



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 698 30 734 T2 2006.05.18

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 012 255 B1

(51) Int Cl.⁸: C12N 15/00 (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: 698 30 734.8

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US98/01507

(96) Europäisches Aktenzeichen: 98 903 743.7

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 98/032844

(86) PCT-Anmeldetag: 27.01.1998

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 30.07.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 28.06.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 29.06.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 18.05.2006

(30) Unionspriorität:

36048 P 27.01.1997 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Cornell Research Foundation, Inc., Ithaca, N.Y., US

(72) Erfinder:

QIU, Dewen, Seattle, US; WEI, Zhong-Min,
Kirkland, US; BEER, V., Steven, Ithaca, US

(74) Vertreter:

Henkel, Feiler & Hänzel, 81675 München

(54) Bezeichnung: PFLANZENWUCHSERHÖHUNG

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Anmeldung beansprucht die Nutzung der U.S. Provisional Patent Application des Aktenzeichens 60/036048, eingereicht am 27. Januar 1997.

[0002] Diese Erfindung wurde mit Unterstützung der US-Regierung unter USDA NRI Competitive Research Grant Nr. 91-37303-6430 durchgeführt.

Gebiet der Erfindung

[0003] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen.

Hintergrund der Erfindung

[0004] Die Verbesserung des Pflanzenwachstums durch Applikation organischer Düngemittel ist bekannt und wird seit Jahrhunderten durchgeführt (H. Marschner, "Mineral Nutrition of Higher Plants", Academic Press: New York, S. 674 (1986)). Der moderne Mensch entwickelte ein komplexes anorganische Düngemittelproduktionssystem zur Herstellung eines problemlosen Produkts, das Züchter und Landwirte auf Böden oder wachsende Feldfrüchte zur Verbesserung der Leistung durch Wachstumsverstärkung applizieren können. Die Pflanzengröße, -färbung, -reifung und -ausbeute können alle durch Applikation von Düngemittelprodukten verbessert werden. Anorganische Düngemittel umfassen häufig applizierte Chemikalien, wie Ammoniumnitrat. Organische Düngemittel können Tierdünger und kompostierte Rasenabfälle unter vielen anderen Quellen umfassen.

[0005] In den letzten Jahren suchten Forscher danach, Pflanzenwachstum durch die Verwendung biologischer Produkte zu verbessern. Insekten- und Krankebekämpfungsmittel, wie Beauveria bassiana und Trichoderma harzianum, wurden zur Bekämpfung von Insekten- und Krankheitsproblemen und dadurch indirekten Verbesserung von Pflanzenwachstum und -leistung registriert (Fravel et al., "Formulation of Microorganisms to Control Plant Diseases", Formulation of Microbial Biopesticides, Beneficial Microorganisms, and Nematodes, H. D. Burges, Hrsg. Chapman und Hall: London (1996)).

[0006] Es gibt gewisse Anzeichen für eine direkte Pflanzenwachstumsverstärkung mittels Mikroorganismenapplikation oder Mikroorganismennebenprodukten. Knöllchenbildende Bakterien wurden Samen von Leguminosen zugesetzt, wenn diese an einem neuen Ort eingeführt wurden (Weaver et al., "Rhizobium", Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, 2. Auflage, American Society of Agronomy: Madison (1982)). Diese Bakterien können die Knöllchenbildungseffizienz der Pflanze verbessern und dadurch die Fähigkeit der Pflanze zur Umwandlung von freiem Stickstoff in eine verwendbare Form, ein als Stickstofffixierung bezeichneter Prozess, verbessern. Nicht-Leguminosen haben in der Regel von einer derartigen Behandlung keinen Vorteil. Zugesetzte Bakterien, wie Rhizobium, besetzen direkt parasitisch die Wurzelhaare und beginnen dann eine wechselseitige Beziehung, in dem sie der Pflanze einen Vorteil bereiten, während sie Schutz und Nahrung erhalten.

[0007] Mykorrhiza-Pilze wurden ebenfalls als notwendige Mikroorganismen für optionales Wachstum von vielen Feldfrüchten, insbesondere Nadelbäumen in nährstoffarmen Böden erkannt.

[0008] Mechanismen, die die Biosynthese von Pflanzenhormonen (Frankenberger et al., "Biosynthesis of Indol-3-Acetic Acid by the Pine Ectomycorrhizal Fungus Pisolithus tinctorius", Appl. Environ. Microbiol. 53: 2908–13 (1987)), die erhöhte Aufnahme von Mineralstoffen (Harley et al., "The Uptake of Phosphate by Excised Mycorrhizal Roots of Beech", New Phytologist 49: 388–97 (1950) und Harley et al., "The Uptake of Phosphate by Excised Mycorrhizal Roots of Beech. IV. The Effect of Oxygen Concentration Upon Host and Fungus", New Phytologist 52: 1224–32 (1953)) und Wasser (A. B. Hatch, "The Physical Basis of Mycotrophy in Pinus", Black Rock Forest Bull. Nr. 6, S. 168 (1937)) umfassen, wurden postuliert. Mykorrhiza-Pilze erreichten aufgrund variabler und inkonsistenter Ergebnisse mit einem gegebenen Mykorrhiza-Stamm und der Schwierigkeit der Untersuchung der Organismen nicht die große Verwendungshäufigkeit, die Knöllchenbildungsbakterien aufweisen.

[0009] Pflanzenwachstum fördernde Rhizobakterien ("PGPR") wurden in den letzten Jahren zur Verbesserung von Pflanzenwachstum und -entwicklung erkannt. Hypothetische Mechanismen reichen von direkten Einflüssen (beispielsweise erhöhter Nährstoffaufnahme) zu indirekten Mechanismen (beispielsweise Pathogen-substitution). Die Wachstumsverstärkung durch Applikation eines PGPR bezeichnet allgemein die Impfung des Wurzelsystems mit einem lebenden Bakterium und das Erreichen von verbessertem Wachstum durch

das Bakterium produzierte Hormonwirkungen, Siderophore oder durch die Prävention einer Krankheit durch Antibiotikumproduktion oder Konkurrenz. In allen obigen Fällen wird das Ergebnis durch Wurzelbesiedelung, manchmal durch die Applikation von Samenbeschichtungen bewirkt. Es gibt beschränkte Informationen, die vorschlagen, dass einige PGPR-Stämme direkte Wachstums promotoren sein können, die Wurzelverlängerung unter gnotobiotischen Bedingungen verstärken (Anderson et al., "Responses of Bean to Root Colonization With *Pseudomonas putida* in a Hydroponic System", *Phytopathology* 75: 992–95 (1985), Lifshitz et al., "Growth Promotion of Canola (rapeseed) Seedlings by a Strain of *Pseudomonas putida* Under Gnotobiotic Conditions", *Can. J. Microbiol.* 33: 390–95 (1987), Young et al., "PGPR: Is There Relationship Between Plant Growth Regulators and the Stimulation of Plant Growth or Biological Activity?", *Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects*, Second International Workshop on Plant Growth-promoting Rhizobacteria, S. 182–86 (1991), Loper et al., "Influence of Bacterial Sources of Indole-3-Acetic Acid on Root Elongation of Sugar Beet", *Phytopathology* 76: 386–89 (1986), und Müller et al., "Hormonal Interactions in the Rhizosphere of Maize (*Zea mays* L.) and Their Effect on Plant Development", *Z. Pflanzenernährung Bodenkunde* 152: 247–54 (1989); jedoch wurde die Produktion von Pflanzenwachstumsregulatoren als der diese Wirkungen vermittelnde Mechanismus vorgeschlagen. Viele Bakterien produzieren verschiedene Pflanzenwachstumsregulatoren *in vitro* (Atzorn et al., "Production of Gibberellins and Indole-3-Acetic Acid by *Rhizobium phaseoli* in Relation to Nodulation of *Phaseolus vulgaris* Roots", *Planta* 175: 532–38 (1988) und M. E. Brown, "Plant Growth Substances Produced by MicroOrganism of Solid and Rhizosphere", *J. Appl. Bact.* 35: 443–51 (1972)) oder Antibiotika (Gardner et al., "Growth Promotion and Inhibition by Antibiotic-Producing Fluorescent *Pseudomonads* on Citrus Roots", *Plant Soil* 77: 103–13 (1984)). Eine Siderophorproduktion ist ein weiterer Mechanismus, der für einige PGPR-Stämme vorgeschlagen wurde (Ahl et al., "Iron Bound-Siderophores, Cyanic Acid, and Antibiotics Involved in Suppression of *Thievaliopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* Strain", *J. Phytopathol.* 116: 121–34 (1986), Kloepper et al., "Enhanced Plant Growth by Siderophores Produced by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria", *Nature* 286: 885–86 (1980), und Kloepper et al., "Pseudomonas siderophores: A Mechanism Explaining Disease-Suppressive Soils", *Curr. Microbiol.* 4: 317–20 (1980)). Die Besiedelung von Wurzeloberflächen und daher die direkte Konkurrenz mit pathogenen Bakterien auf den Oberflächen ist ein weiterer Wirkmechanismus (Kloepper et al., "Relationship of *in vitro* Antibiosis of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Plant Growth and the Displacement of Root Microflora", *Phytopathology* 71: 1020–24 (1981), Weller, et al., "Increased Growth of Wheat by Seed Treatments With Fluorescent *Pseudomonads*, and Implications of Pythium Control", *Can. J. Microbiol.* 8: 328–34 (1986), und Suslow et al., "Rhizobacteria of Sugar Beets: Effects of Seed Application and Root Colonization on Yield", *Phytopathology* 72: 199–206 (1982)). Untersuchungen an Canola (Rübsamen) zeigten, dass PGPR Pflanzenwachstumsparameter, die Ausbeuten, Sprießen und Robustheit des Sämlings, Pflanzenwachstum in der frühen Saison (Zahl der Blätter und Länge des Haupttriebs) und Blattfläche umfassen, erhöhte (Kloepper et al., "Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Canola (rapeseed)", *Plant Disease* 72: 42–46 (1988)). Untersuchungen mit Kartoffel zeigten größere Ausbeuten, wenn *Pseudomonas*-Stämme auf Saatkartoffeln appliziert wurden (Burr et al., "Increased Potato Yields by Treatment of Seed Pieces With Specific Strains of *Pseudomonas fluorescens* und *P. putida*", *Phytopathology* 68: 1377–83 (1978), Kloepper et al., "Effect of Seed Piece Inoculation With Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Populations of *Erwinia carotovora* on Potato Roots and in *Phytopathology* 73: 217–19 (1983), Geels et al., "Reduction of Yield Depressions in High Frequency Potato Cropping Soil After Seed Tuber Treatments With Antagonistic Fluorescent *Pseudomonas* spp.", *Phytopathol. Z.* 108: 207–38 (1983), Howie et al., "Rhizobacteria: Influence of Cultivar and Soil Type on Plant Growth and Yield of Potato", *Soil Biol. Biochem.* 15: 127–32 (1983), und Vrany et al., "Growth and Yield of Potato Plants Inoculated With Rhizosphere Bacteria", *Folia Microbiol.* 29: 248–53 (1984)). Die Zunahme der Ausbeute beruhte offensichtlich auf den kompetitiven Wirkungen der PGPR unter Eliminierung pathogener Bakterien auf der Saatkralle, möglicherweise durch Antibiose (Kloepper et al., "Effect of Seed Piece Inoculation with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Populations on *Erwinia carotovora* on Potato Roots and in Daughter Tubers", *Phytopathology* 73: 217–19 (1983), Kloepper et al., "Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield", *Phytopathology* 70: 1078–82 (1980), Kloepper et al., "Emergence-Promoting Rhizobacteria: Description and Implications for Agriculture," S. 155–164, Iron, Siderophores, and Plant Disease, T. R. Swinburne, Hrsg. Plenum, New York (1986), und Kloepper et al., "Relationship of *in vitro* Antibiosis of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Plant Growth and the Displacement of Root Microflora", *Phytopathology* 71: 1020–24 (1981)). In mehreren Untersuchungen wurde der Pflanzenaustrieb unter Verwendung von PGPR verbessert (Tipping et al., "Development of Emergence-Promoting Rhizobacteria for Supersweet Corn," *Phytopathology* 76: 938–41 (1990) (Zusammenfassung) und Kloepper et al., "Emergence-Promoting Rhizobacteria: Description and Implications for Agriculture", S. 155–164, Iron, Siderophores, and Plant Disease, T. R. Swinburne, Hrsg. Plenum, New York (1986)). Zahlreiche andere Untersuchungen zeigten verbesserte Pflanzengesundheit bei einer Behandlung mit Rhizobakterien aufgrund biologischer Kontrolle von Pflanzenpathogenen (B. Schippers, "Biological Control of Pathogens With Rhizobacteria", *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 318: 283–93 (1988), Schroth et al., "Disease-Suppressive Soil and Root-Colonizing Bacteria", *Science* 216: 1376–81 (1982), Stutz et al., "Natural-

ly Occurring Fluorescent Pseudomonads Involved in Suppression of Black Root Rot of Tobacco", Phytopathology 76: 181–85 (1986), und D. M. Weller, "Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere With Bacteria", Annu. Rev. Phytopathol. 26: 379–407 (1988)).

[0010] Es wurde ermittelt, dass die pathogeninduzierte Immunisierung einer Pflanze das Wachstum fördert. Die externe Injektion von *Peronospora tabacina* in Tabakxylem milderte nicht nur eine verkümmerte Entwicklung, sondern förderte auch Wachstum und Entwicklung. Die immunisierten Tabakpflanzen waren sowohl in Treibhaus- als auch Feldexperimenten etwa 40% größer, sie zeigten eine 40%ige Zunahme des Trockengewichts, eine 30-%ige Zunahme des Frischgewichts und 4–6 mehr Blätter als Kontrollpflanzen (S. Tuzun, et al., "The Effect of Stem Injection with *Peronospora tabacina* and Metalaxyl Treatment on Growth of Tobacco and Protection Against Blue Mould in the Field", Phytopathology, 74: 804 (1984)). Diese Pflanzen blühten etwa 2–3 Wochen früher als Kontrollpflanzen (S. Tuzun et al., "Movement of a Factor in Tobacco Infected with *Peronospora tabacina* Adam which Systemically Protects Against Blue Mould", Physiological Plant Pathology, 26: 321–30 (1985)).

[0011] Die vorliegende Erfindung ist auf eine Verbesserung gegenüber früheren Pflanzenwachstumsverstärkungsverfahren gerichtet.

Zusammenfassung der Erfindung

[0012] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen. Dieses Verfahren umfasst die Applikation eines Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in einer nicht-infektiösen Form auf Pflanzen oder Pflanzensamen unter Bedingungen, die den Pflanzen oder aus dem Pflanzensamen gewachsenen Pflanzen verstärktes Wachstum verleihen.

[0013] Als eine Alternative zur Applikation eines Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels auf Pflanzen oder Pflanzensamen, um der Pflanze oder aus den Samen gewachsenen Pflanzen verstärktes Wachstum zu verleihen, können transgene Pflanzen oder Pflanzensamen verwendet werden. Bei der Verwendung transgener Pflanzen umfasst dies die Bereitstellung einer transgenen Pflanze, die mit einem DNA-Molekül mit Codierung für eine Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert ist und das Wachsenlassen der Pflanze unter Bedingungen, die bewirken, dass das DNA-Molekül das Wachstum verstärken kann. Alternativ kann ein transgener Pflanzensamen, der mit einem DNA-Molekül mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert ist, bereitgestellt und in Erde gepflanzt werden. Die Pflanze wird dann aus dem gepflanzten Samen unter Bedingungen, die bewirken, dass das DNA-Molekül das Wachstum verstärken kann, gezüchtet.

[0014] Die vorliegende Erfindung ist auf das Bewirken jeder Form einer Pflanzenwachstumsverstärkung oder -förderung gerichtet. Dies kann frühzeitig, wenn das Pflanzenwachstum aus Samen beginnt, oder später im Leben einer Pflanze erfolgen. Beispielsweise umfasst Pflanzenwachstum gemäß der vorliegenden Erfindung eine größere Ausbeute, erhöhte Menge an produzierten Samen, einen erhöhten Prozentsatz an gekeimten Samen, eine erhöhte Pflanzengröße, größere Biomasse, zahlreichere und größere Frucht, frühere Fruchtfärbung und frühere Frucht- und Pflanzenreifung. Infolgedessen bietet die vorliegende Erfindung Züchtern signifikanten wirtschaftlichen Nutzen. Beispielsweise ermöglicht eine frühzeitige Keimung und frühe Reifung das Züchten von Feldfrüchten in Gebieten, in denen kurze Wachstumsperioden sonst deren Zucht an diesem Ort ausschließen. Ein erhöhter Prozentsatz der Samenkeimung führt zu verbesserten Feldfrüchternten und einer effizienteren Samenverwendung. Größere Ausbeute, größere Größe und höhere Biomassenproduktion ermöglichen die Gewinnung eines größeren Einkommens durch ein gegebenes Stück Land. Es ist daher offensichtlich, dass die vorliegende Erfindung einen signifikanten Fortschritt der landwirtschaftlichen Effizienz bildet.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0015] [Fig. 1](#) ist eine Karte eines Plasmidvektors pCPP2139, der das Gen eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora* enthält.

[0016] [Fig. 2](#) ist eine Karte des Plasmidvektors pCPP50, der das Gen des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora* nicht enthält, jedoch ansonsten gleich dem in [Fig. 1](#) gezeigten Plasmidvektor pCPP2139 ist. Siehe Masui et al., Bio/Technology 2: 81–85 (1984), das hierdurch als Bezug aufgenommen ist.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0017] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen. Dieses Verfahren umfasst die Applikation eines Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in einer nicht-infektiösen Form auf die Gesamtheit oder einen Teil einer Pflanze oder eines Pflanzensamens unter Bedingungen, die der Pflanze oder einer aus dem Pflanzensamen gewachsenen Pflanze verstärktes Wachstum verleihen. Alternativ können Pflanzen auf diese Weise behandelt werden, um Samen zu produzieren, die, wenn sie gepflanzt werden, Nachkommenpflanzen verstärktes Wachstum verleihen.

[0018] Als Alternative zur Applikation eines Polypeptids oder Proteins eine eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels auf Pflanzen oder Pflanzensamen, um den Pflanzen oder aus den Samen gewachsenen Pflanzen verstärktes Wachstum zu verleihen, können transgene Pflanzen oder Pflanzensamen verwendet werden. Wenn transgene Pflanzen verwendet werden, umfasst dies das Bereitstellen einer transgenen Pflanze, die mit einem DNA-Molekül mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert ist, und das Wachsenlassen der Pflanze unter Bedingungen, die bewirken, dass das DNA-Molekül das Wachstum verstärken kann. Alternativ kann eine transgene Pflanze, die mit einem DNA-Molekül mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert ist, bereitgestellt und in Erde gepflanzt werden. Eine Pflanze wird dann aus dem Pflanzensamen unter Bedingungen, die bewirken, dass das DNA-Molekül das Wachstum verstärken kann, gezüchtet.

[0019] Das in der vorliegenden Erfindung verwendete Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels kann Polypeptiden oder Proteinen eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels, die von einer breiten Vielzahl von Pilz- und Bakterienpathogenen abgeleitet sind, entsprechen. Derartige Polypeptide oder Proteine sind zur Auslösung von lokaler Nekrose in mit dem auslösenden Mittel in Kontakt gebrachtem Pflanzengewebe fähig.

[0020] Beispiele für geeignete Bakterienquellen von auslösenden Polypeptid- oder Proteinmitteln umfassen *Erwinia*- *Pseudomonas*- und *Xanthomonas*-Arten (beispielsweise die folgenden Bakterien: *Erwinia amylovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas solancarum*, *Xanthomonas campestris* und Gemische derselben).

