

FITOALEXINAS: MECANISMO DE DEFENSA DE LAS PLANTAS

R. García-Mateos^{1,2}; R. Pérez-Leal²

¹Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México C. P. 56230.

²Posgrado en Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, México. C. P. 56230.

RESUMEN

Las fitoalexinas son metabolitos secundarios de naturaleza química diversa, principalmente flavonoides, de bajo peso molecular, que se sintetizan en los vegetales después de una infección microbiana. La síntesis se puede disparar por la acción de factores como elicitores o inductores, tanto exógenos, producidos por patógenos, agentes químicos, daños mecánicos; como endógenos, producidos por las plantas en respuesta a determinadas situaciones de estrés. Los inductores de la síntesis y acumulación de fitoalexinas no sólo provienen de la planta hospedera, sino del huésped (hongos, bacterias y virus). Se han identificado principalmente en dicotiledóneas. Existen pocos reportes de su presencia en monocotiledóneas y gimnospermas. La técnica de cultivo *in vitro* es una alternativa para la producción de fitoalexinas y la investigación de estos metabolitos una contribución para control de ciertas plagas.

PALABRAS CLAVE: elicitores, fitoalexinas, infección

PHYTOALEXINS: A PLANT DEFENSE MECHANISM

SUMMARY

Phytoalexins are secondary metabolites of a diverse chemical nature, principally flavonoids of low molecular weight that are synthesized in plants after a microbial infection. The synthesis may be triggered by the action of factors such as elicitors or inducers, which may be produced exogenously by synthesis and accumulation of phytoalexins. Not only do they originate in the host plant, but also in the pathogen (fungi, bacteria and virus). They have been identified principally in dicots. There are few reports of their presence in monocots and gymnosperms. The technique of culture *in vitro* is an alternative for the production of phytoalexins and research on these metabolites can contribute to the control of certain pests.

KEY WORDS: elicitors, phytoalexins, infection

INTRODUCCIÓN

La base fisiológica y bioquímica de la resistencia de plantas al ataque de patógenos, hongos y bacterias; se encuentra relacionada con la biosíntesis de metabolitos secundarios implicados en los procesos infecciosos. Muchos cambios bioquímicos ocurren en las plantas después de una infección y algunos de estos cambios se han asociado con la expresión del mecanismo de defensa, produciendo sustancias llamadas fitoalexinas.

Tomando en cuenta la importancia de las fitoalexinas desde el punto de vista ecológico, agronómico y fitoquímico, en el presente artículo se describe la naturaleza química de estos metabolitos, factores de regulación, mecanismos de acción, además se mencionan algunos compuestos

químicos que presentan esta actividad. Por lo tanto, la presente revisión tiene como propósito destacar el papel de las fitoalexinas, productos del metabolismo secundario y el potencial que representan.

ANTECEDENTES

Los primeros reportes sobre la presencia de estos metabolitos fueron descritos por Muller y Borger (Kuc, 1995), mostraron fuertes evidencias de la resistencia de las plantas a enfermedades al observar la resistencia de la papa al hongo *Phytophthora infestans* causada por la producción de compuestos fungitóxicos por la planta hospedera. De estas observaciones surgió la teoría de la presencia de las fitoalexinas, metabolitos de bajo peso

molecular, definidas por Muller como compuestos producidos después de una infección bajo la influencia de dos sistemas metabólicos: la interacción de un organismo hospedero (planta) y un huésped (patógeno) y la inhibición del patógeno. Años más tarde las investigaciones de Cruickshank y Perrin (Kuc, 1995), fueron muy importantes para establecer a nivel molecular el concepto de fitoalexina. Ellos caracterizaron diversas estructuras de las primeras fitoalexinas identificadas en algunas especies de frijol, chícharo, zanahoria, papa y orquídeas, lo cual constituyó el punto de partida para el estudio de su biosíntesis, degradación, y el papel en la resistencia a enfermedades, regulación genética para su síntesis y transferencia de genes para su síntesis de una planta a otra (Kuc, 1995).

