection by powdery mildews In: The BCPC Conference – Pests & Disease, Abstract 8A-4.
- Wheeler, I.E., Hollomon, D.W., Gustafson, G., Mitchell, J.C., Longhurst, C., Zhang, Z.G., Gurr, S.J., 2003: Quinoxifen perturbs signal transduction in barley powdery mildew (*Blumeria graminis f.sp hordei*) Mol Plant Pathol 4, 177-186.
- Xu, J.R., Peng, Y.L., Dickman, M.B., Sharon, A., 2006: The dawn of fungal pathogen genomics. Annual Review of Phytopathology, Epub (ahead of print).
- Yoshimi, A., Kojima, K., Takano, Y., Tanaka, C., 2005: Group III histidine kinase is a positive regulator of Hog1-type mitogen-activated protein kinase in filamentous fungi. Eukaryot Cell 4(11), 1820-1828.
- Yoshimi, A., Imanishi, J., Gafur, A., Tanaka, C., Tsuda, M., 2003: Characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Cochliobolus heterostrophus* resistant to dicarboximide and phenylpyrrole fungicides. J Gen Plant Pathol 69, 101-108.
- Zhang, Y., Lamm, R., Pillonel, C., Lam, S., Xu, J.-R., 2002: Osmoregulation and fungicide resistance: the *Neurospora crassa* os-2 gene encodes a Hog1 mitogen-activated protein kinase homologue. Appl Environ Microbiol 68, 532-538.