[0021] Ein Beispiel für eine Pilzquelle eines Proteins oder Polypeptids eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels ist *Phytophthora*. Spezielle Arten von *Phytophthora* umfassen *Phytophthora pythium*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora megasperma* und *Phytophthora citrophthora*.

[0022] Die Ausführungsform der vorliegenden Erfindung, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels auf die Pflanze oder den Pflanzensamen appliziert wird, kann auf eine Zahl von Wegen durchgeführt werden, die umfassen: 1) die Applikation eines isolierten Polypeptid oder Proteins eines auslösenden Mittels, 2) die Applikation von Bakterien, die keine Krankheit verursachen und mit Genen mit Codierung für eine hypersensible Reaktion auslösendes Mittel transformiert sind, und 3) die Applikation von Bakterien, die bei einigen Pflanzenarten (jedoch nicht bei denen, auf die sie appliziert werden) Krankheit verursachen und von Natur aus ein Gen mit Codierung für das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel enthalten. Ferner können Samen gemäß der vorliegenden Erfindung aus Pflanzen, die mit einem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel gemäß der vorliegenden Erfindung behandelten wurden, gewonnen werden.

[0023] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung können die Polypeptide oder Proteine eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels aus deren entsprechenden Organismen isoliert und auf Pflanzen oder Pflanzensamen appliziert werden. Derartige Isolierungsverfahren sind bekannt, beispielsweise bei M. Arlat, F. Van Gijsegem, J. C. Huet, J. C. Pemollet, und C. A. Boucher, "PopAI, a Protein which Induces a Hypersensitive-like Response in Specific Petunia Genotypes is Secreted via the Hrp Pathway of *Pseudomonas solanacearum*", EMBO J. 13: 543–553 (1994); He, S. Y., H. C. Huang, und A. Collmer, "*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Harpin_{Pss}: a Protein that is Secreted via the Hrp Pathway and Elicits the Hypersensitive Response in Plants", Cell 73: 1255–1266 (1993); und Wei, Z.-M., R. J. Laby, C. H. Zumoff, D. W. Bauer, S.-Y. He, A. Collmer, and S. V. Beer, "Harpin Elicitor of the Hypersensitive Response Produced by the Plant Pathogen *Erwinia amylovora*", Science 257: 85–88 (1992), die hier als Bezug aufgenommen sind, beschrieben. Siehe auch die anhängige US-Patent-Anmeldung des Aktenzeichens 08/200024 und 08/062024, die hier als Bezug aufgenommen sind. Vorzugsweise werden jedoch die isolierten Polypeptide oder Proteine eines eine hypersensible

Reaktion auslösenden Mittels gemäß der vorliegenden Erfindung rekombinant produziert und gereinigt, wie im Folgenden beschrieben ist.

[0024] In anderen Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung kann das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels gemäß der vorliegenden Erfindung auf Pflanzen oder Pflanzensamen appliziert werden, indem Bakterien appliziert werden, die Gene mit Codierung für das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels enthalten. Derartige Bakterien müssen zur Sekretion oder zum Export des Polypeptids oder Proteins derart fähig sein, dass das auslösende Mittel mit Pflanzen- oder Pflanzensamenzellen in Kontakt gelangen kann. In diesen Ausführungsformen wird das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels durch die Bakterien in planta oder auf Samen oder unmittelbar vor der Einführung der Bakterien in die Pflanzen oder Pflanzensamen produziert.

[0025] In einer Ausführungsform des Bakterienapplikationsmodus der vorliegenden Erfindung bewirken die Bakterien keine Krankheit und sie wurden (beispielsweise rekombinant) mit Genen mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert. Beispielsweise kann *E. coli*, das in Pflanzen keine hypersensible Reaktion auslöst, mit Genen mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert und dann auf Pflanzen appliziert werden. Andere Bakterienarten als *E. coli* können ebenfalls in dieser Ausführungsform der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0026] In einer anderen Ausführungsform des Bakterienapplikationsmodus der vorliegenden Erfindung bewirken die Bakterien eine Krankheit und sie enthalten von Natur aus ein Gen mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels. Beispiele für derartige Bakterien sind oben angegeben. In dieser Ausführungsform werden diese Bakterien jedoch auf Pflanzen oder deren Samen appliziert, die für die durch die Bakterien übertragene Krankheit nicht empfindlich sind. Beispielsweise verursacht *Erwinia amylovora* bei Äpfeln oder Birnen eine Krankheit, jedoch nicht bei Tomaten. Jedoch lösen derartige Bakterien bei Tomaten eine hypersensible Reaktion aus. Daher kann gemäß dieser Ausführungsform der vorliegenden Erfindung *Erwinia amylovora* auf Tomatenpflanzen oder -samen appliziert werden, um das Wachstum zu verstärken, ohne in dieser Art eine Krankheit zu verursachen.

[0027] Das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia chrysanthemi* besitzt die folgende, SEQ ID No: 1 entsprechende Aminosäuresequenz:

Met Gln Ile Thr Ile Lys Ala His Ile Gly Gly Asp Leu Gly Val Ser
 1 5 10 15

Gly Leu Gly Ala Gln Gly Leu Lys Gly Leu Asn Ser Ala Ala Ser Ser
 20 25 30

Leu Gly Ser Ser Val Asp Lys Leu Ser Ser Thr Ile Asp Lys Leu Thr
 35 40 45

Ser Ala Leu Thr Ser Met Met Phe Gly Gly Ala Leu Ala Gln Gly Leu
 50 55 60

Gly Ala Ser Ser Lys Gly Leu Gly Met Ser Asn Gln Leu Gly Gln Ser
 65 70 75 80

Phe Gly Asn Gly Ala Gln Gly Ala Ser Asn Leu Leu Ser Val Pro Lys
 85 90 95

Ser Gly Gly Asp Ala Leu Ser Lys Met Phe Asp Lys Ala Leu Asp Asp
 100 105 110

Leu Leu Gly His Asp Thr Val Thr Lys Leu Thr Asn Gln Ser Asn Gln
 115 120 125

Leu Ala Asn Ser Met Leu Asn Ala Ser Gln Met Thr Gln Gly Asn Met
 130 135 140

Asn Ala Phe Gly Ser Gly Val Asn Asn Ala Leu Ser Ser Ile Leu Gly
 145 150 155 160

Asn Gly Leu Gly Gln Ser Met Ser Gly Phe Ser Gln Pro Ser Leu Gly
 165 170 175

Ala Gly Gly Leu Gln Gly Leu Ser Gly Ala Gly Ala Phe Asn Gln Leu
 180 185 190

Gly Asn Ala Ile Gly Met Gly Val Gly Gln Asn Ala Ala Leu Ser Ala
 195 200 205

Leu Ser Asn Val Ser Thr His Val Asp Gly Asn Asn Arg His Phe Val
 210 215 220

Asp Lys Glu Asp Arg Gly Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met Asp
 225 230 235 240

Gln Tyr Pro Glu Ile Phe Gly Lys Pro Glu Tyr Gln Lys Asp Gly Trp
 245 250 255

Ser Ser Pro Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser Lys
 260 265 270

Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Gly Ala Ser Met Asp Lys Phe Arg Gln
 275 280 285

Ala Met Gly Met Ile Lys Ser Ala Val Ala Gly Asp Thr Gly Asn Thr
 290 295 300

Asn Leu Asn Leu Arg Gly Ala Gly Gly Ala Ser Leu Gly Ile Asp Ala
 305 310 315 320

Ala Val Val Gly Asp Lys Ile Ala Asn Met Ser Leu Gly Lys Leu Ala
 325 330 335

Asn Ala

[0028] Dieses Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels weist ein Molekulargewicht von 34 kDa auf, ist hitzestabil, weist einen Glycinegehalt von größer als 16% auf und enthält im Wesentlichen kein Cystein. Das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Erwinia chrysanthemi wird durch ein DNA-Molekül codiert, das die folgende, SEQ ID No: 2 entsprechende Nucleotidsequenz besitzt:

DE 698 30 734 T2 2006.05.18

CGATTTTACCGGGTGAACG TGCTATGACC GACAGCATCA CGGTATTGCA CACCGTTACG	60
GCCTTTATGG CCGCGATGAA CCGGCATCAG GCGGCCGCGCT GGTCGCCGCA ATCCGGCGTC	120
GATCTGGTAT TTCAGTTGG GGACACCGGG CGTGAACCTCA TGATGCAGAT TCAGCCGGGG	180
CAGCAATATC CCGGCATGTT GCGCACGCTG CTCGCTCGTC GTTATCAGCA GGCGGCAGAG	240
TGCGATGGCT GCCATCTGTG CCTGAACGGC AGCGATGTAT TGATCCTCTG GTGGCCGCTG	300
CCGTCGGATC CCGGCAGTTA TCCGCAGGTG ATCGAACGTT TGTTGAACG GGCGGAAATG	360
ACGTTGCCGT CGCTATCCAT AGCACCGACG GCGCGTCCGC AGACAGGGAA CGGACGCGCC	420
CGATCATTAA GATAAAGGCG GCTTTTTTA TTGCAAAACG GTAACGGTGA GGAACCGTTT	480
CACCGTCGGC GTCACTCAGT AACAAAGTATC CATCATGATG CCTACATCGG GATCGCGTG	540
GGCATCCGTT GCAGATACTT TTGCGAACAC CTGACATGAA TGAGGAAACG AAATTATGCA	600
AATTACGATC AAAGCGCACA TCGGCAGGTGA TTTGGCGTC TCCGGTCTGG GGCTGGGTGC	660
TCAGGGACTG AAAGGACTGA ATTCCGCGGC TTCATCGCTG GGTTCCAGCG TGGATAAACT	720
GAGCAGCACC ATCGATAAGT TGACCTCCGC GCTGACTTCG ATGATGTTTG GCGGCAGCGCT	780
GGCGCAGGGG CTGGCGCCA GCTCGAAGGG GCTGGGATG AGCAATCAAC TGGGCCAGTC	840
TTTCGGCAAT GGCGCGCAGG GTGCGAGCAA CCTGCTATCC GTACCGAAAT CCGGCGCGA	900
TGCGTTGTCA AAAATGTTTG ATAAAGCGCT GGACGATCTG CTGGGTCTG ACACCGTGAC	960
CAAGCTGACT AACCAAGAGCA ACCAACTGGC TAATTCAATG CTGAACGCCA GCCAGATGAC	1020
CCAGGGTAAT ATGAATGCGT TCGGCAGCGG TGTGAACAAAC GCACTGTCGT CCATTCTCGG	1080
CAACGGTCTC GGCCAGTCGA TGAGTGGCTT CTCTCAGCCT TCTCTGGGGG CAGGCGGCTT	1140
GCAGGGCCTG ACCGGCGCGG GTGCATTCAA CCAGTTGGGT AATGCCATCG GCATGGCGT	1200

GGGGCAGAAT GCTGCGCTGA GTGCCTTGAG TAACGTCAGC ACCCACGTAG ACGGTAACAA	1260
CCGCCACTTT GTAGATAAAG AAGATCGCGG CATGGCGAA GAGATCGGCC AGTTTATGGA	1320
TCAGTATCCG GAAATATTGAG GTAAACCGGA ATACCAGAAA GATGGCTGGA GTTCGCCGAA	1380
GACGGACGAC AAATCCTGGG CTAAGCGCT GAGTAAACCG GATGATGACG GTATGACCGG	1440
CGCCAGCATG GACAAATTCC GTCAGGGAT GGGTATGATC AAAAGCGCGG TGGCGGGTGA	1500
TACCGGCAAT ACCAACCTGA ACCTGCGTGG CGCGGGCGGT GCATCGCTGG GTATCGATGC	1560
GGCTGTCGTC GGCGATAAAA TAGCCAACAT GTCGCTGGGT AAGCTGGCCA ACGCCTGATA	1620
ATCTGTGCTG GCCTGATAAA GCGGAAACGA AAAAAGAGAC GGGGAAGCCT GTCTCTTTC	1680
TTATTATGCG GTTTATGCGG TTACCTGGAC CGGTTAACAT TCGTCATCGA TCTGGTACAA	1740
ACGCACATTT TCCC GTTCAT TCGCGTCGTT ACGCGCCACA ATCGCGATGG CATCTTCCTC	1800
GTCGCTCAGA TTGCGCGGCT GATGGGGAAC GCCGGGTGGA ATATAGAGAA ACTCGCCGGC	1860
CAGATGGAGA CACGTCTGCG ATAAATCTGT GCCGTAACGT GTTTCTATCC GCCCCTTAG	1920
CAGATAGATT GCGGTTTCGT AATCAACATG GTAATGCGGT TCCGCTGTG CGCCGGCCGG	1980
GATCACCACA ATATTCAAG AAACCTGTCT TGCACCTACC GTATCGCGG AGATACCGAC	2040
AAAATAGGGC AGTTTTTGCG TGGTATCCGT GGGGTGTTCC GGCGTGACAA TCTTGAGTTG	2100
GTTCGTCATC ATCTTTCTCC ATCTGGCGA CCTGATCGGT T	2141

[0029] Das von Erwinia amylovora stammende Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels besitzt die folgende, SEQ ID No: 3 entsprechende Aminosäuresequenz:

Met Ser Leu Asn Thr Ser Gly Leu Gly Ala Ser Thr Met Gln Ile Ser			
1	5	10	15
Ile Gly Gly Ala Gly Gly Asn Asn Gly Leu Leu Gly Thr Ser Arg Gln			
20	25	30	
Asn Ala Gly Leu Gly Gly Asn Ser Ala Leu Gly Leu Gly Gly Asn			
35	40	45	
Gln Asn Asp Thr Val Asn Gln Leu Ala Gly Leu Leu Thr Gly Met Met			
50	55	60	
Met Met Met Ser Met Met Gly Gly Gly Leu Met Gly Gly Gly Leu			
65	70	75	80
Gly Gly Gly Leu Gly Asn Gly Leu Gly Gly Ser Gly Gly Leu Gly Glu			
85	90	95	
Gly Leu Ser Asn Ala Leu Asn Asp Met Leu Gly Gly Ser Leu Asn Thr			
100	105	110	

Leu Gly Ser Lys Gly Gly Asn Asn Thr Thr Ser Thr Thr Asn Ser Pro
 115 120 125
 Leu Asp Gln Ala Leu Gly Ile Asn Ser Thr Ser Gln Asn Asp Asp Ser
 130 135 140
 Thr Ser Gly Thr Asp Ser Thr Ser Asp Ser Ser Asp Pro Met Gln Gln
 145 150 155 160
 Leu Leu Lys Met Phe Ser Glu Ile Met Gln Ser Leu Phe Gly Asp Gly
 165 170 175
 Gln Asp Gly Thr Gln Gly Ser Ser Ser Gly Gly Lys Gln Pro Thr Glu
 180 185 190
 Gly Glu Gln Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Val Thr Asp Ala Leu Ser Gly
 195 200 205
 Leu Met Gly Asn Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly
 210 215 220
 Gly Gly Gln Gly Gly Asn Ala Gly Thr Gly Leu Asp Gly Ser Ser Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Lys Gly Leu Gln Asn Leu Ser Gly Pro Val Asp Tyr Gln Gln
 245 250 255
 Leu Gly Asn Ala Val Gly Thr Ile Gly Met Lys Ala Gly Ile Gln
 260 265 270
 Ala Leu Asn Asp Ile Gly Thr His Arg His Ser Ser Thr Arg Ser Phe
 275 280 285
 Val Asn Lys Gly Asp Arg Ala Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met
 290 295 300
 Asp Gln Tyr Pro Glu Val Phe Gly Lys Pro Gln Tyr Gln Lys Gly Pro
 305 310 315 320
 Gly Gln Glu Val Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser
 325 330 335
 Lys Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Pro Ala Ser Met Glu Gln Phe Asn
 340 345 350
 Lys Ala Lys Gly Met Ile Lys Arg Pro Met Ala Gly Asp Thr Gly Asn
 355 360 365
 Gly Asn Leu Gln Ala Arg Gly Ala Gly Ser Ser Leu Gly Ile Asp
 370 375 380
 Ala Met Met Ala Gly Asp Ala Ile Asn Asn Met Ala Leu Gly Lys Leu
 385 390 395 400
 Gly Ala Ala

[0030] Dieses Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels weist ein Molekulargewicht von etwa 39 kDa auf, besitzt einen pI-Wert von etwa 4,3 und ist mindestens 10 min bei 100 °C hitzestabil. Dieses Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels weist im Wesentlichen kein Cystein auf. Das von *Erwinia amylovora* abgeleitete Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels ist vollständiger bei Z.-M. Wei, R. J. Laby, C. H. Zumoff, D. W. Bauer, S.-Y. He, A. Collmer und S. V. Beer, "Harpin, Elicitor of the Hypersensitive Response Produced by the Plant Pathogen *Erwinia amylovora*", Science 257: 85–88 (1992), das hierdurch als Bezug aufgenommen ist, beschrieben. Das DNA-Molekül mit Codierung für dieses Polypeptid oder Protein besitzt die folgende, SEQ ID No: 4 entsprechende Nucleotidsequenz:

AAGCTTCGGC ATGGCACGTT TGACCGTTGG GTCGGCAGGG TACGTTTCAA TTATTCTAA	60
GAGGAATACG TTATGAGTCT GAATACAAGT GGGCTGGGAG CGTCAACGAT GCAAATTCT	120
ATCGGCGGTG CGGGCGGAAA TAACGGGTTG CTGGGTACCA GTCGCCAGAA TGCTGGGTTG	180
GGTGGCAATT CTGCACTGGG GCTGGCGGC GGTAATCAAATGATACCGT CAATCAGCTG	240
GCTGGCTTAC TCACCGGCAT GATGATGATG ATGAGCATGA TGGCGGTGG TGGGCTGATG	300
GGCGGTGGCT TAGGCGGTGG CTTAGGTAAT GGCTTGGGTG GCTCAGGTGG CCTGGCGAA	360
GGACTGTCGA ACGCGCTGAA CGATATGTTA GGCGGTTGC TGAAACACGCT GGGCTCGAAA	420
GGCGGCAACA ATACCACTTC AACAAACAAAT TCCCCGCTGG ACCAGGCGCT GGGTATTAAC	480
TCAACGTCCC AAAACGACGA TTCCACCTCC GGCACAGATT CCACCTCAGA CTCCAGCGAC	540
CCGATGCAGC AGCTGCTGAA GATGTTCAAGC GAGATAATGC AAAGCCTGTT TGGTGATGGG	600
CAAGATGGCA CCCAGGGCAG TTCCCTCTGGG GGCAAGCAGC CGACCGAAGG CGAGCAGAAC	660
GCCTATAAAA AAGGAGTCAC TGATGCGCTG TCGGGCCTGA TGGGTAATGG TCTGAGCCAG	720
CTCCTTGGCA ACGGGGACT GGGAGGTGGT CAGGGCGTA ATGCTGGCAC GGGTCTTGAC	780
GGTTCGTCGC TGGCGGCAA AGGGCTGCAA AACCTGAGCG GGCGGTGGA CTACCAGCAG	840
TTAGGTAACG CCGTGGGTAC CGGTATCGGT ATGAAAGCGG GCATTCAGGC GCTGAATGAT	900
ATCGGTACGC ACAGGCACAG TTCAACCCGT TCTTCGTCA ATAAAGGCGA TCGGGCGATG	960
GCAGAAGGAAA TCGGTCAAGTT CATGGACCAG TATCCTGAGG TGTTTGGCAA GCCGCAGTAC	1020
CAGAAAGGCC CGGGTCAGGA GGTGAAAACC GATGACAAAT CATGGCAGAA AGCACTGAGC	1080
AAGCCAGATG ACCACGGAAT GACACCAGCC AGTATGGAGC AGTTCAACAA AGCCAAGGGC	1140
ATGATCAAAA GGCCCATGGC GGGTGATACC GGCAACGGCA ACCTGCAGGC ACAGCGGTGCC	1200
GGTGGTTCTT CGCTGGGTAT TGATGCCATG ATGGCGGTG ATGCCATTAA CAATATGGCA	1260
CTTGGCAAGC TGGGCGCGGC TTAAGCTT	1288