Conforme se avanzaba en el conocimiento de estos metabolitos, su definición también fue evolucionando, considerándose en la actualidad compuestos antimicrobiales de bajo peso molecular producidos por las plantas en respuesta a infección, agentes químicos, daño mecánico o a estrés. Aunque se podría cuestionar el concepto antimicrobial, ya que las investigaciones reportan su síntesis como producto del ataque de hongos, en menor frecuencia al de bacterias.

Algunos investigadores sugieren que las fitoalexinas son metabolitos, producto del estrés, inducidos por altos niveles de radiación ultravioleta, heridas, descenso de temperatura y por la aplicación de fungicidas.

Las fitoalexinas se sintetizan en las células sanas adyacentes a las células dañadas y se acumulan tanto en tejidos necróticos resistentes, como susceptibles, es decir, se producen restringidamente en un sitio alrededor del lugar de infección. La resistencia ocurre cuando una o más fitoalexinas alcanzan una concentración suficiente para inhibir el desarrollo del patógeno (Agrios, 1996). Se ha descrito que antes de una infección, se encuentran en una concentración casi detectable. Después de una infección son sintetizadas rápidamente, casi en horas después del ataque del patógeno y son tóxicas para un amplio espectro de hongos y bacterias patógenas (Taiz y Zeiger, 1991).

Inductores en la producción de fitoalexinas

Para responder efectivamente a la invasión de hongos y bacterias, las plantas deben reconocer su presencia para iniciar la producción. Davis *et al.* (1984) describieron la presencia de fragmentos de polisacáridos, producto de la pared celular del hongo, involucrados en el proceso de reconocimiento huésped-patógeno. Estos fragmentos, probablemente producto de la hidrólisis enzimática de la pared celular vegetal como respuesta del mecanismo de respuesta a la infección de la planta son considerados los inductores de la síntesis de las fitoalexinas. El término inductor "elicitors" se ha usado para referirse a compuestos que inducen la síntesis de fitoalexinas en plantas (Ebel, 1986).

Los inductores de la síntesis y acumulación de fitoalexinas no sólo provienen de la planta hospedera, sino del huésped. Muchos tipos de inductores se han identificado: hongos, bacterias, virus y otros patógenos que liberan o producen inductores de diversa naturaleza química como sales inorgánicas, carbohidratos complejos oligoglucanos, lípidos, ácidos grasos, oligómeros del tipo quitosanos, polipéptidos y etileno (Ward, 1986), algunos de ellos son producto de la hidrólisis enzimática de la pared celular de hongos. Otros compuestos son liberados como producto de la hidrólisis enzimática de la pared celular de las plantas, también pueden ser inductores de la síntesis de fitoalexinas, cuando se presenta no sólo una infección, sino algún daño mecánico, bajas temperaturas y radiación ultravioleta. Los factores abióticos también pueden ser inductores de estos metabolitos (condiciones de estrés, contaminantes, etc). Se han identificado alrededor de 200 compuestos que por la presencia de microorganismos y condiciones de estrés han inducido la síntesis de fitoalexinas, por ejemplo la acumulación de pisantina en chícharo (*Pisum sativum*), faseolina en frijol (*Phaseolus vulgaris*) y gliceolina I en soya (*Glycine max*) (Figura 1).