[0031] Das von Pseudomonas syringae abgeleitete Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels besitzt die folgende, SEQ ID No: 5 entsprechende Aminosäuresequenz:

Met	Gln	Ser	Leu	Ser	Leu	Asn	Ser	Ser	Ser	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Met
1			5			10					15				
Ala	Leu	Val	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Thr	Thr	Gly	Ser	Thr	Ser
	20			25						30					
Ser	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Val	Val	Val	Lys	Leu	Ala	Glu	Glu	Leu	Met
	35				40						45				
Arg	Asn	Gly	Gln	Leu	Asp	Asp	Ser	Ser	Pro	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Ala
	50				55					60					
Lys	Ser	Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Lys	Ala	Gly	Gly	Ile	Glu	Asp	Val	
	65				70				75			80			
Ile	Ala	Ala	Leu	Asp	Lys	Leu	Ile	His	Glu	Lys	Leu	Gly	Asp	Asn	Phe
	85					90						95			
Gly	Ala	Ser	Ala	Asp	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Gly	Gln	Gln	Asp	Leu	Met
	100					105					110				
Thr	Gln	Val	Leu	Asn	Gly	Leu	Ala	Lys	Ser	Met	Leu	Asp	Asp	Leu	Leu
	115					120					125				
Thr	Lys	Gln	Asp	Gly	Gly	Thr	Ser	Phe	Ser	Glu	Asp	Asp	Met	Pro	Met
	130					135					140				
Leu	Asn	Lys	Ile	Ala	Gln	Phe	Met	Asp	Asp	Asn	Pro	Ala	Gln	Phe	Pro
	145				150					155			160		
Lys	Pro	Asp	Ser	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Glu	Leu	Lys	Glu	Asp	Asn	Phe
	165					170					175				
Leu	Asp	Gly	Asp	Glu	Thr	Ala	Ala	Phe	Arg	Ser	Ala	Leu	Asp	Ile	Ile
	180					185					190				
Gly	Gln	Gln	Leu	Gly	Asn	Gln	Gln	Ser	Asp	Ala	Gly	Ser	Leu	Ala	Gly
	195					200					205				
Thr	Gly	Gly	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Phe	Ser	Asn	Asn	Ser	Ser
	210					215					220				
Val	Met	Gly	Asp	Pro	Leu	Ile	Asp	Ala	Asn	Thr	Gly	Pro	Gly	Asp	Ser
	225				230					235			240		
Gly	Asn	Thr	Arg	Gly	Glu	Ala	Gly	Gln	Leu	Ile	Gly	Glu	Leu	Ile	Asp
	245					250					255				
Arg	Gly	Leu	Gln	Ser	Val	Leu	Ala	Gly	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Val	
	260					265					270				
Asn	Thr	Pro	Gln	Thr	Gly	Thr	Ser	Ala	Asn	Gly	Gly	Gln	Ser	Ala	Gln
	275					280					285				
Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Leu	Lys	Gly	Leu	Glu	Ala
	290				295						300				
Thr	Leu	Lys	Asp	Ala	Gly	Gln	Thr	Gly	Thr	Asp	Val	Gln	Ser	Ser	Ala
	305					310				315			320		
Ala	Gln	Ile	Ala	Thr	Leu	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Leu	Gln	Gly	Thr	Arg
	325					330						335			
Asn	Gln	Ala	Ala	Ala											
	340														

[0032] Dieses Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels weist ein Molekulargewicht von 34–35 kDa auf. Es ist reich an Glycin (etwa 13,5%) und es hat einen Mangel an Cystein und Tyrosin. Weitere Informationen über das von *Pseudomonas syringae* abgeleitete, eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel finden sich bei S. Y. He, H. C. Huang und A. Collmer, "Pseudomonas syringae pv. syringae Harpin_{Pss}: a Protein that is Secreted via the Hrp Pathway and Elicits the Hypersensitive Response in Plants", Cell 73: 1255–1266 (1993), das hierdurch als Bezug aufgenommen ist. Das DNA-Molekül mit Codierung für das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel von *Pseudomonas syringae* besitzt die folgende, SEQ ID No: 6 entsprechende Nucleotidsequenz:

ATGCAGAGTC TCAGTCTTAA CAGCAGCTCG CTGCACCC CGGCAATGGC CCTTGTCTG	60
GTACGTCTG AAGCCGAGAC GACTGGCAGT ACGTCGAGCA AGGCCTTCA GGAAGTTGTC	120
GTGAAGCTGG CCGAGGAACG GATGCGCAAT GGTCAACTCG ACGACAGCTC GCCATTGGGA	180
AAACTGTTGG CCAAGTCGAT GGCGCAGAT GGCAAGGCCG CGGGCGGTAT TGAGGATGTC	240
ATCGCTGCGC TGGACAAGCT GATCCATGAA AAGCTCGTG ACAACTTCGG CGCGTCTGCG	300
GACAGCGCCT CGGGTACCGG ACAGCAGGAC CTGATGACTC AGGTGCTCAA TGGCCTGGCC	360
AAGTCGATGC TCGATGATCT TCTGACCAAG CAGGATGGCG GGACAAGCTT CTCCGAAGAC	420
GATATGCCGA TGCTGAACAA GATCGCGCAG TTCATGGATG ACAATCCGC ACAGTTTCCC	480
AAGCCGGACT CGGGCTCCTG GGTGAACGAA CTCAAGGAAG ACAACTTCCT TGATGGCGAC	540
GAAACGGCTG CGTCCCGTTC GGCACTCGAC ATCATTGCC AGCAACTGGG TAATCAGCAG	600
AGTGACGCTG GCAGTCTGGC AGGGACGGGT GGAGGTCTGG GCACCTCGAG CAGTTTTTCC	660
AACAACCTCGT CCGTGATGGG TGATCCGCTG ATCGACGCCA ATACCGGTCC CGGTGACAGC	720
GGCAATACCC GTGGTGAAGC GGGGCAACTG ATCGCGAGC TTATCGACCG TGGCCTGCAA	780
TCGGTATTGG CCCGTGGTGG ACTGGGCACA CCCGTAAACA CCCCCGAGAC CGGTACGTCG	840
<hr/>	
GCAGAATGGCG GACAGTCCGC TCAGGATCTT GATCAGTTGC TGGCGGCTT GCTGCTCAAG	900
GGCCTGGAGG CAACGCTCAA GGATGCCGGG CAAACAGGCA CCGACGTGCA GTCGAGCGCT	960
GCGCAAATCG CCACCTTGCT GGTCAGTACG CTGCTGCAAG GCACCCGCAA TCAGGCTGCA	1020
GCCTGA	1026

[0033] Das von Pseudomonas solanacearum abgeleitete Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels besitzt die folgende, SEQ ID No: 7 entsprechende Aminosäuresequenz:

Met Ser Val Gly Asn Ile Gln Ser Pro Ser Asn Leu Pro Gly Leu Gln
 1 5 10 15

Asn Leu Asn Leu Asn Thr Asn Thr Asn Ser Gln Gln Ser Gly Gln Ser
 20 25 30

Val Gln Asp Leu Ile Lys Gln Val Glu Lys Asp Ile Leu Asn Ile Ile
 35 40 45

Ala Ala Leu Val Gln Lys Ala Ala Gln Ser Ala Gly Gly Asn Thr Gly
 50 55 60

Asn Thr Gly Asn Ala Pro Ala Lys Asp Gly Asn Ala Asn Ala Gly Ala
 65 70 75 80

Asn Asp Pro Ser Lys Asn Asp Pro Ser Lys Ser Gln Ala Pro Gln Ser
 85 90 95

Ala Asn Lys Thr Gly Asn Val Asp Asp Ala Asn Asn Gln Asp Pro Met
 100 105 110

Gln Ala Leu Met Gln Leu Leu Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Lys Ala
 115 120 125

Ala Leu His Met Gln Gln Pro Gly Gly Asn Asp Lys Gly Asn Gly Val
 130 135 140

Gly Gly Ala Asn Gly Ala Lys Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Ala
 145 150 155 160

Glu Ala Leu Gln Glu Ile Glu Gln Ile Leu Ala Gln Leu Gly Gly Gly
 165 170 175

Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Val Gly Gly Ala Gly Gly
 180 185 190

Ala Asp Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Ala Asn Gly Ala
 195 200 205

Asp Gly Gly Asn Gly Val Asn Gly Asn Gln Ala Asn Gly Pro Gln Asn
 210 215 220

Ala Gly Asp Val Asn Gly Ala Asn Gly Ala Asp Asp Gly Ser Glu Asp
 225 230 235 240

Gln Gly Gly Leu Thr Gly Val Leu Gln Lys Leu Met Lys Ile Leu Asn
 245 . 250 255

Ala Leu Val Gln Met Met Gln Gln Gly Gly Leu Gly Gly Asn Gln
 260 265 270

Ala Gln Gly Gly Ser Lys Gly Ala Gly Asn Ala Ser Pro Ala Ser Gly
 275 280 285

Ala Asn Pro Gly Ala Asn Gln Pro Gly Ser Ala Asp Asp Gln Ser Ser
 290 295 300

Gly Gln Asn Asn Leu Gln Ser Gln Ile Met Asp Val Val Lys Glu Val
 305 310 315 320

Val Gln Ile Leu Gln Gln Met Leu Ala Ala Gln Asn Gly Gly Ser Gln
 325 330 335

Gln Ser Thr Ser Thr Gln Pro Met
 340

[0034] Es wird durch ein DNA-Molekül mit der folgenden, SEQ ID No: 8 entsprechenden Nucleotidsequenz codiert:

ATGTCAGTCG GAAACATCCA GAGCCCGTCG AACCTCCGG GTCTGCAGAA CCTGAACCTC	60
AACACCAACA CCAACAGCCA GCAATCGGGC CAGTCCGTGC AAGACCTGAT CAAGCAGGTC	120
GAGAAGGACA TCCTCAACAT CATCGCAGCC CTCGTGCAGA AGGCCGCACA GTCGGCGGGC	180
GGCAACACCG GTAACACCGG CAACGCCCG GCGAAGGACG GCAATGCCAA CGCGGGCGCC	240
AACGACCCGA GCAAGAACGA CCCGAGCAAG AGCCAGGCTC CGCAGTCGGC AAACAAGACC	300
GGCAACGTCG ACGACGCCA CAACCAGGAT CCGATGCAAG CGCTGATGCA GCTGCTGGAA	360
GACCTGGTGA AGCTGCTGAA GGCGGCCCTG CACATGCAGC AGCCCCGGCGG CAATGACAAG	420
GGCAACGGCG TGGCGGTGC CAACGGGCC AAGGGTGCCG GCGGCCAGGG CGGCCTGGCC	480
GAAGCGCTGC AGGAGATCGA GCAGATCCTC GCCCAGCTCG GCGGCCGGCG TGCTGGCGCC	540
GGCGGCCGCG GTGGCGGTGT CGGCGGTGCT GGTGGCGCGG ATGGCGGCTC CGGTGCGGGT	600
GGCGCAGGCG GTGCGAACGG CGCCGACGGC GGCAATGGCG TGAAACGGCAA CCAGGCGAAC	660
GGCCCAGA ACGCAGGCGA TGTCAACCGT GCCAACGGCG CGGATGACGG CAGCGAAGAC	720
CAGGGCGGCC TCACCGGCGT GCTGAAAAG CTGATGAAGA TCCTGAACGC GCTGGTGCAG	780
ATGATGCAGC AAGGCGGCCT CGGCGGCCGC AACCAAGGCAGC AGGGCGGCTC GAAGGGTGC	840
GGCAACGCT CGCCGGCTTC CGGCGCGAAC CGGGCGCGA ACCAGCCCGG TTCGGCGGAT	900
GATCAATCGT CCGGCCAGAA CAATCTGCAA TCCCAGATCA TGGATGTGGT GAAGGAGGTC	960
GTCCAGATCC TGCAGCAGAT GCTGGCGCG CAGAACGGCG GCAGCCAGCA GTCCACCTCG	1020
ACGCAGCCGA TGTAA	1035

[0035] Weitere Informationen im Hinblick auf das von Pseudomonas solanacearum abgeleitete Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels sind bei M. Arlat, F. Van Gijsegem, J. C. Huet, J. C. Pemollet, und C. A. Boucher, "PopAI, a Protein which Induces a Hypersensitive-like Response in Specific Petunia Genotypes is Secreted via the Hrp Pathway of Pseudomonas solanacearum", EMBO J. 13: 543–533 (1994), das hier als Bezug aufgenommen ist, angegeben.

[0036] Das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Xanthomonas campestris, pv. glycines besitzt die folgende, SEQ ID No: 9 entsprechende Aminosäuresequenz:

Thr Leu Ile Glu Leu Met Ile Val Val Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala			
1	5	10	15
Ala Ile Ala Leu Pro Ala Tyr Gln Asp Tyr			
20	25		

[0037] Diese Sequenz ist eine aminoterminale Sequenz mit 26 Resten nur von dem Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Xanthomonas campestris pv. glycines. Es stimmt mit Fimbrienuntereinheitenproteinen, die in anderen Pathovars von Xanthomonas campestris bestimmt wurden, überein.

[0038] Das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Xanthomonas campestris pv. pelargonii ist hitzestabil, proteaseempfindlich und besitzt ein Molekulargewicht von 20 kDa. Es umfasst die folgende, SEQ ID No: 10 entsprechende Aminosäuresequenz:

Ser Ser Gln Gln Ser Pro Ser Ala Gly Ser Glu Gln Gln Leu Asp Gln			
1	5	10	15
Leu Leu Ala Met			
20			

[0039] Die Isolierung eines Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Erwinia carotovora ist bei Cui et al., "The RsmA Mutants of Erwinia carotovora subsp. carotovora Strain Ecc71 Overexpress hrp N_{ECC} and Elicit a Hypersensitive Reaction-like Response in Tobacco Leaves", MPMI, 9 (7): 565–73 (1996), das hierdurch als Bezug aufgenommen ist, beschrieben. Das Polypeptid oder Protein

eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels ist bei Ahmad et al., "Harpin is Not Necessary for the Pathogenicity of *Erwinia stewartii* on Maize", 8th Int'l Cong. Molec. Plant-Microbe Interact., 14.–19. Juli 1996 und Ahmad, et al., "Harpin is Not Necessary for the Pathogenicity of *Erwinia stewartii* on Maize", Ann. Mtg. Am. Phytopath. Soc., July 27–31, 1996, die hierdurch als Bezug aufgenommen sind, gezeigt.

[0040] Polypeptide oder Proteine eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora megasperma* und *Phytophthora citrophthora* sind bei Kaman et al., "Extracellular Protein Elicitors from *Phytophthora*: Most Specificity and Induction of Resistance to Bacterial and Fungal Phytopathogens", "Molec. Plant-Microbe Interact.", 6(1): 15–25 (1993), Ricci et al., "Structure and Activity of Proteins from Pathogenic Fungi *Phytophthora* Eliciting Necrosis and Acquired Resistance in Tobacco", Eur. J. Biochem., 183: 555–63 (1989), Ricci et al., "Differential Production of Parasiticein, and Elicitor of Necrosis and Resistance in Tobacco, by Isolates of *Phytophthora parasitica*", Plant Path. 41: 298–307 (1992), Baillreul et al., "A New Elicitor of the Hypersensitive Response in Tobacco: A Fungal Glycoprotein Elicits Cell Death, Expression of Defence Genes, Production of Salicylic Acid, and Induction of Systemic Acquired Resistance", Plant J., (8)4: 551–60 (1995), und Bonnet et al., "Acquired Resistance Triggered by Elicitors in Tobacco and Other Plants", Eur. J. Plant Path., 102: 181–92 (1996), die hierdurch als Bezug aufgenommen sind, beschrieben.

[0041] Die obigen auslösenden Mittel sind Beispiele. Andere auslösende Mittel können durch Züchten von Pilzen oder Bakterien, die eine hypersensible Reaktion auslösen, unter denen Gene mit Codierung für ein auslösendes Mittel exprimiert werden, identifiziert werden. Zellfreie Präparate von Kulturüberständen können auf Aktivität eines auslösenden Mittels (d. h. lokale Nekrose) durch Verwendung derselben zur Infiltration geeigneter Pflanzengewebe getestet werden.

[0042] Es ist auch möglich, Fragmente der Polypeptide oder Proteine eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels sowie Fragmente von auslösenden Mitteln voller Länge von anderen Pathogenen in den Verfahren der vorliegenden Erfindung zu verwenden.

[0043] Geeignete Fragmente können durch mehrere Mittel produziert werden. Beim ersten werden Subklone des Gens mit Codierung für ein bekanntes Protein eines auslösenden Mittels durch herkömmliche molekulargenetische Manipulation, durch Subklonierung von Genfragmenten produziert. Die Subklone werden dann in vitro oder in vivo in Bakterienzellen exprimiert, wobei ein kleineres Protein oder ein Peptid erhalten werden können, die auf Aktivität als auslösendes Mittel gemäß dem im Folgenden beschriebenen Verfahren getestet werden können.

[0044] Als Alternative können Fragmente eines Proteins eines auslösenden Mittels durch Verdau eines Proteins eines auslösenden Mittels voller Länge mit proteolytischen Enzymen, wie Chymotrypsin oder Staphylococcus-Proteinase A oder Trypsin, produziert werden. Unterschiedliche proteolytische Enzyme spalten Proteine eines auslösenden Mittels gerne an unterschiedlichen Stellen auf der Basis der Aminosäuresequenz des Proteins eines auslösenden Mittels. Einige der Fragmente, die das Ergebnis einer Proteolyse sind, können aktive, resistaenzauslösende Mittel sein.

[0045] In einem weiteren Ansatz können auf der Basis der Kenntnis der Primärstruktur des Proteins Fragmente des Gens des Proteins eines auslösenden Mittels unter Verwendung der PCR-Technik zusammen mit spezifischen Primersätzen, die so gewählt sind, dass sie für spezielle Teile des Proteins stehen, synthetisiert werden. Diese werden dann in einen passenden Vektor zur Erhöhung und Expression eines gestutzten Peptids oder Proteins kloniert.

[0046] Chemische Synthese kann ebenfalls zur Herstellung geeigneter Fragmente verwendet werden. Eine derartige Synthese wird unter Verwendung bekannter Aminosäuresequenzen für das zu produzierende auslösende Mittel durchgeführt. Alternativ ergibt das Einwirken hoher Temperaturen und Drücke auf das auslösende Mittel voller Länge Fragmente. Diese Fragmente können dann durch herkömmliche Verfahren (beispielsweise Chromatographie, SDS-PAGE) getrennt werden.

[0047] Ein Beispiel für ein verwendbares Fragment ist das popA1-Fragment des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Pseudomonas solanacearum*. Siehe M. Arlat, F. Van Gijsegem, J. C. Huet, J. C. Pemollet, und C. A. Boucher, "PopA1, a Protein Which Induces a Hypersensitive-like Response in Specific Petunia Genotypes is Secreted via the Hrp Pathway of *Pseudomonas solanacearum*", EMBO J. 13: 543–53 (1994), das hierdurch als Bezug aufgenommen ist. Bezüglich *Erwinia amylovora* können ein geeignetes Fragment beispielsweise jeweils ein Polypeptid oder beide Polypeptide von dem Poly-

peptid, das sich zwischen den Aminosäuren 1 und 98 von SEQ ID No: 3 erstreckt und diese umfasst, und dem Polypeptid, das sich zwischen den Aminosäuren 137 und 204 von SEQ ID No. 3 erstreckt und diese umfasst, sein.

[0048] Varianten können ebenfalls (oder alternativ) durch beispielsweise Deletion oder Addition von Aminosäuren, die minimalen Einfluss auf die Eigenschaften, Sekundärstruktur und hydropathische Natur des Polypeptids haben, modifiziert werden. Beispielsweise kann ein Polypeptid mit einer Signal- oder Leader-) Sequenz am N-terminalen Ende des Proteins, die cotranslational oder posttranslational die Übertragung des Proteins dirigiert, konjugiert werden. Das Polypeptid kann auch mit einem Linker oder einer anderen Sequenz zur leichteren Synthese, Reinigung oder Identifizierung des Polypeptids konjugiert werden.

[0049] Das Protein oder Polypeptid der vorliegenden Erfindung wird vorzugsweise in gereinigter Form (vorzugsweise mindestens etwa 60%, noch besser 80% rein) durch herkömmliche Techniken produziert. Typischerweise wird das Protein oder Polypeptid der vorliegenden Erfindung produziert, jedoch nicht in das Wachstumsmedium rekombinanter Wirtszellen sezerniert. Alternativ wird das Protein oder Polypeptid der vorliegenden Erfindung in Wachstumsmedium sezerniert. Im Falle von nicht-sezerniertem Protein wird die Wirtszelle (beispielsweise *E. coli*), die ein rekombinantes Plasmid trägt, zur Isolierung des Proteins vermehrt, durch Ultraschall, Wärme oder chemische Behandlung lysiert und das Homogenat zur Entfernung von Bakterienresten zentrifugiert. Der Überstand wird dann einer Wärmebehandlung unterzogen und das Protein einer hypersensiblen Reaktion auslösenden Mittels wird durch Zentrifugation abgetrennt. Die das Polypeptid oder Protein der vorliegenden Erfindung enthaltende Überstandsfraktion wird einer Gelfiltration in einer Dextran- oder Polyacrylamidsäule passender Größe zur Abtrennung der Proteine unterzogen. Falls notwendig, kann die Proteinfaktion durch Ionen austausch oder HPLC weiter gereinigt werden.

[0050] Das DNA-Molekül mit Codierung für das Polypeptid oder Protein einer hypersensiblen Reaktion auslösenden Mittels kann in Zellen unter Verwendung herkömmlicher Gentechnik eingearbeitet werden. Allgemein umfasst dies die Insertion des DNA-Moleküls in ein Expressionssystem, für das das DNA-Molekül heterolog ist (d. h. normalerweise nicht vorhanden ist). Das heterologe DNA-Molekül wird in das Expressionssystem oder den Vektor in passender Sense-Orientierung und in korrekten Leseraster insertiert. Der Vektor enthält die zur Transkription und Translation der insertierten, Protein codierenden Sequenzen notwendigen Elemente.

[0051] Das US-Patent 4237224 von Cohen und Boyer, das hier als Bezug aufgenommen ist, beschreibt die Produktion von Expressionssystemen in der Form rekombinanter Plasmide unter Verwendung von Restriktionsenzymspaltung und Ligation mit DNA-Ligase. Diese rekombinanten Plasmide werden dann in einzellige Kulturen, die prokaryotische Organismen und in Gewebekultur gezüchtete eukaryotische Zellen umfassen, mittels Transformation eingeführt und repliziert.

[0052] Rekombinante Gene können auch in Viren, wie Vaccina-Virus, eingeführt werden. Rekombinante Viren können durch Transfektion von Plasmiden in mit Viren infizierte Zellen erzeugt werden.

[0053] Geeignete Vektoren umfassen, ohne hierauf beschränkt zu sein, die folgenden viralen Vektoren, wie das Lamda-Vektorsystem gt11, gt WES.tB, Charon 4, und Plasmidvektoren, wie pBR322, pBR325, pACYC177, pACYC1084, pUC8, pUC9, pUC18, pUC19, pLG339, pR290, pKC37, pKC101, SV 40, pBluescript II SK +/- oder KS +/- (siehe "Stratagene Cloning Systems"-Katalog (1993) von Stratagene, La Jolla, Kalifornien, das hier als Bezug aufgenommen ist), pQE, pI821, pGEX, die pET-Reihe (siehe F. W. Studier et al., "Use of T7 RNA Polymerase to Direct Expression of Cloned Genes", Gene Expression Technology, Band 185 (1990), das hier als Bezug aufgenommen ist) und alle Derivate derselben. Rekombinante Moleküle können in Zellen durch Transformation, insbesondere Transduktion, Konjugation, Mobilisierung oder Elektroporation eingeführt werden. Die DNA-Sequenzen werden in die Vektoren unter Verwendung von einschlägigen Standardklonierungsverfahren gemäß der Beschreibung bei Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Springs Laboratory, Cold Springs Harbor, New York (1989), das hier als Bezug aufgenommen ist, kloniert.

[0054] Eine Vielzahl von Wirt/Vektor-Systemen kann zur Expression der Protein codierenden Sequenz(en) verwendet werden. Primär muss das Vektorsystem mit der verwendeten Wirtszelle kompatibel sein. Wirt/Vektor-Systeme umfassen, ohne hierauf beschränkt zu sein, die folgenden: Bakterien, die mit Bakteriophage-DNA, Plasmid-DNA oder Cosmid-DNA transformiert sind; Mikroorganismen, wie Hefe, die Hefevektoren enthalten; Säugerzellssysteme, die mit einem Virus (beispielsweise Vaccinia virus, Adenovirus und dergleichen) infiziert sind; Insektenzellssysteme, die mit einem Virus (beispielsweise Baculovirus) infiziert sind; und Pflanzenzellen, die durch Bakterien infiziert sind. Die Expressionselemente dieser Vektoren variieren hinsichtlich Intensität und Spezifitäten. In Abhängigkeit von dem verwendeten Wirt/Vektor-System können beliebige einer Zahl

geeigneter Transkriptions- und Translationselemente verwendet werden.

[0055] Unterschiedliche Gensignale und Prozessierungsereignisse kontrollieren viele Ebenen der Genexpression (beispielsweise DNA-Transkription und Messenger-RNA (mRNA)-Translation).

[0056] Die Transkription von DNA ist von dem Vorhandensein eines Promotors abhängig, der eine DNA-Sequenz ist, die die Bindung von RNA-Polymerase dirigiert und dadurch die mRNA-Synthese fördert. Die DNA-Sequenzen eukaryotischer Promotoren unterscheiden sich von denen prokaryotischer Promotoren. Ferner können eukaryotische Promotoren und begleitende Gensignale in einem prokaryotischen System nicht erkannt werden oder in diesem nicht funktionieren, und ferner werden prokaryotische Promotoren in eukaryotischen Zellen nicht erkannt und funktionieren in diesen nicht.

[0057] In ähnlicher Weise hängt die Translation von mRNA in Prokaryoten vom Vorhandensein der passenden prokaryotischen Signale ab, die von denen von Eukaryoten verschieden sind. Eine effiziente Translation von mRNA in Prokaryoten erfordert eine als Shine-Dalgarno ("SD")-Sequenz bezeichnete Ribosomenbindungsstelle auf der mRNA. Diese Sequenz ist eine kurze Nucleotidsequenz von mRNA, die vor dem Startcodon, üblicherweise AUG, der das aminotermrale Methionin des Proteins codiert, lokalisiert ist. Die SD-Sequenzen sind komplementär zu dem 3'-Ende der 16S-rRNA (ribosomale RNA) und sie fördern wahrscheinlich die Bindung von mRNA an Ribosomen durch Doppelhelixbildung mit der rRNA unter korrekter Positionierung des Ribosoms. Für einen Übersichtsartikel über die Maximierung der Genexpression siehe Roberts und Lauer, Methods in Enzymology, 68:473 (1979), das hier als Bezug aufgenommen ist.

[0058] Promotoren variieren hinsichtlich ihrer "Stärke" (d. h. ihrer Fähigkeit zur Förderung der Transkription). Für die Zwecke der Expression eines klonierten Gens ist es günstig, starke Promotoren zu verwenden, um einen hohen Grad der Transkription und daher Expression des Gens zu erhalten. In Abhängigkeit von dem verwendeten Wirtszellsystem kann eine beliebige Zahl geeigneter Promotoren verwendet werden. Beispielsweise können bei der Klonierung in *E. coli*, dessen Bakteriophagen oder Plasmide Promotoren wie der T7-Phagenpromotor, lac-Promotor, trp-Promotor, recA-Promotor, ribosomale RNA-Promotor, die P_R- und P_L-Promotoren des Coliphagen Lambda und anderen, die, ohne hierauf beschränkt zu sein, lacUV5, ompF, bla, lpp und dergleichen umfassen, zum dirigieren hoher Grade der Transkription benachbarter DNA-Segmente verwendet werden. Ferner können ein Hybrid-trp-lacUV5(tac)-Promotor oder andere *E. coli*-Promotoren, die durch Gentechnik oder andere synthetische DNA-Techniken produziert wurden, zum Erreichen der Transkription des insertierten Gens verwendet werden.

[0059] Bakterienwirtszellstämme und Expressionsvektoren können so gewählt werden, dass sie die Wirkung des Promotors hemmen, wenn sie nicht spezifisch induziert wird. Bei bestimmten Operationen ist die Zugabe spezieller Induktoren für eine effiziente Transkription der insertierten DNA notwendig. Beispielsweise wird das lac-Operon durch die Zugabe von Lactose oder IPTG (Isopropylthio-beta-D-galactosid) induziert. Eine Vielzahl anderer Operone, wie trp, pro und dergleichen, stehen unter verschiedenen Kontrollen.

[0060] Spezifische Initiationssignale sind ebenfalls für eine effiziente Gentranskription und Translation in prokaryotischen Zellen erforderlich. Diese Transkriptions- und Translationsinitiationssignale können hinsichtlich der "Stärke", die durch die Menge von genspezifischer Messenger-RNA und Protein, die jeweils synthetisiert werden, ermittelt wird, variieren. Der DNA-Expressionsvektor, der einen Promotor enthält, kann auch eine Kombination verschiedener "starker" Transkriptions- und/oder Translationsinitiationssignale enthalten. Beispielsweise erfordert eine effiziente Translation in *E. coli* eine SD-Sequenz etwa 7–9 Basen 5' zum Initiationscodon (ATG) zur Bereitstellung einer Ribosomenbindungsstelle. Daher kann jede SD-ATG-Kombination, die durch Wirtszellenribosome genutzt werden kann, verwendet werden. Derartige Kombinationen umfassen, ohne hierauf beschränkt zu sein, die SD-ATG-Kombination von dem cro-Gen oder dem N-Gen des Coliphagen Lambda oder von den Tryptophan-E-, -D-, -C-, -B- oder -A-Genen von *E. coli*. Ferner kann jede SD-ATG-Kombination, die durch Gentechnik oder andere Techniken, die den Einbau synthetischer Nucleotide umfassen, produziert wurde, verwendet werden.

[0061] Sobald das isolierte DNA-Molekül mit Codierung für das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in ein Expressionssystem kloniert wurde, ist es zum Einbau in eine Wirtszelle bereit. Ein derartiger Einbau kann durch die im Vorhergehenden angegebenen verschiedenen Formen einer Transformation in Abhängigkeit von dem Vektor/Wirtszell-System durchgeführt werden. Geeignete Wirtszellen umfassen, ohne hierauf beschränkt zu sein, Bakterien, Viren, Hefe, Säugerzellen, Insekten, Pflanzen und dergleichen.

[0062] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung kann zur Behandlung einer breiten Vielzahl von Pflanzen oder deren Samen zur Verstärkung des Wachstums genutzt werden. Geeignete Pflanzen umfassen Dikotyle und Monokotyle. Insbesondere können verwendbare Feldfrüchtepflanzen umfassen: Reis, Weizen, Gerste, Roggen, Baumwolle, Sonnenblume, Erdnuss, Mais, Kartoffel, Süßkartoffel, Bohne, Erbse, Chicoree, Salat, Endivien, Kohl, Blumenkohl, Brokkoli, Speckröhre, Rettich, Spinat, Zwiebel, Knoblauch, Aubergine, Paprika, Sellerie, Karotte, Turbinkürbis, Kürbis, Zucchini, Gurke, Apfel, Birne, Melone, Erdbeere, Traube, Himbeere, Ananas, Sojabohne, Tabak, Tomate, Sorghum und Zuckerrohr. Beispiele für geeignete Schmuckpflanzen sind: Rose, Saintpaulia, Petunie, Pelargonie, Poinsettia, Chrysantheme, Gartennelke und Zinnie.

[0063] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung, das die Applikation des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels umfasst, kann durch eine Vielzahl von Verfahren durchgeführt werden, wenn die gesamte Pflanze oder ein Teil der Pflanze einschließlich der Blätter, Stängel, Wurzeln und dergleichen behandelt wird. Dies kann (muss aber nicht) die Infiltration des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in die Pflanze umfassen. Geeignete Applikationsverfahren umfassen eine topische Applikation (beispielsweise Sprühen mit hohem oder niedrigem Druck), Injektion, Aufstäuben und Blattabreiben im Umfeld, wenn die Applikation des auslösenden Mittels stattfindet. Bei der Behandlung von Pflanzensamen kann gemäß der Applikationsausführungsform der vorliegenden Erfindung das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels durch topische Applikation (Sprühen mit niedrigem oder hohem Druck), Beschichtung, Eintauchen, Aufstäuben oder Injektion appliziert werden. Andere geeignete Applikationsverfahren können vom Fachmann in Betracht gezogen werden, vorausgesetzt, sie können einen Kontakt des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels mit Zellen der Pflanze oder Pflanzensamen bewirken. Sobald die Samen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel der vorliegenden Erfindung behandelt sind, können die Samen in natürliche oder künstliche Erde gepflanzt und unter Verwendung herkömmlicher Verfahren zur Produktion von Pflanzen kultiviert werden. Nach der Vermehrung von Pflanzen aus gemäß der vorliegenden Erfindung behandelten Samen können die Pflanzen mit einer oder mehreren Applikationen des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels zur Verstärkung des Wachstums in den Pflanzen behandelt werden. Derart vermehrte Pflanzen können wiederum bei der Produktion von Samen oder Abkömmlingen (beispielsweise Abschnitten), die Pflanzen mit der Fähigkeit zu verstärktem Wachstum produzieren, verwendbar sein.

[0064] Das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels kann auf Pflanzen oder Pflanzensamen gemäß der vorliegenden Erfindung alleine oder in einem Gemisch mit anderen Materialien appliziert werden. Alternativ kann das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels getrennt auf Pflanzen appliziert werden, wobei andere Materialien an unterschiedlichen Zeitpunkten appliziert werden.

[0065] Eine zur Behandlung von Pflanzen oder Pflanzensamen geeignete Zusammensetzung gemäß der Applikationsausführungsform der vorliegenden Erfindung enthält ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in einem Träger. Geeignete Träger umfassen Wasser, wässrige Lösungen, Aufschlämmungen oder trockene Pulver. In dieser Ausführungsform enthält die Zusammensetzung mehr als 0,5 nM des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels.

[0066] Obwohl dies nicht erforderlich ist, kann diese Zusammensetzung zusätzlich Additive enthalten, die einen Dünger, ein Insektizid, Fungizid, Nematizid, Herbizid und Gemische derselben umfassen. Geeignete Dünger umfassen $(\text{NH}_4)_2\text{NO}_3$. Ein Beispiel für ein geeignetes Insektizid ist Malathion. Verwendbare Fungizide umfassen Captan.

[0067] Andere geeignete Additive umfassen Puffermittel, Netzmittel, Beschichtungsmittel und Abreibemittel. Diese Materialien können zur Erleichterung des Verfahrens der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Ferner kann das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels auf Pflanzensamen mit anderen herkömmlichen Samenformulierungs- und -behandlungsmaterialien, die Töne und Polysaccharide umfassen, appliziert werden.

[0068] In der alternativen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung, die die Verwendung transgener Pflanzen und transgener Samen umfasst, muss ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels nicht topisch auf die Pflanzen oder Samen appliziert werden. Stattdessen werden transgene Pflanzen, die mit einem DNA-Molekül mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert sind, gemäß einschlägig bekannten Verfahren, beispielsweise durch biolistische Verfahren oder eine Agrobacterium-vermittelte Transformation, produziert. Beispiele für geeignete Polypeptide oder Proteine eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels und die Nucleinsäu-

resequenzen für deren codierende DNA sind im Vorhergehenden offenbart. Sobald transgene Pflanzen dieser Art produziert sind, können die Pflanzen selbst gemäß herkömmlichen Verfahren kultiviert werden, wobei das Vorhandensein des Gens mit Codierung für das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel zu verstärktem Wachstum der Pflanze führen. Alternativ werden transgene Samen aus den transgenen Pflanzen gewonnen und diese Samen können dann in die Erde gepflanzt und unter Verwendung herkömmlicher Verfahren zur Produktion transgener Pflanzen kultiviert werden. Die transgenen Pflanzen werden aus den gepflanzten transgenen Samen unter zum Verleihen von verstärktem Wachstum wirksamen Bedingungen vermehrt. Ohne an eine Theorie gebunden zu sein, kann eine derartige Wachstumsverstärkung RNA-vermittelt sein oder die Folge der Expression des Polypeptids oder Proteins eines auslösenden Mittels sein.

[0069] Wenn transgene Pflanzen und Pflanzensamen gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden, können sie zusätzlich mit den gleichen Materialien, die zur Behandlung der Pflanzen und Samen verwendet werden, auf die ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels appliziert wurde, behandelt werden. Diese anderen Materialien, die eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel umfassen, können auf die transgenen Pflanzen und Pflanzensamen durch die im Vorhergehenden angegebenen Verfahren, wie Sprühen mit hohem oder niedrigem Druck, Injektion, Beschichtung, Bestäubung und Eintauchen umfassen, appliziert werden. In ähnlicher Weise können die Pflanzen nach der Vermehrung aus den transgenen Pflanzensamen mit einer oder mehreren Applikationen des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels zur Verstärkung des Pflanzenwachstums behandelt werden. Derartige Pflanzen können auch mit herkömmlichen Pflanzenbehandlungsmitteln (beispielsweise Insektiziden, Düngemitteln und dergleichen) behandelt werden. Die transgenen Pflanzen der vorliegenden Erfindung sind zur Produktion von Samen oder Abkömmlingen (beispielsweise Abschnitten), aus denen zu verstärktem Wachstum fähige Pflanzen produziert werden können, verwendbar.

Beispiele

Beispiel 1 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit einem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* auf den Keimungsprozentsatz

[0070] Samen der Tomatensorte Marglobe wurden in 40 ml einer Lösung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora* ("Harpin") getaucht. Harpin wurde durch Züchten des *E. coli*-Stamms DH5, der das Plasmid pCPP2139 (siehe [Fig. 1](#)) enthält, Lyse der Zellen durch Ultraschallbehandlung, Wärmebehandlung durch Halten in siedendem Wasser während 5 min vor der Zentrifugation zur Entfernung von Zellabfällen und Ausfällung von Proteinen und anderen wärmelabilen Komponenten hergestellt. Die erhaltene Zubereitung ("CFEP") wurde reihenmäßig verdünnt. Diese Verdünnungen (1:40, 1:80, 1:160, 1:320 und 1:640) enthielten 20, 10, 5, 2,5 bzw. 1,25 µg/ml Harpin auf der Basis eines Western-Blot-Tests. Samen wurden in Harpin oder Puffer in Bechergläsern am Tag 0 24 h bei 28 °C in einem Gewächshaus getränkt. Nach dem Tränken wurden die Samen in Keimtöpfen mit künstlicher Erde am Tag 1 ausgesät. Dieses Verfahren wurde an 100 Samen pro Behandlung durchgeführt.