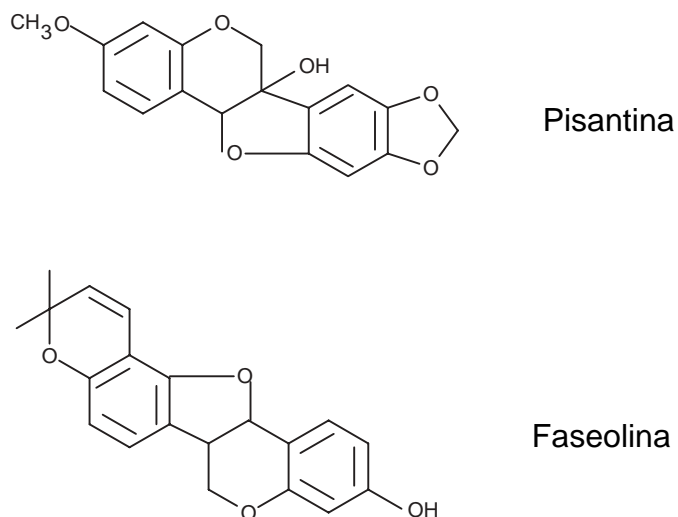


Figura 1. Estructuras de las fitoalexinas aisladas de chícharo y frijol

El mecanismo de inducción de la producción de estas sustancias aún no está claro, pero se ha descrito que en varias especies estos inductores, producidos por patógenos, estimulan la transcripción del ARN mensajero del hospedero, el cual codifica la expresión de enzimas involucradas en la biosíntesis de las fitoalexinas. Por ejemplo, se ha identificado a la gliceolina I (Figura 2) en células de soya, fitoalexina de naturaleza fenólica sintetizada por la fenilalanina amonioliasa (PAL), se ha observado que inductores de algunos hongos presentes en vegetales incrementan dramáticamente la velocidad de transcripción del ARNm para su expresión.

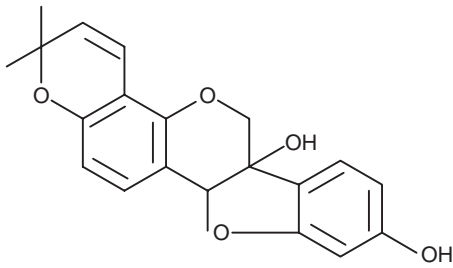


Figura 2. Estructura de la gliceolina I identificada en soya

Las evidencias señalan que las plantas no parecen almacenar la maquinaria enzimática requerida en la síntesis de fitoalexinas, sino que ellas inician la transcripción del apropiado ARNm para las enzimas involucradas después del daño o la invasión del patógeno.

Yoshikawa (1995) ha demostrado la presencia de receptores con un sitio específico de unión en las membranas celulares de soya, los cuales parecen jugar un papel fundamental en la inducción de la acumulación de fitoalexinas en los tejidos infectados por hongos.

En algunos casos, la producción de fitoalexinas parece ser inhibida por supresores producidos por el patógeno, estas sustancias al parecer son glucanos, toxinas del patógeno o glucoproteínas. No se tiene claro aún el mecanismo mediante el cual se relacionan inductores, supresores y la síntesis de fitoalexinas y los genes que confieren resistencia o susceptibilidad a la planta.

Ward (1986) señala que en el proceso de infección se ha observado en algunas especies cambios importantes, como la producción de etileno, despolarización de la membrana celular, activación del flujo de Ca^{+2} activando algunas enzimas, aumento de la respiración, afectación del transporte de electrones y un aumento de la actividad del ciclo de las pentosas fosfato para activar la ruta del ácido shiquímico precursor de derivados fenólicos y flavonoides; todos estos eventos relacionados a un proceso de resistencia.

Numerosos estudios evidencian que los patógenos pueden metabolizar las fitoalexinas. VanEtten *et al.* (1989) señalan que la mayoría de los patógenos desarrollan un mecanismo de detoxificación, lo cual es muy importante en la interacción huésped-patógeno. Como un fenómeno básico de evolución, la detoxificación de fitoalexinas por microorganismos provoca cierta tolerancia hacia metabolitos tóxicos. Como principio práctico este proceso puede ocasionar un control de la enfermedad causada por el mismo patógeno.

Recientemente, el aislamiento e identificación de genes de hongos sugiere que estos confieren a

detoxificación de fitoalexinas producidas por el huésped y se asocia directamente a lo que se denomina patogénesis (enfermedad).