Behandlungen:

1. Samen in Harpin (1:40) (20 µg/ml).
2. Samen in Harpin (1:80) (10 µg/ml).
3. Samen in Harpin (1:160) (5 µg/ml).
4. Samen in Harpin (1:320) (2,5 µg/ml).
5. Samen in Harpin (1:640) (1,25 µg/ml).
6. Samen in Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).

Tabelle 1 – Zahl der Sämlinge nach Samenbehandlung

Behandlung	Tag 0	Zahl der gekeimten Samen			
		Tag 1	Tag 5	Tag 7	Tag 9
Harpin-Samentränkung	(20 µg/ml)	Saat	43	57	59
Harpin-Samentränkung	(10 µg/ml)	Saat	43	52	52
Harpin-Samentränkung	(5 µg/ml)	Saat	40	47	51
Harpin-Samentränkung	(2,5 µg/ml)	Saat	43	56	58
Harpin-Samentränkung	(1,25 µg/ml)	Saat	38	53	57
Puffer-Samentränkung		Saat	27	37	40

[0071] Wie in Tabelle 1 gezeigt, verringerte die Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* die zur Keimung benötigte Zeit und sie erhöhte den Keimungsprozentsatz stark.

Beispiel 2 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* auf die Höhe von Tomatenpflanzen

[0072] Samen der Tomatensorte Marglobe wurden in Harpin von *Erwinia amylovora* (1:15, 1:30, 1:60 und 1:120) oder Puffer in Bechergläsern am Tag 0 24 h bei 28 °C in einem Gewächshaus getaut. Nach dem Tränken wurden die Samen in Keimtöpfen mit künstlicher Erde am Tag 1 gesät.

[0073] Zehn gleichförmig erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig ausgewählt und vermessen. Die Sämlinge wurden durch ein Lineal von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanze vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin (1:15) (52 µg/ml).
2. Harpin (1:30) (26 µg/ml).
3. Harpin (1:60) (13 µg/ml).
4. Harpin (1:120) (6,5 µg/ml).
5. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).

Tabelle 2 - Sämlingshöhe (cm) 15 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
52 µg/ml	10	5,6	5,8	5,8	5,6	6,0	6,0	5,8	5,4	5,8	5,6	5,7
26 µg/ml	10	6,8	7,2	6,6	7,0	6,8	6,8	7,0	7,4	7,2	7,0	7,0
13 µg/ml	10	5,8	5,6	6,0	5,6	5,8	5,8	5,6	5,8	6,0	5,6	5,9
6,5 µg/ml	10	5,4	5,2	5,6	5,4	5,2	5,4	5,4	5,6	5,6	5,4	5,4
Puffer	10	5,6	5,4	5,2	5,2	5,4	5,2	5,0	5,2	5,4	5,6	5,3

Tabelle 3 - Sämlingshöhe (cm) 21 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
52 µg/ml	10	7,6	7,8	7,6	7,6	7,8	7,8	7,8	7,4	7,6	7,6	7,7
26 µg/ml	10	8,2	8,2	8,0	9,0	8,4	8,6	8,6	9,0	9,2	9,0	8,6
13 µg/ml	10	6,8	6,6	6,8	6,8	6,8	6,8	6,6	7,2	7,0	7,2	6,9
6,5 µg/ml	10	6,8	6,6	6,6	6,4	6,8	6,6	6,8	6,6	6,6	6,8	6,7
Puffer	10	6,6	6,4	6,2	6,6	6,4	6,6	6,8	6,4	6,4	6,6	6,5

Tabelle 4 – Sämlingshöhe (cm) 27 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
52 µg/ml	10	10,2	10,6	10,4	10,6	10,4	10,6	10,8	10,4	10,8	10,6	10,5
26 µg/ml	10	11,6	11,4	11,6	11,8	11,8	11,8	11,6	11,4	11,6	11,4	11,6
13 µg/ml	10	9,8	9,6	9,8	9,6	9,6	9,8	9,6	9,4	9,6	9,8	9,7
6,5 µg/ml	10	9,4	9,4	9,6	9,4	9,6	9,4	9,6	9,6	9,6	9,4	9,5
Puffer	10	9,6	10,2	10,0	9,8	10,0	10,0	10,2	10,0	10,2	10,4	9,6

Tabelle 5 – Zusammenfassung – mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach einer Behandlung

Behandlung			mittlere Höhe von Tomatenpflanzen (cm)			
Tag 0		Tag 1	Tag 15	Tag 21	Tag 27	
Harpin-Samentränkung	(1:15)	Saat	5,7	7,7	10,5	
Harpin-Samentränkung	(1:30)	Saat	7,0	8,6	11,6	
Harpin-Samentränkung	(1:60)	Saat	5,9	6,9	9,7	
Harpin-Samentränkung	(1:120)	Saat	5,4	6,7	9,5	
Puffer-Samentränkung		Saat	5,3	6,5	10,0	

[0074] Wie in den Tabellen 2–5 gezeigt ist, erhöhte die Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* das Pflanzenwachstum. Eine Verdünnung von 1:30 hatte die größte Wirkung – eine 16%ige Erhöhung der Sämlingshöhe.

Beispiel 3 – Wirkung der Behandlung von Tomatenpflanzen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* auf die Höhe von Tomatenpflanzen

[0075] Wenn Marglobe-Tomatenpflanzen 4 Wochen alt waren, wurden sie mit 6 ml/Pflanze einer Harpin-Lösung von *Erwinia amylovora*, die 13 µg/ml (1:60) oder 8,7 µg/ml (1:90) Harpin oder Puffer (5 mM KPO₄) enthielt, in einem Gewächshaus bei 28 °C besprüht. Die Höhe der Tomatenpflanzen wurde 2 Wochen nach dem Aufsprühen von Harpin (6 Wochen alte Tomatenpflanzen) und 2 Wochen plus 5 Tage nach dem Aufsprühen ermittelt. 10 gleichförmig erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig ausgewählt und vermessen. Die Sämlinge wurden mit einem Lineal von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanzen vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin (1:60) (13 µg/ml).
2. Harpin (1:90) (8,7 µg/ml).
3. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).

Tabelle 6 – mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach einer Behandlung mit Harpin

Operation und Behandlung			mittlere Höhe (cm) der Tomatenpflanzen	
Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42	Tag 47
Saat	Verpfanzung	Harpin 1:60 (13 µg/ml)	35,5	36,0
Saat	Verpfanzung	Harpin 1:90 (8,7 µg/ml)	35,7	36,5
Saat	Verpfanzung	Puffer	32,5	33,0

[0076] Wie in Tabelle 6 gezeigt ist, kann das Besprühen von Tomatensämlingen mit einem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* das Wachstum von Tomatenpflanzen erhöhen. Ähnliche Erhöhungen des Pflanzenwachstums wurden für die zwei Dosen des getesteten eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels im Vergleich zu der pufferbehandelten Kontrolle festgestellt.

Beispiel 4 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* auf die Höhe von Tomatenpflanzen

[0077] Marglobe-Tomatensamen wurden in eine Lösung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora* ("Harpin") (1:40, 1:80, 1:160, 1:320 und 1:640) oder Puffer in Bechergläsern am Tag 0 24 h bei 28 °C in einem Gewächshaus getautcht. Nach dem Tränken wurden die Samen in Keimtöpfen mit künstlicher Erde am Tag 1 gesät.

[0078] Zehn gleichförmig erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig ausgewählt und vermessen. Die Sämlinge wurden durch ein Lineal von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanze vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin (1:40) (20 µg/ml).
2. Harpin (1:80) (10 µg/ml).
3. Harpin (1:160) (5 µg/ml).
4. Harpin (1:320) (2,5 µg/ml).
5. Harpin (1:640) (1,25 µg/ml)
6. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).

Tabelle 7 - Sämlingshöhe (cm) 12 Tage nach der Samenbehandlung

Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
20 µg/ml	10	6,5	6,8	6,5	6,4	6,4	6,8	6,4	6,8	6,6	6,6
10 µg/ml	10	6,8	6,2	6,6	6,4	6,8	6,6	6,4	6,8	6,4	6,6
5 µg/ml	10	6,2	6,6	6,0	6,6	6,4	6,2	6,6	6,0	6,6	6,3
2,5 µg/ml	10	6,4	6,2	6,6	6,0	6,2	6,4	6,0	6,0	6,2	6,2
1,25 µg/ml	10	6,2	6,2	6,0	6,4	6,0	6,0	6,4	6,2	6,2	6,2
Puffer	10	5,8	6,0	6,2	6,2	5,8	5,8	6,0	6,2	6,0	6,0

Tabelle 8 - Sämlingshöhe (cm) 14 Tage nach der Samenbehandlung

Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
20 µg/ml	10	7,8	7,8	8,2	8,0	8,2	8,4	7,8	8,4	7,6	7,8
10 µg/ml	10	8,6	8,8	8,4	9,2	8,4	8,6	7,8	7,8	8,4	8,4
5 µg/ml	10	9,8	9,2	9,8	9,6	9,2	9,4	8,6	9,2	9,0	8,6
2,5 µg/ml	10	8,8	8,6	8,6	8,4	7,8	8,6	8,4	9,0	8,0	8,4
1,25 µg/ml	10	8,4	7,8	8,4	8,0	8,6	8,4	8,0	8,0	7,8	8,4
Puffer	10	7,2	8,2	7,4	7,6	7,8	7,6	7,8	7,4	7,8	7,6

Tabelle 9 - Sämlingshöhe (cm) 17 Tage nach der Samenbehandlung

Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
20 µg/ml	10	11,2	11,6	11,4	11,6	11,4	11,2	11,8	11,4	11,8	11,6
10 µg/ml	10	13,4	13,4	13,8	13,2	13,4	12,6	12,4	13,4	13,2	13,4
5 µg/ml	10	13,6	12,8	13,6	13,2	14,2	13,8	12,6	13,4	13,8	13,5
2,5 µg/ml	10	11,6	12,4	12,4	11,8	11,6	12,2	12,6	11,8	12,0	11,6
1,25 µg/ml	10	12,8	12,6	12,0	12,4	11,6	11,8	12,2	11,4	11,2	11,9
Puffer	10	10,0	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,8	10,2	10,4	10,0

Tabelle 10 – Zusammenfassung – mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach einer Behandlung

Operation und Behandlung		mittlere Höhe von Tomatenpflanzen (cm)			
		Tag 1	Tag 12	Tag 14	Tag 17
Tag 0					
Harpin-Samentränkung	(20 µg/ml)	Saat	6,6	8,0	11,5
Harpin-Samentränkung	(10 µg/ml)	Saat	6,6	8,4	13,2
Harpin-Samentränkung	(5 µg/ml)	Saat	6,3	9,2	13,5
Harpin-Samentränkung	(2,5 µg/ml)	Saat	6,2	8,4	12,0
Harpin-Samentränkung	(1,25 µg/ml)	Saat	6,2	8,2	11,9
Puffer-Samentränkung		Saat	6,0	7,6	10,4

[0079] Wie in den Tabellen 7–10 gezeigt ist, erhöhte die Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* das Pflanzenwachstum. Eine Verdünnung von 1:160 (5 µg/ml Harpin) hatte die größte Wirkung – die Sämlingshöhe war mehr als 20% gegenüber den puffer-behandelten Pflanzen erhöht.

Beispiel 5 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* auf den Samenkeimungsprozentsatz

[0080] Marglobe-Tomatensamen wurden in 40 ml des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora* ("Harpin") (Verdünnungen von CFEP von *E. coli* DH5 (pCPP2139) von 1:50 oder 1:100, die 8 µg/ml bzw. 4 µg/ml des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels enthielten) und Puffer in Bechergläsern am Tag 0 während 24 h bei 28 °C in einem Gewächshaus getaut. Nach dem Tränken wurden die Samen in Keimtüpfel mit künstlicher Erde am Tag 1 gesät. Diese Behandlung wurde an 20 Samen pro Topf und 4 Töpfen pro Behandlung durchgeführt.

Behandlungen:

1. Harpin (8 µg/ml).
2. Harpin (8 µg/ml).
3. Harpin (8 µg/ml).
4. Harpin (8 µg/ml).
5. Harpin (4 µg/ml).
6. Harpin (4 µg/ml).
7. Harpin (4 µg/ml).
8. Harpin (4 µg/ml).
9. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).
10. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).
11. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).
12. Puffer (5 mM KPO₄, pH-Wert 6,8).

Tabelle 11 - Zahl der Sämlinge nach Samenbehandlung mit Harpin

Operation und Behandlung		Zahl der gekeimten Samen (von insgesamt 20)			
	Tag 0	Tag 1	Tag 5	Tag 42	Tag 47
			Mittelwert	Mittelwert	Mittelwert
Harpin (8 µg/ml)	Saat	1,1		15	19
Harpin (8 µg/ml)	Saat	1,3		17	20
Harpin (8 µg/ml)	Saat	1,0		13	16
Harpin (8 µg/ml)	Saat	9	10,8	15	15,0
					16
					17,8
Harpin (4 µg/ml)	Saat	1,1		17	17
Harpin (4 µg/ml)	Saat	1,5		17	18
Harpin (4 µg/ml)	Saat	9		12	14
Harpin (4 µg/ml)	Saat	9	11,0	14	15,0
					16
					16,3
Puffer	Saat	1,1		11	14
Puffer	Saat	9		14	15
Puffer	Saat	10		14	14
Puffer	Saat	10	10,0	12	12,8
					14,3

[0081] Wie in Tabelle 11 gezeigt ist, kann die Behandlung von Tomatensamen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* die Keimungsrate und -menge von Tomatensamen erhöhen. Die höhere verwendete Dosis schien am Ende des Experiments wirksamer als Puffer zu sein.

Beispiel 6 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit Proteinen, die von E. coli, das ein Konstrukt mit Codierung für eine hypersensible Reaktion auslösendes Mittel, pCPP2139, enthielt, hergestellt wurden, oder dem Plasmidvektor pCPP50 auf das Pflanzenwachstum

[0082] Marglobe-Tomatensamen wurden in eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel von *Erwinia amylovora* ("Harpin") (von *E. coli* DH5 α (pCPP2139)) ([Fig. 1](#)) oder eine Vektorzubereitung (von DH5 α (pCPP50)) ([Fig. 2](#)) mit zugesetztem BSA-Protein als Kontrolle getaucht. Die Kontrollvektorzubereitung enthielt pro ml 33,6 μ l BSA (10 mg/ml), um etwa die gleiche Menge Protein, wie sie in der pCPP2139-Zubereitung aufgrund von Harpin enthalten ist, bereitzustellen. Verdünnungen von 1:50 (8,0 μ g/ml), 1:100 (4,0 μ g/ml) und 1:200 (2,0 μ g/ml) wurden in Bechergläsern am Tag 1 hergestellt und Samen wurde 24 h bei 28 °C in einer Kammer kontrollierter Umgebung eingetaucht. Nach dem Tränken wurden die Samen in Keimtöpfen mit künstlicher Erde am Tag 2 gesät. 10 gleichförmige erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig ausgewählt und an drei Zeitpunkten nach der Verpflanzung von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanze vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin 1:50 (8,0 μ g/ml)
2. Harpin 1:100 (4,0 μ g/ml)
3. Harpin 1:200 (2,0 μ g/ml)
4. Vektor + BSA 1:50 (0 Harpin)
5. Vektor + BSA 1:100 (0 Harpin)
6. Vektor + BSA 1:200 (0 Harpin)

Tabelle 12 - Sämlingshöhe (cm) 18 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Harpin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
H1:50	8,0	3,6	5,0	4,8	5,0	4,2	5,2	5,8	4,6	4,0	4,8	4,7
H1:100	4,0	4,6	5,8	6,2	6,0	5,6	6,8	6,0	4,8	5,6	6,2	5,8
H1:200	2,0	4,0	5,8	5,8	4,6	5,4	5,0	5,8	4,6	4,6	5,8	5,1
V1:50	0	3,8	5,0	4,6	5,4	5,6	4,6	5,0	5,2	4,6	4,8	4,9
V1:100	0	4,4	5,2	4,6	4,4	5,4	4,8	5,0	4,6	4,4	5,2	4,8
V1:200	0	4,2	4,8	5,4	4,6	5,0	4,8	4,8	5,4	4,6	5,0	4,9

Tabelle 13 - Sämlingshöhe (cm) 22 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Harpin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
H1:50	8,0	4,2	5,6	5,2	6,0	4,8	5,4	5,0	5,2	5,4	5,0	5,2
H1:100	4,0	7,6	6,8	7,0	7,2	6,8	7,4	7,6	7,0	6,8	7,4	7,2
H1:200	2,0	7,0	6,6	6,8	7,2	7,4	6,8	7,0	7,2	6,8	7,2	7,0
V1:50	0	5,6	5,8	6,2	6,4	5,6	5,2	5,6	5,8	6,0	5,8	5,8
V1:100	0	5,4	6,0	5,8	6,2	5,8	5,6	5,4	5,2	6,0	5,6	5,7
V1:200	0	5,2	6,2	5,8	5,4	6,2	6,0	5,6	6,4	5,8	6,0	5,9

Tabelle 14 – Sämlingshöhe (cm) 26 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Harpin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
H1:50	8,0	7,6	8,4	8,8	6,8	9,6	8,2	7,4	9,8	9,2	9,0	8,5
H1:100	4,0	12,0	11,4	11,2	11,0	10,8	12,0	11,2	11,6	10,4	10,2	11,2
H1:200	2,0	10,6	11,2	11,6	10,2	11,0	10,8	10,0	11,8	10,2	10,6	10,8
V1:50	0	9,0	9,4	8,8	8,4	9,6	9,2	9,2	8,6	8,0	9,4	9,2
V1:100	0	9,2	10,0	9,8	9,6	8,4	9,4	9,6	9,8	8,0	9,6	9,3
V1:200	0	8,8	9,6	8,2	9,2	8,4	8,0	9,8	9,0	9,4	9,2	9,0

Tabelle 15 – Mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach einer Behandlung

Operation und Behandlung		Mittlere Höhe von Tomatenpflanzen (cm)			
Tag 1	Tag 2	Tag 18	Tag 22	Tag 26	
Harpin (1:50) (8,0 µg/ml)	Saat	4,7	5,2	8,5	
Harpin (1:100) (4,0 µg/ml)	Saat	5,8	7,2	11,2	
Harpin (1:200) (2,0 µg/ml)	Saat	5,1	7,0	10,8	
Vektor + BSA (1:50) (0)	Saat	4,9	5,8	9,2	
Vektor + BSA (1:100) (0)	Saat	4,8	5,7	9,3	
Vektor + BSA (1:200) (0)	Saat	4,9	5,9	9,0	

[0083] Wie in den Tabellen 12–15 gezeigt ist, kann eine Behandlung mit E. coli, das das Gen mit Codierung für das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel von Erwinia amylovora enthält, das Wachstum von Tomatenpflanzen erhöhen. Die 1:100-Verdünnung (4,0 µg/ml) hatte die größte Wirkung, während höhere und niedrigere Konzentrationen geringere Wirkung hatten. Die mittlere Sämlingshöhe für eine Behandlung mit 4,0 µg/ml Harpin war etwa 20% in Bezug auf eine Vektorkontrollzubereitung, die eine ähnliche Menge eines Nicht-Harpin-Proteins enthielt, erhöht. Komponenten des einer Lyse unterzogenen Zellpräparats des Stamms E. coli DH5 α (pCPP50), das den Vektor des hrpN-Gens in dem E. coli-Stamm DH5 α beherbergt (pCPP2139), besitzen nicht die gleiche wachstumsfördernde Wirkung wie die Harpin enthaltende Zubereitung, obwohl sie mit BSA-Protein in gleichem Maße wie die DH5 α (pCPP2139)-Zubereitung, die eine große Menge Harpin-Protein enthält, ergänzt wurde.