Producción en respuesta a infección

Es necesario destacar que en la definición de fitoalexinas no se incluye el criterio de que estos metabolitos formen parte del mecanismo de defensa de los vegetales, sino más bien su función es la de un mecanismo de resistencia a la infección, esta teoría se apoya en el hecho de las escasas evidencias que avalan lo contrario. Una de ellas, es la propuesta por Oku y Shiraishi (1995) al realizar algunos estudios de la fitoalexina pisantina detectada en cebada inoculada con *Erysiphe graminis*, los autores consideran dos fases: la primera en donde la actividad de la fitoalexina es proporcional a la incompatibilidad entre la planta hospedera y el patógeno, al detectar su actividad ocho horas después de la inoculación, coincidiendo con el tiempo para producir resistencia y el tiempo de penetración en las células epidermales del hospedero. Este hecho sugiere que el hongo tiene habilidad de suprimir el primer paso de la reacción de defensa de la planta. En la segunda fase se detecta actividad de la pisantina varias horas después de la patogénesis. Esto llevó a los investigadores a proponer la hipótesis de que la pisantina tiene otra función además de la de actividad fungicida, y que juega un papel muy importante y determinante en la especificidad huésped-patógeno. Estos resultados nos llevan a suponer que la diversidad química de las fitoalexinas juega un papel importante en esta hipótesis (Hammerschmidt, 1999).

Kern según Hammerschmidt (1999), describe varias evidencias que fundamentan el papel de resistencia de las fitoalexinas en las plantas. Localización y duración de su acumulación en el tejido infectado, una fuerte correlación entre la rápida producción con la incompatible interacción gen-gen del sistema planta-patógeno, asociación rápida de la acumulación con genes de resistencia de la planta que condicionan a la inhibición del patógeno, uso de inhibidores metabólicos que aumentan la susceptibilidad y bloquean su producción, una relación positiva entre virulencia/patogénesis y tolerancia del patógeno a las fitoalexinas, un incremento de la resistencia del tejido vegetal por la producción del metabolito posterior a la inoculación.

Regulación de la síntesis de fitoalexinas

El control de la síntesis de fitoalexinas comprende el proceso regulatorio de su producción en respuesta a una infección y a diferentes tipos de inductores. Se ha observado que la inducción de la síntesis y acumulación se encuentra asociada con un incremento de los niveles de actividad de las enzimas involucradas en las rutas biosintéticas y juegan un papel importante en su regulación. Otro mecanismo de

control comprende la inhibición del producto sintetizado, la especificidad de las enzimas involucradas, compartimentación celular y subcelular de enzimas y sustratos y la presencia de productos del metabolismo del huésped.

Distribución

No existe aún una investigación de la naturaleza y distribución de las fitoalexinas en el reino vegetal, además, se desconoce si se producen universalmente en las plantas superiores. Recientemente, se han identificado aproximadamente en 16 familias, principalmente en las dicotiledóneas. Existen pocos reportes de su presencia en monocotiledóneas y gimnospermas, pero no se describen aún en plantas no vasculares.

La mayoría de las fitoalexinas se han identificado en las familias: Leguminosae y Solanaceae, pero es importante señalar que en cada familia se han llegado a detectar estos metabolitos pertenecientes únicamente a dos o tres clases de productos naturales, como ejemplo, se han detectado dos poliacetilenos: falcarinol y falcarindiol y un sesquiterpenoide: risitina (Figura 3) en tomate (*Lycopersicon esculentum*, Solanaceae).

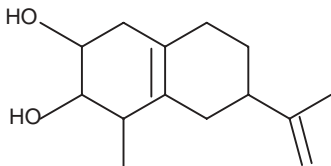


Figura 3. Estructura de la risitina aislada de tomate

Biosíntesis de fitoalexinas

La mayoría de las fitoalexinas identificadas derivan de la ruta biosintética de los fenilpropanoides (Reichling, 1999). Se encuentran diversos metabolitos identificados, involucrados en la resistencia a enfermedades flavonoides, isoflavonoides, coumarinas, estilbenos, dihidrofenantrenos, lignina y otros fenoles. La secuencia de las reacciones de síntesis y las enzimas involucradas, también se encuentran identificadas. Las enzimas que catalizan los pasos son la fenilalanina amonio liasa (PAL), cinamato-4-hidrolasa y la 4-cumarato coenzima A ligasa. Existen otras enzimas que se encargan de reacciones específicas: como hidroxilaciones, metilaciones, etc. Una cercana relación de las enzimas y las rutas metabólicas y una aparente interdependencia en la regulación existente, en respuesta a la variación de estímulos incluyendo la infección, inductores, luz y otros factores ambientales.

La gliceolina, pisantina, faseolina y medicarpina (Stevenson *et al.* 1997) pertenecen a esta clase de metabolitos. Mangiferina identificada en malformaciones de *Mangifera indica* asociada con la infestación de *Fusarium moniliforme* (Chakrabarti y Ghosal, 1985). Los estilbenoides, síntesis inducida por estrés, han sido estudiados en algunas especies de *Pinus*, hojas de *Vitaceae* y en diferentes tejidos de *Arachis hypogaea*. Dihidrofenantrenos de las especies *Orchidaceae* son derivados de la combinación de dos rutas metabólicas cinamato-malonato.

Otros tipos de metabolitos identificados son los terpenoides derivados de la ruta del mevalonato (Brooks y Watson, 1991). Un sesquiterpenoide: ipomeamarona (Figura 4) y algunos derivados relacionados, aislados de papa dulce (*Ipomoea batatas*). El poder regulatorio de las enzimas durante la producción de las fitoalexinas de esta ruta metabólica se desconoce.

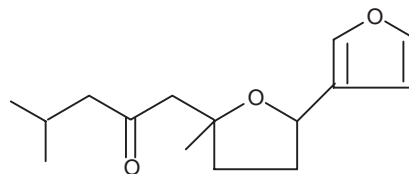
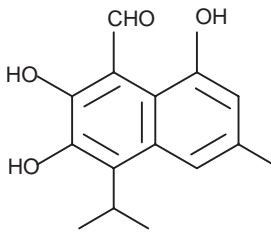


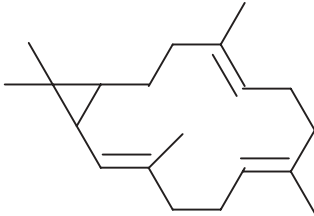
Figura 4. Estructura de la ipomeamarona aislada de la papa

Eldon y Hillocks (1996) describen la presencia del sesquiterpeno: hemigossipol, aislado del algodón (*Gossypium hirsutum*), el cual da resistencia contra el ataque de *Verticillium dahliae*, pero no contra *Fusarium oxysporum*. Como ejemplo de diterpenoides se encuentra el casbeno (Figura 5) identificado en *Ricinus communis*, aislado del extracto de células de plantas infectadas con algunas variedades de hongos. Además de algunos flavonoides, se encuentran algunos esteroides, estos han sido identificados en malformaciones de flores de *Mangifera indica* infestadas de *Fusarium moniliforme*, los autores consideran de significancia bioquímica la diversidad de estructuras, resultado de una reacción de hipersensibilidad por parte de la planta de mango (Ghosal y Chakrabarti, 1988). Fitoalexinas de carácter amídico han sido reportadas por Ramos *et al.* (1997) como fenolamidas, las cuales dan resistencia a la palma datilera (*Phoenix dactylifera*) frente a *Fusarium oxysporum*.

El conocimiento de las rutas biosintéticas de las fitoalexinas conocidas y las enzimas involucradas conducen al conocimiento de la expresión de una respuesta de la planta hacia la infección por patógenos.



Hemigossipol,



Casbene

Figura 5. Estructura de fitoalexinas de naturaleza terpenoide.

Las fitoalexinas constituyen un grupo químicamente heterogéneo de varias clases de productos naturales. Se han identificado cerca de 150 metabolitos distribuidos dentro del grupo de los isoflavonoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, poliacetilenos, dihidrofenantrenos, estilbenos y otros tipos de sustancias. No se descarta la existencia de otras estructuras como fitoalexinas, conforme avanzan las investigaciones se descubren nuevas sustancias como las recientemente identificadas en *Avena sativa* debido a la infección con *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* (Ebel, 1986).