Beispiel 7 – Wirkung der Behandlung von Tomatensamen mit Proteinen, die von E. coli, das ein eine hypersensible Reaktion auslösendes Mittel codierendes Konstrukt, pCPP2139, enthält, hergestellt wurden, oder deren Plasmidvektor pCPP50 auf Tomatenpflanzenwachstum

[0084] Marglobe-Tomatensamen wurden in die Lösung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von Erwinia amylovora ("Harpin") (von dem Harpin codierenden PlasmidpCPP2139-Vektor) und den pCPP50-Vektor enthaltende Lösung mit Verdünnung von 1:25, 1:50 und 1:100 in Bechergläsern am Tag 1 während 24 h bei 28 °C in einem Gewächshaus getaut. Nach dem Tränken der Samen wurden sie in Keimtöpfe mit künstlicher Erde am Tag 2 gesät. 10 gleichförmig erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig gewählt und vermessen. Die Sämlinge wurden mit einem Lineal von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanze vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin 16 µg/ml
2. Harpin 8 µg/ml
3. Harpin 4 µg/ml
4. Vektor 16 µg/ml
5. Vektor 8 µg/ml
6. Vektor 4 µg/ml

Tabelle 16 - Sämlingshöhe (cm) 11 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Harpin	Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
H1:25	16 µg/ml	10	5,0	5,2	4,8	4,6	4,4	4,6	3,8	4,2	3,8	4,2	4,5
H1:50	8 µg/ml	10	5,6	5,4	6,0	5,8	4,8	6,8	5,8	5,0	5,2	4,8	5,5
H1:100	4 µg/ml	10	5,2	5,6	5,0	5,0	5,0	4,8	5,0	5,6	4,8	5,2	5,1
V1:25	0	10	4,4	4,4	4,8	4,6	4,8	4,6	4,0	4,8	4,4	4,6	4,5
V1:50	0	10	4,8	4,4	4,6	4,0	4,4	4,2	4,6	4,0	4,4	4,2	4,4 ..
V1:100	0	10	4,6	4,2	4,8	4,4	4,4	4,0	4,2	4,0	4,4	4,0	4,3 ..

Tabelle 17 - Sämlingshöhe (cm) 14 Tage nach der Samenbehandlung

Behandlung	Harpin	Pflanzen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mittelwert
H1:25	16 µg/ml	10	7,6	7,6	7,2	7,4	7,8	7,8	7,6	7,0	7,4	7,0	7,4 ..
H1:50	8 µg/ml	10	8,5	8,2	8,4	7,6	7,8	8,4	8,6	9,0	7,6	8,2	8,2 ..
H1:100	4 µg/ml	10	7,2	8,4	8,2	7,4	8,0	7,6	7,6	8,0	8,6	7,6	7,9 ..
V1:25	0	10	6,8	6,4	7,8	6,6	6,6	6,8	7,4	6,0	6,4	6,4	6,7 ..
V1:50	0	10	6,6	5,8	6,4	7,6	7,4	7,2	6,8	6,6	6,4	5,8	6,7 ..
V1:100	0	10	6,2	6,0	6,8	6,6	6,4	5,8	6,6	7,0	5,8	6,4	6,4 ..

Tabelle 18 – Mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach einer Behandlung

Operation und Behandlung			mittlere Höhe der Tomatenpflanzen (cm)	
Tag 1		Tag 2	Tag 11	Tag 14
Harpin-Samentränkung	(16 µg/ml)	Saat	4,5	7,4
Harpin-Samentränkung	(8 µg/ml)	Saat	5,5	8,2
Harpin-Samentränkung	(4 µg/ml)	Saat	5,1	7,9
Vektor-Samentränkung	(16 µg/ml)	Saat	4,5	6,7
Vektor-Samentränkung	(8 µg/ml)	Saat	4,4	6,7
Vektor-Samentränkung	(4 µm/ml)	Saat	4,3	6,4

[0085] Wie in den Tabellen 16 – 18 gezeigt ist, kann eine Behandlung mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* das Wachstum von Tomatenpflanzen erhöhen. Eine 1:50-Verdünnung (8 µg/ml des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels) hatte die größte Wirkung, wobei die Sämlingshöhe um etwa 20% gegenüber der Kontrolle erhöht war.

Beispiel 8 -Wirkung von zellfreiem, eine hypersensible Reaktion auslösendem Mittel von *Erwinia amylovora* auf das Wachstum von Kartoffeln

[0086] 3-Wochen alte Kartoffelpflanzen der Sorte Norchip wurden aus Knollenstücken in individuellen Behältern gezüchtet. Die Blätter jeder Pflanze wurden mit einer Lösung, die das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel von *Erwinia amylovora* ("Harpin") enthielt, oder einer Kontrolllösung, die Proteine von *E. coli* und die des Vektors pCPP50 ("Vektor") enthielten, in einer Verdünnung von 1:50, 1:100 und 1:200 besprüht. Am Tag 20 wurden 12 gleichförmig erscheinende Pflanzen zufällig für jede der folgenden Behandlungen gewählt. Eine Pflanze jeder Behandlung wurde bei 16 °C in einem Gewächshaus gehalten, während 2 Pflanzen von jeder Behandlung bei 18–25 °C auf einem Treibhaustisch gehalten wurden. 25 Tage nach der Behandlung wurden die Sprosse (Stängel) aller Pflanzen individuell vermessen.

Behandlungen:

1. Harpin 1:50 16 µg/ml
2. Harpin 1:100 8 µg/ml
3. Harpin 1:200 4 µg/ml
4. Vektor 1:50 0 Harpin
5. Vektor 1:100 0 Harpin
6. Vektor 1:200 0 Harpin

Tabelle 19 – Länge von Kartoffelstängeln von Pflanzen bei 16 °C

Behandlung am Tag 20	Länge von Kartoffelstängeln (cm) am Tag 45					
	Stängel 1	Stängel 2	Stängel 3	Stängel 4	Stängel 5	Pflanzen- mittelwert
Häpin 1:50	43,0	39,5	42,5	34,0	38,0	39,5
Häpin 1:100	42,0	38,5	(2 Verzweigungen)			40,3
Häpin 1:200	35,5	30,5	31,5	(3 Verzweigungen)		32,5
Vektor 1:50	34,0	32,0	31,5	28,0	27,5	(5 Verzweigungen)
Vektor 1:100	30,0	33,5	33,0	30,0	28,0	33,0
Vektor 1:200	33,5	31,5	32,5	(3 Verzweigungen)		32,5

Tabelle 20 – Länge von Kartoffelstängeln von Pflanzen auf einem Treibhaustisch
 Behandlung am Tag 20
 Stängel 1 Stängel 2 Stängel 3 Stängel 4 Stängel 5 Stängel 6 Pflanze
 Länge von Kartoffelstängeln (cm) am Tag 45

	Stängel 1	Stängel 2	Stängel 3	Stängel 4	Stängel 5	Stängel 6	Pflanze	Behandlungsmittelwert
Harpin 1:50	62,5	58,5	57,5	62,5	68,5	(5 Verzweigungen)	62,5	62,5
Harpin 1:50	62,5	67,0	65,0	69,0	(4 Verzweigungen)	65,9	64,2	
Harpin 1:100	70,5	73,5	74,0	80,5	(4 Verzweigungen)	74,6		
Harpin 1:100	83,0	80,5	76,5	76,0	81,5	(5 Verzweigungen)	79,5	77,1
Harpin 1:200	56,5	59,5	50,5	53,0	55,5	48,0	53,9	
Harpin 1:200	57,0	59,5	69,5	(3 Verzweigungen)	62,5		62,0	58,0
Vektor 1:50	53,0	62,0	59,5	62,5	(4 Verzweigungen)	59,3		
Vektor 1:50	52,0	46,0	61,5	56,5	61,5	57,0	55,8	57,6
Vektor 1:100	62,0	51,5	66,0	67,5	62,0	63,0	62,0	
Vektor 1:100	61,5	62,5	59,0	65,5	63,0	63,5	62,5	62,3
Vektor 1:200	62,0	66,0	(2 Verzweigungen)				64,0	
Vektor 1:200	61,0	60,0	63,5			(3 Verzweigungen)	61,5	62,8

[0087] Wie in den Tabellen 19 und 20 gezeigt ist, verstärkte die Behandlung von Kartoffelpflanzen mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel von *Erwinia amylovora* das Spross- (Stängel)wachstum. So war das Gesamtwachstum, das sowohl durch die Zahl als auch die mittlere Länge der Stängel beurteilt wurde,

bei den mit Harpin behandelten Pflanzen sowohl bei den im Treibhaus als auch bei den im Gewächshaus gezüchteten Pflanzen größer. Die mit einer mittleren Harpindosis (8 µg/ml) behandelten Kartoffelpflanzen schienen ein verstärktes Stängelwachstum gegenüber den entweder mit höheren oder niedrigeren Dosen behandelten zu zeigen. Die Behandlung mit der mittleren Harpindosis führte zu größerem Wachstum unter beiden Wachstumsbedingungen.

Beispiel 9 – Wirkung des Besprühens von Tomaten mit einer zellfreien Zubereitung eines auslösenden Mittels, die das Harpin von *Erwinia amylovora* enthält

[0088] Marglobe-Tomatenpflanzen wurden mit einer Harpinzubereitung (von *E. coli* DH5α(pCPP2139)) oder Vektorzubereitung (von *E. coli* DH5α(pCPP50)) mit zugesetztem BSA-Protein als Kontrolle 8 Tage nach dem Verpflanzen besprüht. Die Kontrollvektorzubereitung enthielt pro ml 33,6 µl BSA (10 mg/ml), um etwa die gleiche Menge Protein, wie sie in der pCPP2139-Zubereitung aufgrund von Harpin enthalten ist, bereitzustellen. Verdünnungen von 1:50 (8,0 µg/ml), 1:100 (4,0 µg/ml) und 1:200 (2,0 µg/ml) wurden hergestellt und mit einer elektrisch betriebenen Zerstäubungsvorrichtung auf die Pflanzen bis zum Abfließen gesprührt. 15 gleichförmig erscheinende Pflanzen pro Behandlung wurden zufällig ausgewählt und einer Behandlung zugeordnet. Die Pflanzen wurden vor und nach der Behandlung bei 28 °C in einer Kammer mit gesteuerter Umgebung gehalten.

[0089] Die Gesamthöhen wurden mehrere Male nach der Behandlung von der Erdoberfläche bis zur Spitze der Pflanze gemessen. Die Spitzen der Tomatenpflanzen wurden unmittelbar nach dem Abschneiden der Stängel nahe der Erdoberfläche gewogen.

Behandlungen: (Verdünnungen und Harpingehalt)

Behandlungen:

1. Harpin 1:50 (8,0 µg/ml)
2. Harpin 1:100 (4,0 µg/ml)
3. Harpin 1:200 (2,0 µg/ml)
4. Vektor + BSA 1:50 (0 Harpin)
5. Vektor + BSA 1:100 (0 Harpin)
6. Vektor + BSA 1:200 (0 Harpin)

Tabelle 21 – Tomatenpflanzenhöhe (cm) 1 Tag nach Sprühbehandlung

Behandlung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mittelwert
H 50	5,4	5,0	5,6	5,0	5,2	4,8	5,0	5,2	5,4	5,0	5,6	4,8	4,6	5,0	5,8	5,16
H 100	5,0	5,2	5,0	5,4	5,4	5,0	5,2	4,8	5,6	5,2	5,4	5,0	4,8	5,0	5,2	5,15
H 200	5,0	4,6	5,4	4,6	5,0	5,2	5,4	4,8	5,0	5,2	5,4	5,2	5,0	5,2	5,0	5,13
V 50	5,2	4,6	4,8	5,0	5,6	4,8	5,0	5,2	5,6	5,4	5,2	5,8	5,0	4,8	5,2	5,15
V 100	5,2	4,8	5,2	5,0	5,6	4,8	5,4	5,2	5,0	4,0	4,8	4,8	5,6	5,2	5,4	5,13
V 200	5,2	5,4	5,0	5,4	5,2	5,4	5,0	5,2	5,4	5,2	4,6	4,8	5,2	5,0	5,4	5,16

Tabelle 22 – Tomatenpflanzenhöhe (cm) 15 Tage nach Sprühbehandlung

Behandlung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mittelwert
H 50	22,0	21,0	22,0	21,5	23,0	22,0	23,5	25,0	22,0	20,5	21,0	23,5	22,0	22,5	21,0	22,2
H 100	26,0	26,5	27,0	29,0	27,5	26,0	28,0	29,0	28,5	26,0	27,5	28,0	28,0	29,0	26,0	27,5
H 200	24,0	26,0	25,0	26,0	26,5	27,5	28,5	28,0	26,0	24,0	26,5	24,5	26,0	24,0	27,5	26,0
V 50	23,5	21,5	20,5	22,5	20,5	21,0	22,0	23,5	22,0	20,5	21,0	20,5	22,5	21,5	21,7	
V 100	22,5	21,0	20,5	23,0	22,0	20,0	20,5	20,0	21,0	22,0	23,0	20,0	22,0	21,0	22,5	21,4
V 200	21,5	20,5	23,5	20,5	22,0	22,0	22,5	20,0	22,0	23,5	23,5	22,0	20,0	23,0	21,0	21,8

Tabelle 23 - Tomatenpflanzenhöhe (cm) 21 Tage nach Sprühbehandlung

Behandlung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mittelwert
H 50	28,5	28,0	27,5	26,0	27,0	28,5	29,0	30,0	28,5	29,0	27,0	28,5	28,0	27,0	28,1	
H 100	37,0	38,0	37,5	39,0	37,0	38,5	36,0	38,0	37,0	38,5	37,0	36,0	37,0	37,0	38,5	37,5
H 200	34,5	34,0	36,0	33,5	32,0	34,5	32,5	34,0	32,0	36,5	30,5	32,0	30,0	30,0	32,5	34,0
V 50	30,0	28,0	28,0	28,5	30,0	27,0	26,5	28,0	29,5	28,5	26,5	28,5	27,0	29,5	28,5	28,3
V 100	28,0	27,5	30,0	29,5	28,5	29,0	30,0	26,5	27,5	28,0	30,0	29,0	28,5	28,0	29,5	28,6
V 200	28,5	30,5	27,0	29,0	28,5	27,5	29,0	30,0	28,0	28,5	29,0	30,5	27,5	28,5	28,0	28,7

Tabelle 24 - Mittlere Höhe von Tomatenpflanzen nach Besprühen

Behandlung (Verdünnung und Harpin)	mittlere Höhe von Tomatenpflanzen (cm)			
	Tage nach der Behandlung			
	Tag 1	Tag 11	Tag 14	
Harpin 1:50	(8,0 µg/ml)	5,16	22,2	28,1
Harpin 1:100	(4,0 µg/ml)	5,15	27,5	37,5
Harpin 1:200	(2,0 µg/ml)	5,13	26,0	33,2
Vektor + BSA 1:50	(0)	5,15	21,7	28,5
Vektor + BSA 1:100	(0)	5,13	21,4	28,6
Vektor + BSA 1:200	(0)	5,16	21,8	28,7

Tabelle 25 – Frischgewicht von Tomatenpflanzen (g/Pflanze) 21 Tage nach Sprühbehandlung

Behandlung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mittelwert
H 50	65,4	60,3	58,9	73,2	63,8	70,1	58,4	60,1	62,7	55,6	58,3	68,9	58,2	64,2	56,4	62,3
H 100	84,3	68,8	74,6	66,7	78,5	58,9	76,4	78,6	84,8	78,4	86,4	66,5	76,5	82,4	80,5	76,2
H 200	80,1	76,5	68,4	79,5	64,8	79,6	76,4	80,2	66,8	72,5	78,8	72,3	62,8	76,4	73,2	73,9
V 50	64,0	56,8	69,4	72,3	56,7	66,8	71,2	62,3	61,0	62,5	63,4	58,3	72,1	67,8	67,0	64,7
V 100	62,8	58,4	70,2	64,2	58,1	72,7	68,4	53,6	67,5	66,3	59,3	68,2	71,2	65,2	59,2	64,4
V 200	64,2	59,6	70,2	66,6	64,3	60,4	60,8	56,7	71,8	60,6	63,6	58,9	68,3	57,2	60,0	62,9

:

[0090] Ein einmaliges Besprühen von Tomatensämlingen mit Harpin führte allgemein zu einem größeren anschließenden Wachstum als eine Sprühbehandlung mit der Kontroll(vektor)zubereitung, die mit BSA-Protein ergänzt worden war. Ein verstärktes Wachstum bei den mit Harpin behandelten Pflanzen wurde sowohl hinsichtlich Messungen der Pflanzenhöhe als auch Messungen des Frischgewichts beobachtet. An den drei getesteten Konzentrationen führten die zwei niedrigeren zu mehr Pflanzenwachstum (auf der Basis von jeder der beiden Messungen) als die höhere Dosis (8,0 µg/ml). Es gab wenig Unterschied hinsichtlich des Wachstums von Pflanzen, die mit den zwei niedrigeren (2 und 4 µg/ml) Konzentrationen behandelt wurden. Komponenten der einer Lyse unterzogenen Zellzubereitung des Stamms E. coli D5α(pCPP50), der den Vektor des hrpN-Gens in dem E. coli-Stamm D5α beherbergt (pCPP2139), besitzen nicht die gleiche wachstumsfördernde Wirkung wie die Harpin enthaltende Zubereitung, obwohl sie mit BSA-Protein in gleichem Maße wie die D5α(pCPP2139)-Zubereitung, die große Mengen von Harpinprotein enthält, ergänzt sind. Daher belegt dieses Experiment, dass Harpin für verstärktes Pflanzenwachstum verantwortlich ist.

Beispiel 10 – Frühe Färbung und frühe Reifung von kleinen Früchten

[0091] Ein Feldversuch wurde zur Bewertung der Wirkung einer Behandlung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels ("Harpin") auf Ausbeute- und Reifungsparameter von Himbeere cv. Canby durchgeführt. Etablierte Pflanzen wurden mit Harpin mit 2,5 mg/100 Quadratfuß in Parzellen von 40 Fuß Länge × 3 Fuß Breite (1 Pflanze breit) behandelt, nicht behandelt ("Kontrolle") oder mit der gewerblichen Standardchemikalie Ronilan in empfohlenen Raten behandelt ("Ronilan"). Die Behandlungen wurden viermal wiederholt und auf einem Versuchsfeld entsprechend angeordnet. Die Behandlungen wurden bei 5–10% Blüte begonnen und dann folgten zwei Applikationen in Abständen von 7–10 Tagen. Die ersten zwei Ernten wurden zur Bewertung der Krankheitskontrolle verwendet und Obstausbeutedaten wurden von den letzten beiden Ernten gewonnen. Die Beobachtungen zeigten, dass mit Harpin behandelte Früchte im Vergleich zu unbehandelten Früchten größer waren und mehr Röte zeigten, was belegt, dass die Reifung um 1–2 Wochen beschleunigt war. Die Zahl reifer Früchte pro Büschel, das minimal 10 Früchte trug, wurde an diesem Zeitpunkt bestimmt und ist in Tabelle 26 zusammengefasst. Mit Harpin behandelte Parzellen hatten mehr reife Früchte pro 10 Beeren-Büschen als entweder die Kontroll- oder Ronilanbehandlungen. Die kombinierten Ausbeuten der letzten zwei Ernten zeigten eine erhöhte Ausbeute bei mit Harpin und Ronilan behandelten Parzellen gegenüber der un behandelten Kontrolle (Tabelle 27).