Mecanismo de acción

La actividad biológica de las fitoalexinas ha sido estudiada *in vitro* usando diferentes tipos de bioensayos. Como se ha señalado, son tóxicas para hongos, bacterias y células de plantas superiores (Abbas *et al.*, 1991) y animales; sin embargo, son pocos los estudios que señalan su actividad antiviral. Según Ebel (1986) la dosis efectiva que inhibe el crecimiento de hongos y bacterias parece ser elevada y se calcula en el orden de 10^{-5} a 10^{-4} M, concentración que se alcanza en el tejido infectado.

Se ha observado que existe diferente sensibilidad del patógeno a una fitoalexina dada. El mecanismo por el cual las fitoalexinas alcanzan su efecto tóxico no es aún claro. Considerando una gran diversidad de estructuras, un modo de acción es improbable, pero se cree que interactúan en diferentes sitios causando una disfunción en la integridad de la membrana. Estas especulaciones se establecen debido a que recientes estudios reportan el modo de acción del glicinoll (Figura 6) identificado en soya (*Glycine max*) en sitios específicos (Ebel, 1986).

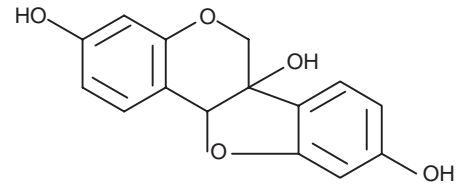


Figura 6. Estructura del glicinoll detectado en soya

Biotecnología

La técnica de cultivo de tejidos ha sido una herramienta valiosa para la comprensión de los procesos bioquímicos, fisiológicos y en general de la biología de células vegetales (Cocking, 1987). La adición o exposición de un inductor "elicitador" a cultivos de células en suspensión, se ha utilizado como una estrategia para incrementar la producción de fitoalexinas.

Según Eilert (1987) la concentración de la fitoalexina depende de los factores siguientes: especificidad del inductor, concentración del elicitador, tiempo de contacto con el inductor, línea celular, estadio de crecimiento de cultivo en el que fue adicionado el elicitador, concentración y combinación de los fitorreguladores y condiciones ambientales y nutricionales del medio de cultivo.

CONCLUSIONES

El estudio fitoquímico de la gran biodiversidad del planeta a permitido la elucidación de estructuras químicas de diversa naturaleza, siendo consideradas desde un inicio sustancias de desecho de las plantas.

El tratar de encontrar "la razón de ser" de estos compuestos, resultado del metabolismo secundario, ha generado controversia entre los investigadores. En respuesta a esta problemática, tanto el avance tecnológico y como la formación de grupos interdisciplinarios han señalado evidencias que justifican su presencia en la interacción planta-patógeno. Esta tarea aunque no ha sido sencilla, aún siguen existiendo muchas interrogantes sobre la biosíntesis de algunos metabolitos, mecanismos de acción y regulación, inductores, mecanismos de respuesta a la infección de la planta, etc.

El interés de numerosos grupos de investigación de diversos países es aún consistente, por reconocer la existencia e importancia de las fitoalexinas y su aplicación en el campo agrícola. Por lo tanto, se concluye que las perspectivas de las fitoalexinas como agroquímicos naturales es relevante, debido a que pueden contribuir de manera alternativa en el control y manejo de bacterias y hongos fitopatógenos, así como a la protección de los

ecosistemas. Adicionalmente, en el campo de la ingeniería genética, los avances pueden llegar a incidir en la maquinaria biosintética de estos metabolitos generando especies resistentes a algunos patógenos.

LITERATURA CITADA

- ABBAS, H. A.; DOUGLAS BOYETTE, C.; HOAGLAND, R. E.; VESONDER, R. F. 1991. Bioherbicidal Potential of *Fusarium moniliforme* and its Phytotoxin, Fumonisin. *Weed Science* 39: 673-677.
- AGRIOS, G. N. 1996. Fitopatología. Ed. Limusa. 2ª ed. México. 838 p.
- BROOKS, C. J. W.; WATSON, D. G. 1991. Terpenoid Phytoalexins. *Natural Products Reports* 8(4): 367-387.
- CHAKRABARTI, D. K.; GHOSAL, S. 1985. Effect of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* Infection on Mangiferina Production in the Twigs of *Mangifera indica*. *Phytopathology Z.* 113: 47-50.
- COCKING, E. C. 1987. Plant cell biology in the 21st century: the needs of plant cell and tissue culture. *In: Plant Tissue and Cell Culture*. Green, C. E.; Sommers, D. A. (eds). Alan R. Liss. USA.
- DAVIS, K. R.; LYON, G.D.; DARVILL, A. G.; ALBERSHEIM, P. 1984. Host-pathogen interactions XXV. Endopolygalacturonic acid lyase from *Erwinia carotovora* elicits phytoalexins accumulation by releasing plant cell wall fragments. *Plant Physiology* 74: 52-60
- EBEL, J. 1986. Phytoalexin Synthesis: The Biochemical Analysis of the Induction Process. *Annals Review Phytopathology* 24: 235-264.
- EILERT, U. 1987. Elicitation: methodology and aspects of application. *In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plant*. Constabel, F.; Vasil, I. K. (eds). Vol. 4. Academic Press. USA.
- ELDON, S.; HILLOCKS, R. J. 1996. The Effect of Reduced Phytoalexin Production on the Resistance of Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Verticillium* and *Fusarium* Wilts. *Annals of Applied Biology*: 129: 217- 225
- GHOSAL, S.; CHAKRABARTI, D. K. 1988. Differences in Phenolic and Steroidal Constituents Between Healthy and Infected Florets of *Mangifera indica* *Phytochemistry* 27: 1339-1343.
- HAMMERSCHMIDT, R. 1999. Phytoalexins: What Have We Learned After 60 Years? *Annual Review Phytopathology* 37: 285-306.
- KUC, J. 1995. Phytoalexins, Stress Metabolism, and Disease Resistance in Plants. *Annual Review Phytopathology*.33: 273-297.
- OKU, H.; SHIRAIISHI, T. 1995. Phytoalexins and host specificity in plant diseases. *In: Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action*. Daniel, M.; Purkayastha, R. P. (eds). Marcel Dekker, Inc. USA.
- RAMOS, T.; BELLAJ, M. EL.; IDRISSEI-TOURANE, A. EL.; DAAYF, F.; HADRAMI, I. EL. 1997. Les Phénolamides des Rachis de Plumes, Composants de la Réaction de Défense du Palmier Dattier vis-à-vis de *Fusarium Oxysporum* f.sp. *albedinis*, Agent Causal du Bayoud. *Journal of Phytopathology* 145: 487-493.
- REICHLING, J. 1999. Plant-microbe interactions and secondary metabolites with antiviral, antibacterial and antifungal properties. *In: Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*. Wink, M. (ed). Sheffield Academy Press. USA.
- STEVENSON, P. C.; TURNER, H. C.; HAWARE, M. P. 1997. Phytoalexin Accumulation in the Roots of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seedlings Associated with Resistance to fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 50: 167-178.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings. Redwood City, California. U.S.A. 316 p.
- VANETTEN, H. D.; MANTTHEWS, D. E.; MATTHEWS, P. S. 1989. Phytoalexins Detoxification: Importance for Pathogenicity and Practical Implications. *Annual Review Phytopathology* 27: 143-164.
- WARD, E. W. B. 1986. Biochemical Mechanisms involved in Resistance of Plants to Fungi. *Biology and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions*. Barley, J. (ed). NATO ASI Series Vol HI. Springer-Verlag. Berlin-Herdelberg.
- YOSHIKAWA, M. 1995. Elicitor and the molecular bases of phytoalexin elicitation. *In: Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action*. Daniel, M.; Purkayastha, R. P. (eds). Marcel Dekker, Inc. USA.