Tabelle 26 – Zahl reifer Himbeeren pro Büschel mit zehn Beeren oder mehr am 20. Juni 1996

Behandlung	reife Früchte/	% der Kontrolle
	10 Beeren-Büschen	
Kontrolle	2,75	100,0
Ronilan	2,75	100,0
Harpin	7,25	263,6

Tabelle 27 – Mittlere Himbeerausbeute in Bezug auf das Gewicht (lbs) als Kombination der letzten zwei Ernten

Behandlung	Gesamtausbeute	% der Kontrolle
Kontrolle	32,5	100,0
Ronilan	37,5	115,4
Harpin	39,5	121,5

Beispiel 11 – Wachstumsverstärkung für Brechbohnen

[0092] Brechbohnen der Sorte Bush Blue Lake wurden durch verschiedene Verfahren behandelt, in mit handelsüblicher Blumentopfmischung gefüllte Kunststofftöpfe eines Durchmessers von 25 cm gepflanzt und zur Bewertung der Wachstumsparameter in ein offenes Gewächshaus gesetzt. Die Behandlungen umfassten unbehandelte Bohnensamen ("Kontrolle"), Samen, die mit einer mit Wasser als Verdünnungsmittel hergestellten Aufschlämmung von 1,5% Methylcellulose behandelt waren ("M/C"), Samen, die mit 1,5% Methylcellulose und anschließend einer Blattapplikation des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels ("Harpin") mit 0,125 mg/ml behandelt waren ("M/C + H"), und Samen, die mit 1,5% Methylcellulose plus sprühgetrocknetem Harpin mit 5,0 µg Harpin pro 50 Samen und einer anschließenden Blattapplikation mit Harpin mit 0,125 mg/ml behandelt waren ("M/C – SD + H"). Die Samen wurden am Tag 0 gesät, wobei 3 pro Topf gepflanzt wurden und diese

bei Keimung auf eine Pflanze pro Topf ausgedünnt wurden. Die Behandlungen wurden in einem offenen Gewächshaus 10fach wiederholt und bei Wiederholung zufällig verteilt. Bohnenschoten wurden nach 64 Tagen geerntet und die Frischgewichte der Bohnenschoten einer verkauflichen Größe (einer Größe > 10 cm × 5 cm) wurden als Ausbeute gewonnen. Die Daten wurden durch Varianzanalyse unter Verwendung von Fisher-LSD zur Trennung der Behandlungsmittel analysiert.

Tabelle 28 – Wirkung einer Behandlung mit Harpin von *Erwinia amylovora* durch verschiedene Verfahren auf die Ausbeute von Brechbohnenschoten von Marktgröße

Behandlung	verkäufliche Ausbeute, g ¹	% der unbehandel- ten (Kontrolle)
M/C-SD+H	70,6 a	452
M/C-H	58,5 ab	375
M/C	46,3 bc	297
M/C+H	42,3 bc	271
M/C-SD	40,0 cd	256
Kontrolle	15,6 e	100

¹ Verkäufliche Ausbeute umfasste alle Bohnenschoten von 10 cm × 0,5 cm oder größer.

[0093] Mittelwerte mit anschließendem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden mit P = 0,05 gemäß Fisher-LSD.

[0094] Wie in Tabelle 28 gezeigt ist, führte die Applikation von Harpin von *Erwinia amylovora* durch verschiedene Applikationsverfahren zu einer Erhöhung der Ausbeute von Brechbohnenschoten verkauflicher Größe. Die Behandlung mit Methylcellulose allein führte ebenfalls zu einer Erhöhung der Bohnenausbeute, sie war jedoch bei einer Kombination mit Harpin als Samenbehandlung (sprühgetrocknet) und Blattbehandlung wesentlich erhöht.

Beispiel 12 – Ausbeuteerhöhung bei Gurken aufgrund einer Blattapplikation von HP-1000™ auf Gurken

[0095] Gürkensämlinge und -pflanzen wurden mit Blattsprays von HP-1000™ (EDEN Bioscience, Bothell, Washington) (Formulierung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) mit Wirkstoffraten von 15, 30 oder 60 µg/ml behandelt. Das erste Spray wurde appliziert, wenn die ersten richtigen Blätter voll ausgebreitet waren. Die zweite Applikation erfolgte 10 Tage nach dem ersten Spray. Alle Sprays wurden unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung appliziert und eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde in dem Versuch ebenfalls eingearbeitet. Drei Tage nach der zweiten Applikation von HP-1000™ wurden 10 Pflanzen von jeder Behandlung in zufällig verteilte Feldparzellen in dreifacher Wiederholung verpflanzt. Dies ergab insgesamt 30 Pflanzen pro Behandlung. Sieben Tage nach dem Verpflanzen wurde ein drittes Blattspray von HP-1000™ appliziert. Obwohl eine starke Trockenheit folgte, die signifikanten Wasserstress ergab, wurden insgesamt sechs Ernten nach einem kommerziellen Standarderntemuster durchgeführt. Das Gesamtgewicht der von jeder Behandlung geernteten Früchte ist in Tabelle 29 angegeben. Die Ergebnisse zeigen, dass Pflanzen, die mit HP-1000™ mit Raten von 15 und 30 µg/ml behandelt wurden, signifikant mehr Frucht als die UTC ergaben. Mit HP-1000™ behandelte Pflanzen ergaben eine mäßige Zunahme der Ausbeute. Diese Ergebnisse zeigen, dass mit HP-1000™ behandelte Pflanzen gegenüber Trockenheitsstressbedingungen signifikant toleranter als unbehandelte Pflanzen waren.

Tabelle 29 – Zunahme der Ausbeute von Gurken nach einer Behandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate ¹	Ausbeute, ² lbs/ 10 Pflanzen	% über UTC
UTC	---	9,7 a	---
HP-1000™	15 µg/ml	25,4 b	161,4
HP-1000™	30 µg/ml	32,6 c	236,4
HP-1000™	60 µg/ml	11,2 a	15,9

¹ Wirkstoff² Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05

Beispiel 13 – Zunahme der Ausbeute bei Baumwolle aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™

[0096] Baumwolle wurde in vier Wiederholungsfeldparzellen von 12 × 20 Fuß in einem Feldversuch mit zufällig verteiletem, komplettem Block (RCB) gepflanzt. Die Pflanzen wurden mit HP-1000™ (EDEN Bioscience) (Formulierung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*), HP-1000™+ Pix® (Pix® (BASF Corp., Mount Olive, N.J.) ist ein Wachstumsregulator, der appliziert wird, um Baumwollpflanzen bei kompakter Höhe zu halten) oder Early Harvest® (Griffen Corp., Valdosta, Ga.) (ein kompetitiver Wachstumsverstärker) behandelt. Eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde ebenfalls in dem Versuch eingearbeitet. Unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung wurden Blattapplikationen aller Behandlungen in drei Wachstumsstadien der Feldfrüchte, erste richtige Blätter, vor der Blüte und frühe Blüte, durchgeführt. Alle Dünger und Unkrautbekämpfungsprodukte wurden gemäß herkömmlicher landwirtschaftlicher Praxis bei allen Behandlungen appliziert. Die Zahl von Baumwollsamenkapseln pro Pflanze war 10 Wochen vor der Ernte für die mit HP-1000™ behandelten Pflanzen signifikant höher im Vergleich zu anderen Behandlungen. Bei der Ernte zeigte sich, dass eine HP-1000™-Behandlung eine signifikant erhöhte Baumwollfaserausbeute (43%) im Vergleich zu UTC aufwies (Tabelle 30). Wenn HP-1000™ mit Pix® kombiniert wurde, war die Baumwollfaserausbeute 20% über UTC erhöht. Da Pix® häufig auf große Baumwollfelder appliziert wird, zeigt dieses Ergebnis, dass HP-1000™ erfolgreich mit Pix® im Tank gemischt werden kann. Die Applikation des kompetitiven Wachstumsverstärkers Early Harvest® ergab nur eine 9%ige Erhöhung der Baumwollfaserausbeute gegenüber UTC.

Tabelle 30 – Erhöhte Baumwollfaserausbeute von Baumwolle nach einer Behandlung mit HP-1000™, HP-1000™ + Pix® oder Early Harvest®.

Behandlung	Rate ¹	Baumwollfaser- ausbeute (lbs/Morgen)	% über UTC
UTC	---	942,1	---
Early Harvest®	2 Unze/Morgen	1077,4*	1,43
HP-1000™+Pix®	40 µg/ml +8 Unze/Morgen	1133,1*	20,4
HP-1000™	40 µg/ml	1350,0*	43,3

(* signifikant mit P = 0,05); lsd = 122,4

¹ Die Raten für HP-1000™ gelten für den Wirkstoff; die Raten für Early Harvest® und Pix® gelten für formuliertes Produkt.

Beispiel 14 – Erhöhung der Ausbeute von chinesischer Aubergine durch eine Behandlung mit HP-1000™

[0097] In einer Pflanzenschule gezüchtete Sämlinge von chinesischer Aubergine wurden einmal mit HP-1000™ (EDEN Bioscience) (Formulierung eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) mit 15, 30 oder 60 µg/ml (Wirkstoff) besprüht und dann auf Feldparzellen mit dreifacher Wiederholung für jede Behandlung verpflanzt. Zwei Wochen nach dem Verpflanzen erfolgte eine zweite Applikation von HP-1000™. Eine dritte und letzte Applikation von HP-1000™ wurde etwa zwei Wochen nach dem zweiten Besprühen appliziert. Alle Sprays wurden unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung appliziert; eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde ebenfalls in den Versuch eingearbeitet. Im Laufe der Saison wurden insgesamt acht Ernten von jeder Behandlung durchgeführt. Die Daten von diesen Ernten zeigen, dass eine Behandlung mit HP-1000™ zu einer größeren Fruchtausbeute pro Pflanze führte.

Tabelle 31 – Erhöhte Ausbeute für chinesische Aubergine nach Behandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Ausbeute (lbs/Pflanze)	% über UTC
UTC	---	1,45	---
HP-1000™	15 µg/ml	2,03	40,0
HP-1000™	30 µg/ml	1,90	31,0
HP-1000™	60 µg/ml	1,95	34,5

Beispiel 15 – Vergrößerung der Ausbeute von Reis aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™

[0098] Reissämlinge wurden auf Reisparzellen in dreifacher Ausführung verpflanzt und dann mit Blattsprays von HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) mit drei verschiedenen Raten unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung behandelt. Eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde in dem Versuch ebenfalls eingearbeitet. Die erste Applikation von HP-1000™ erfolgte eine Woche nach der Verpflanzung, die zweite drei Wochen nach der ersten. Ein drittes und letztes Besprühen erfolgte unmittelbar, bevor Reiskörner die Köpfe zu füllen begannen. Die Ergebnisse bei der Ernte zeigten, dass Blattapplikationen von HP-1000™ mit sowohl 30 als auch 60 µg/ml die Ausbeute signifikant um 47 bzw. 56% erhöhten (Tabelle 32).

Tabelle 32 – Vergrößerung der Ausbeute von Reis nach einer Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Ausbeute ¹ (lbs/Morgen)	% über UTC
UTC	---	3,853 a	---
HP-1000™	15 µg/ml	5,265 ab	35,9
HP-1000™	30 µg/ml	5,710 b	47,3
HP-1000™	60 µg/ml	6,043 b	56,1

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 16 – Vergrößerung der Ausbeute von Sojabohnen aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™

[0099] Sojabohnen wurden in zufällig verteilte Feldparzellen mit jeweiliger dreifacher Ausführung der einzelnen Behandlung verpflanzt. Eine Rucksacksprühvorrichtung wurde zur Applikation von Blattsprays von HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) verwendet und eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde ebenfalls in den Versuch eingearbeitet. Drei Raten von HP-1000™ wurden appliziert, wobei bei vier richtigen Blättern, als die Pflanzen etwa 8 inch groß waren, begonnen wurde. Ein zweites Spray von HP-1000™ wurde 10 Tage nach dem ersten Spray appliziert und ein drittes Spray erfolgte 10 Tage nach dem zweiten. Die 10 Tage nach der ersten Sprühbehandlung ermittelte Pflanzenhöhe zeigte, dass die Applikation von HP-1000™ eine signifikante Wachstumsverstärkung ergab (Tabelle 3). Ferner begannen Pflanzen, die mit HP-1000™ mit der Rate von 60 µg/ml behandelt wurden, fünf Tage eher als die anderen Behandlungen zu blühen. Etwa zehn Tage nach der Applikation des dritten Sprays wurde die Zahl der Sojabohnenschoten pro Pflanze von zehn zufällig gewählten Pflanzen pro wiederholte Ausführung gezählt. Diese Ergebnisse zeigten, dass die Wachstumsverstärkung aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™ zu einer signifikant größeren Ausbeute führte (Tabelle 34).

Tabelle 33 – Zunahme der Pflanzenhöhe von Sojabohnen nach Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Pflanzenhöhe ¹ (in.)	% über UTC
UTC	---	12,2 a	---
HP-1000™	15 µg/ml	13,2 b	8,3
HP-1000™	30 µg/ml	14,1 c	16,2
HP-1000™	60 µg/ml	14,3 c	17,3

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 34 – Zunahme des Schotensatzes von Sojabohnen nach Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Schotenanzahl/ Pflanze ¹	% über UTC
UTC	---	41,1 a	---
HP-1000™	15 µg/ml	45,4 ab	10,4
HP-1000™	30 µg/ml	47,4 b	15,4
HP-1000™	60 µg/ml	48,4 b	17,7

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 17 – Zunahme der Ausbeute von Erdbeeren aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™

[0100] Zwei Feldversuche mit HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) wurden an zwei Erdbeersorten, Camarosa und Selva, durchgeführt. Für jede Sorte wurde ein Muster eines zufällig eingeteilten kompletten Blocks (RCB) mit vier Wiederholungsparzellen ($5,33 \times 10$ Fuß) pro Behandlung auf einem Erdbeerfeld zur gewerblichen Produktion etabliert. Innerhalb jeder Parzelle wurden Erdbeerplanten in Doppelreihen gepflanzt. Eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde ebenfalls in dem Versuch eingearbeitet. Vor Beginn der Applikationen wurden alle Pflanzen von etwaigen Blüten und Beeren gereinigt. Sprays von HP-1000™ mit der Rate von 40 µg/ml wurden alle sechs Wochen unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung appliziert. Unmittelbar vor der Applikation jedes Sprays wurden alle reifen Früchte aufgrund der jeweiligen Behandlung geerntet, gewogen und nach handelsüblichen Standards klassifiziert. Innerhalb von drei Wochen der ersten Applikation von HP-1000™ auf Selva-Erdbeerplanten waren eine Wachstumsverstärkung sowie eine sichtbar größere als die Grundbiomasse und ein kräftigeres, grüneres und gesünderes Aussehen erkennbar. Nach sechs Ernten (d. h. der geplanten Lebensspanne für diese Pflanzen) wurden alle Ausbeutedaten aufsummiert und analysiert. Für die Sorte Camarosa war die Ausbeute verkäuflicher Früchte aufgrund von mit HP-1000™ behandelten Pflanzen gegenüber der UTC signifikant erhöht (27%), wenn über die letzten vier Ernten gemittelt wurde (Tabelle 35). Signifikante Unterschiede zwischen Behandlungen waren für diese Sorte für die ersten zwei Ernten nicht offensichtlich. Die Sorte Selva sprach mehr auf die wachstumsverstärkenden Wirkungen aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™ an; Selva-Erdbeerplanten ergaben statistisch signifikante 64% mehr verkäufliche Früchte gegenüber der UTC bei Mittelung über sechs Ernten (Tabelle 35).

Tabelle 35 – Erhöhte Ausbeute von Erdbeeren nach einer Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Ausbeute ¹ (lbs/Ausführung)	% über UTC
Sorte: Camarosa			
UTC	---	1,71 a	---
HP-1000™	40 µg/ml	2,17 b	27
Sorte: Selva			
UTC	---	0,88 a	---
HP-1000™	40 µg/ml	1,44 b	64

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 18 – Frühere Reifung und erhöhte Ausbeute von Tomaten aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™

[0101] Tomaten für den Frischmarkt (Sorte: Solar Set) wurden in Parzellen (2 × 30 Fuß) mit fünffacher Ausführung in einem Feldversuch mit zufällig eingeteiltem komplettem Block (RCB) in einem gewerblichen Tomatenproduktionsfeld gezüchtet. Die Behandlungen umfassten HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*), ein experimentelles kompetitives Produkt (Actigard™ (Novartis, Greensboro, N.C.)) und einen chemischen Standard (Kocide® (Griffen Corp., Valdosta, GA)) + Maneb® (DuPont Agricultural Products, Wilmington, D.E.)) zur Krankheitskontrolle. Die erste Applikation von HP-1000™ erfolgte als 50-ml-Guss (mit 30 µg/ml Wirkstoff), der direkt auf den Sämling unmittelbar nach dem Verpflanzen gegossen wurde. Danach wurden alle 11 Wochen Blattsprays unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung appliziert. Die erste Ernte von allen Behandlungen erfolgte etwa sechs Wochen nach dem Verpflanzen, und es wurden nur vollständig rote reife Tomaten von jeder Behandlung geerntet. Die Ergebnisse zeigten, dass mit HP-1000™ behandelte Pflanzen eine signifikante größere Menge von zur ersten Ernte fertigen Tomaten hatten (Tabelle 36). Die von den mit HP-1000™ behandelten Pflanzen geernteten Tomaten wurden als gegenüber anderen Behandlungen 10–14 Tage voraus geschätzt.

Tabelle 36 – Erhöhte Ausbeute von Tomaten bei der ersten Ernte nach einer Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Ausbeute ² (lbs/Ausführung)	% über UTC
UTC	---	0,61 a	---
HP-1000™	30 µg/ml	2,87 b	375
Actigard™	14 g/Morgen	0,45 a	-25,1
Kocide®+	2 lbs/Morgen	0,31 a	-49,1
Maneb®	1 lb/Morgen		

¹ Raten für Kocide® und Maneb® gelten für formuliertes Produkt.

² Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschiedenen gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 19 – Früheres Blühen und Wachstumsverstärkung von Erdbeeren aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™ bei Pflanzung in nicht-begaster Erde

[0102] Erdbeerpflanzen ("Ballen" und "nacktwurzelige") cv. Commander wurden in Parzellen (2 × 30 Fuß) in fünffacher Ausführung in einem Feldversuch mit zufällig verteilem komplettem Block verpflanzt. Etwa 60 individuelle Pflanzen wurden in jede Ausführung verpflanzt. Die in diesem Feldversuch verwendeten Behandlungen sind im Folgenden aufgelistet:

Behandlung HP-1000™ (Ballenpflanzen)	Applikationsverfahren 50-ml-Gießlösung von HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierungen des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von <i>Erwinia amylovora</i>) mit 40 µg/ml (Wirkstoff) direkt über die individuellen Pflanzen unmittelbar nach der Verpflanzung in nicht-begaste Erde gegossen, anschließende Blattapplikationen von HP-1000™ mit 40 µg/ml alle 14 Tage
HP-1000™ (nacktwurzelige Pflanzen)	Wurzeltränkung in einer Lösung von HP-1000™ mit 40 µg/ml (Wirkstoff) während 1 h unmittelbar vor dem Verpflanzen in nicht-begaste Erde ¹ , anschließende Blattapplikationen von HP-1000™ mit 40 µg/ml alle 14 Tage
Methylbromid/Chlorpikrin 75/25	Erdbegasung mit 300 lbs/Morgen durch Injektion vor dem Pflanzen, keine Applikationen von HP-1000™-Behandlungen
Telon/Chlorpikrin 70/30	Erdbegasung mit 45 gal/Morgen durch Injektion vor dem Pflanzen, keine Applikationen von HP-1000™-Behandlungen
unbehandelte Kontrolle (UTC)	keine Begasung, keine HP-1000™-Behandlungen

¹ nicht-begaste Erde war die zwei vorherigen Jahre mit Wicke bestellt worden.

[0103] Die Pflanzung erfolgte im späten Herbst, wenn kühles Wetter zu einer Verlangsamung des Pflanzenwachstums neigte. Zwei Wochen nach der Pflanzung erfolgte die erste Blattapplikation von HP-1000™ mit 40 µg/ml (Wirkstoff) mit einer Rucksacksprühvorrichtung. Drei Wochen nach der Pflanzung wurden Vorergebnisse gewonnen, wobei die HP-1000™-Behandlung mit Methylbromid und UTC durch Zählen der Zahl der Blüten auf allen Erdbeer"ballen"pflanzen in jeder Ausführung verglichen wurde. Da bei den "nacktwurzeligen" Pflanzen noch keine Blütenbildung erfolgt war, wurde jede Pflanze in den Wiederholungsausführungen für diese Behandlung auf frühes Blattwachstum durch Messung des Abstands von der Blattspitze bis zum Stängel am mittleren Blatt eines Büschels von drei Blättern getestet. Die Ergebnisse (Tabellen 37 und 38) zeigten, dass eine Behandlung mit HP-1000™ ein frühzeitiges verstärktes Blütenwachstum und eine frühzeitig verstärkte Blattgröße für "Ballen-" bzw. "nacktwurzelige" Erdbeerpflanzen ergab.

Tabelle 37 – Frühzeitigere Blütenbildung von "Ballen"-erdbeerpflanzen nach Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Zahl der Blüten/ Ausführung ¹	% über UTC
UTC	---	2,0 a	---
HP-1000™	40 µg/ml	7,5 b	275
Methyl- bromid/ Chlor- pikrin	300 lbs/Morgen	5,3 b	163

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 38 – Verstärktes Blattwachstum in "nacktwurzeligen" Erdbeerpflanzen nach Blattbehandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Battlänge ¹ / (in)	% über UTC
UTC	---	1,26 a	---
HP-1000™	40 µg/ml	1,81 b	44

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 20 – Frühe Wachstumsverstärkung von Jalapeño-Paprika nach der Applikation von HP-1000™

[0104] Jalapeño-Paprika (cv. Mittlya)-Pflanzen wurden mit einer Wurzeleinweichbrühe von HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) (30 µg/ml Wirkstoff) 1 h behandelt und dann in zufällig verteilte Feldparzellen in vierfacher Ausführungsform gepflanzt. Eine unbehandelte Kontrolle (UTC) wurde ebenfalls eingearbeitet. 14 Tage nach der Pflanzung beginnend erhielten behandelte Pflanzen drei Blattsprays von HP-1000™ in Abständen von 14 Tagen unter Verwendung einer Rucksacksprühvorrichtung. Eine Woche nach der dritten Applikation von HP-1000™ (54 Tage nach der Pflanzung) wurde die Pflanzenhöhe von vier zufällig ausgewählten Pflanzen pro Ausführung gemessen. Die Ergebnisse dieser Messungen zeigten, dass die mit HP-1000™ behandelten Pflanzen etwa 26 größer als die UTC-Pflanzen waren (Tabelle 39). Ferner wurde die Zahl der Knospen, Blüten oder Früchte an jeder Pflanze gezählt. Diese Ergebnisse zeigten, dass die mit HP-1000™ behandelten Pflanzen über 61% mehr Blüten, Früchte oder Knospen im Vergleich zu UTC-Pflanzen hatten (Tabelle 40).

Tabelle 39 – Zunahme der Pflanzenhöhe bei Jalapeño-Paprika nach einer Behandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Pflanzenhöhe (in) ¹	% über UTC
UTC	---	a 7,0	---
HP-1000™	30 µg/ml	8,6 b	23,6

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 40 – Erhöhte Zahl der Blüten, Früchte oder Knospen bei Jalapeño-Paprika nach einer Behandlung mit HP-1000™

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Zahl der Blüten, Früchte oder Knospen/Pflanze ¹	% über UTC
UTC	---	20,6 a	---
HP-1000™	30 µg/ml	12,8 b	61,3

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 21 – Wachstumsverstärkung von Tabak aufgrund einer Applikation von HP-1000™

[0105] Tabaksämlinge wurden in zufällig verteilte Feldparzellen in dreifacher Ausführung verpflanzt. Ein Blattspray von HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) wurde nach der Verpflanzung mit einer von drei Raten: 15, 30 oder 60 µg/ml Wirkstoff,

appliziert. 60 Tage später erfolgte eine zweite Blattapplikation von HP-1000TM. Zwei Tage nach der zweiten Applikation wurden die Pflanzenhöhe, Zahl der Blätter pro Pflanze und die Blattgröße (Fläche) von zehn zufällig ausgewählten Pflanzen pro Behandlung ermittelt. Die Ergebnisse dieser Messungen zeigten, dass eine Behandlung mit HP-1000TM das Wachstum von Tabakpflanzen signifikant erhöhte (Tabellen 41, 42 und 43). Pflanzenhöhe war um 6 – 13% erhöht, während mit HP-1000TM mit 30 und 60 µg/ml behandelte Pflanzen im Mittel nur ein weiteres Blatt pro Pflanze als UTC zeigten. Höchst signifikant führte jedoch eine Behandlung mit HP-1000TM mit 15, 30 und 60 µg/ml zu entsprechenden Zunahmen der Blattfläche. Tabakpflanzen mit einem zusätzlichen Blatt pro Pflanze und einer Zunahme der durchschnittlichen Blattgröße (Fläche) stellen eine gewerblich signifikante Reaktion dar.

Tabelle 41 – Zunahme der Pflanzenhöhe bei Tabak nach einer Behandlung mit HP-1000TM.

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Pflanzenhöhe (cm)	% über UTC
UTC	---	72,0	---
HP-1000 TM	15 µg/ml	76,4	5,3
HP-1000 TM	30 µg/ml	79,2	9,0
HP-1000 TM	60 µg/ml	81,3	6,9

Tabelle 42 – Erhöhte Zahl von Tabakblättern pro Pflanze nach einer Behandlung mit HP-1000TM.

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Blätter/Pflanze ¹ (cm)	% über UTC
UTC	---	16,8	---
HP-1000 TM	15 µg/ml	17,4	3,6
HP-1000 TM	30 µg/ml	18,1	7,7
HP-1000 TM	60 µg/ml	17,9	6,5

Tabelle 43 – Erhöhte Blattfläche bei Tabak nach einer Behandlung mit HP-1000TM.

Behandlung	Rate (Wirkstoff) ¹	Blattfläche (cm ²)	% über UTC
UTC	---	1,246	---
HP-1000 TM	15 µg/ml	1,441	16
HP-1000 TM	30 µg/ml	1,543	24
HP-1000 TM	60 µg/ml	1,649	32

Tabelle 22 – Wachstumsverstärkung von Winterweizen aufgrund einer Applikation von HP-1000TM.

[0106] Winterweizensaat wurde mit trockenem HP-1000TM (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*-Pulver mit einer Rate von 3 Unzen des formulierten Produkts (3% Wirkstoff) pro 100 lbs Samen "bestäubt" und dann unter Verwendung herkömmlicher Aussaatvorrichtungen auf zufällig verteilte Testparzellen von 11,7 Fuß einer Länge von 100 Fuß gepflanzt. Weitere Behandlungen umfassten eine Samen"bestäubung" mit HP-1000TM-Pulver (3% Wirkstoff) mit 1 Unze formuliertem Produkt pro 100 lbs Samen, eine Samentränkung in einer Lösung von HP-1000TM mit einer Konzentration von 20 µg/ml Wirkstoff während 4 h und anschließende Lufttrocknung vor dem Pflanzen, ein "Bestäuben" mit einem standardmäßigen chemischen Fungizid (Dividend[®]) und eine unbehandelte Kontrolle (UTC). Acht Tage nach dem Pflanzen begannen mit HP-1000TM behandelte Samen zu keimen, während die UTC-Samen und mit einem chemischen Standard behandelten Samen erst etwa 14 Tage nach dem Pflanzen, der normalen erwarteten Zeit, keimten. Nach 41 Tagen nach dem Pflanzen wurden Sämlinge aus der Erde genommen und bewertet. Die Wurzelmasse für Weizen, der mit HP-1000TM als "Bestäubung" mit drei Unzen/100 lb behan-

delt wurde, wurde visuell inspiziert und als etwa zweimal so groß wie bei einer der anderen Behandlungen beurteilt.

[0107] Nach dem Feldversuch wurde ein Gewächshausexperiment gestaltet, um eine Bestätigung dieser Ergebnisse zu erhalten. Die Behandlungen umfassten Weizensaat, die mit trockenem HP-1000™ (10% Wirkstoff) mit einer Rate von 3 Unzen pro 100 lbs Saat bestäubt wurde, Samentränkung mit HP-1000™ in einer Lösungskonzentration von 20 mg/ml während 4 h vor dem Pflanzen und eine unbehandelte Kontrolle (UTC). Weizensamen von jeder Behandlung wurden mit einer Rate von 25 Samen pro Topf gepflanzt, wobei fünf Töpfen als Wiederholungen für die jeweilige Behandlung dienten. Fünf Tage nach dem Pflanzen wurden zehn zufällig gewählte Sämlinge von jedem Behandlungstopf entnommen, sorgfältig gereinigt und bezüglich Wurzellänge vermessen. Da der Teil der individuellen Sämlinge über dem Erdboden keine Behandlungswirkung zeigte, beeinflusste ein erhöhtes Wurzelwachstum aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™ die Auswahl von Prüflingen nicht. Die Zunahme des Wurzelwachstums aufgrund der beiden HP-1000™-Behandlungen war signifikant größer als UTC (Tabelle 49); jedoch schien die Samenbestäubungsbehandlung leicht bessere Ergebnisse zu ergeben.

Tabelle 44 – Erhöhtes Wurzelwachstum bei Weizensämlingen nach einer Behandlung mit HP-1000™.

Behandlung	Rate	Wurzellänge (cm) ¹	% über UTC
UTC	---	35,6 a	---
HP-1000™ (Bestäubung)	3 Unze/100 lbs	41,0 b	17,4
HP-1000™ (Tränkung)	20 µg/ml	40,8 b	14,6

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Beispiel 23 – Wachstumsverstärkung von Gurken aufgrund einer Applikation von HP-1000™.

[0108] Ein Feldversuch mit gewerblich produzierten Gurken bestand aus vier Behandlungen, HP-1000™ (EDEN, Bioscience) (Formulierung des eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels von *Erwinia amylovora*) mit zwei Raten (20 oder 40 µg/ml), einem chemischen Standard zur Krankheitskontrolle (Bravo® (Zeneca Ag Products, Wilmington, Del.) +Maneb®) und einer unbehandelten Kontrolle (UTC). Jede Behandlung wurde viermal in Parzellen von 3 × 75 Fuß mit einem Pflanzenabstand von etwa zwei Fuß für jede Behandlung in vierfacher Ausführung durchgeführt. Blattsprays von HP-1000™ wurden mit dem ersten richtigen Blatt beginnend appliziert und in Abständen von 14 Tagen bis zur letzten Ernte mit insgesamt sechs Applikationen wiederholt. Die Standardfungizidmischung wurde alle sieben Tage oder eher, wenn dies die Bedingungen forderten, appliziert. Die gewerbliche Ernte begann etwa zwei Monate nach der ersten Applikation von HP-1000™ (nach der Applikation von fünf Sprays von HP-1000™) und eine letzte Ernte erfolgte etwa 14 Tage nach der ersten Ernte.

[0109] Die Ergebnisse der ersten Ernte zeigten, dass eine Behandlung mit HP-1000™ die durchschnittliche Gurkenausbeute durch Erhöhung der Gesamtzahl der geernteten Gurken und nicht des durchschnittlichen Gewichts der einzelnen Gurken erhöhte (Tabellen 45–47). Der gleiche Trend wurde bei der letzten Ernte festgestellt (Tabellen 48–49). Es war gewerblich von Bedeutung, dass die Zunahme der Ausbeute aufgrund einer Behandlung mit HP-1000™ nicht durch eine signifikante Erhöhung der durchschnittlichen Gurkengröße erreicht wurde.

Tabelle 45 – Erhöhte Gurkenausbeute nach einer Behandlung mit HP-1000™, erste Ernte.

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Ausbeute/trt ¹ (kg)	% über UTC
UTC	---	10,0 a	---
Bravo+Maneb	Markierung	10,8 a	8,4
HP-1000™	20 µg/ml	12,3 ab	22,8
HP-1000™	40 µg/ml	13,8 b	38,0

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 46 – Erhöhte Zahl der Früchte bei Gurken nach einer Behandlung mit HP-1000™, erste Ernte

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Zahl der Früchte/trt ¹	% über UTC
UTC	---	24,5 a	---
Bravo+Maneb	Markierung	27,6 ab	12,8
HP-1000™	20 µg/ml	31,2 b	27,0
HP-1000™	40 µg/ml	34,3 b	39,8

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 47 – Durchschnittsgewicht von Gurken nach einer Behandlung mit HP-1000™, erste Ernte.

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Gewicht/ Frucht (g)	% Änderung gegenüber UTC
UTC	---	406	---
Bravo+Maneb	Markierung	390	-4
HP-1000™	20 µg/ml	395	-3
HP-1000™	40 µg/ml	403	-1

Tabelle 48 – Erhöhte Gurkenausbeute nach einer Behandlung mit HP-1000™, dritte Ernte.

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Zahl der Früchte/trt ¹ (kg)	% über UTC
UTC	---	17,5 a	---
Bravo+Maneb	Markierung	14,0 b	-20,1
HP-1000™	20 µg/ml	20,1 a	15,3
HP-1000™	40 µg/ml	20,2 a	15,6

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05.

Tabelle 49 – Erhöhte Zahl der Früchte bei Gurken nach einer Behandlung mit HP-1000TM, dritte Ernte.

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Zahl der Früchte/trt ¹	% Änderung gegenüber UTC
UTC	---	68,8 ab	---
Bravo+Maneb	Markierung	60,0 a	-12,7
HP-1000 TM	20 µg/ml	82,3 b	19,6
HP-1000 TM	40 µg/ml	85,3 b	24,0

¹ Mittelwerte mit anschließenden verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden gemäß Duncan-MRT, P = 0,05. Tabelle 50 – Durchschnittsgewicht von Gurken nach einer Behandlung mit HP-1000TM, dritte Ernte.

Behandlung	Rate (Wirkstoff)	Gewicht/ Frucht (g)	% Änderung gegenüber UTC
UTC	---	255	---
Bravo+Maneb	Markierung	232	-9
HP-1000 TM	20 µg/ml	247	-3
HP-1000 TM	40 µg/ml	237	-7

Beispiel 24 – Harpin_{pss} von *Pseudomonas syringae* pv *syringae* induziert Wachstumsverstärkung bei Tomaten

[0110] Um zu testen, ob Harpin_{pss} (d. h. das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel) von *Pseudomonas syringae* pv *syringae*) (S. Y. He, et al., "Pseudomonas syringae pv syringae Harpin_{pss}. A Protein that is Secreted via the Hrp Pathway and Elicits the Hypersensitive Response in Plants.", Cell 73: 1255–66 (1993), das hier als Bezug aufgenommen ist) ebenfalls das Pflanzenwachstum stimuliert, wurden Tomatensamen (Sorte Marglobe) in Töpfen von 8 inch mit künstlicher Erde gesät. 10 Tage nach der Aussaat wurden die Sämlinge in individuelle Töpfe verpflanzt. Während des Experiments wurden Dünger, Bewässerung, Temperatur und Erdfeuchtigkeit gleichförmig unter den Pflanzen beibehalten. 16 Tage nach dem Verpflanzen wurde die Anfangspflanzenhöhe ermittelt und die erste Applikation von Harpin_{pss} durchgeführt, wobei dies als Tag 0 bezeichnet wird. Eine zweite Applikation erfolgte am Tag 15. Weitere Wachstumsdaten wurden am Tag 10 und Tag 30 gewonnen. Die letzte Datensammlung am Tag 30 umfasste sowohl die Pflanzenhöhe als auch das Frischgewicht.

[0111] Das zur Applikation während des Experiments verwendete Harpin_{pss} wurde durch Fermentation von *E. coli* DH5, das das Plasmid mit dem Gen mit Codierung für Harpin_{pss} (d. h. *hrpZ*) enthielt, produziert. Die Zellen wurden geerntet, in 5 mM Kaliumphosphatpuffer resuspendiert und durch Ultraschallbehandlung zerstört. Das ultraschallbehandelte Material wurde 5 min gekocht und dann 10 min mit 10000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde als Cell-Free Elicitor Preparation (CFEP) betrachtet. Eine Harpin_{pss}-Lösung mit 20 und 50 µg/ml wurde mit dem gleichen Puffer, der zur Herstellung der Zellsuspension verwendet wurde, hergestellt. CFEP, die aus dem gleichen Stamm, der das gleiche Plasmid, jedoch ohne das *hrpZ*-Gen enthielt, hergestellt wurde, wurde als das Material für die Kontrollbehandlung verwendet.

[0112] Das Netzmittel Pinene II (Drexel Chemical Co., Memphis, Tenn.) wurde mit der Konzentration von 0,1% zu der Harpin_{pss}-Lösung gegeben, und dann wurde Harpin_{pss} auf die Tomatenpflanze gesprüht, bis es ab lief.

[0113] Die Tabelle 51 zeigt, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Harpin_{pss}-Behandlungsgruppen und der Kontrollgruppe bestand. Mit Harpin_{pss} behandelte Tomaten nahmen um mehr als 10% an Höhe zu. Die Daten belegen den Anspruch, dass Harpin_{pss} in ähnlicher Weise wie das eine hypersensible Reaktion auslösende Mittel von *Erwinia amylovora* insofern wirkt, als es bei Applikation auf Tomaten und viele andere Pflanzenarten eine Wachstumsverstärkungswirkung zeigt. Zusätzlich zu einer signifikanten Erhöhung des Tomatengewichts zeigten mit Harpin_{pss} behandelte Tomaten mehr Biomasse, große Blätter, frühe Blütenbildung und ein insgesamt gesünderes Aussehen.

Tabelle 51 – Harpin_{pss} verstärkt das Wachstum von Tomatenpflanzen

Behandlung	Pflanzenhöhe (cm ¹)		
	Tag 0	Tag 10	Tag 30
CFEP-Kontrolle	8,5 ² (0,87) a ³	23,9 (1,90) a	68,2 (8,60) a
Harpin _{pss} 20 µg/ml	8,8 (0,98) a	27,3 (1,75) b	74,2 (6,38) b
Harpin _{pss} 50 µg/ml	8,8 (1,13) a	26,8 (2,31) b	75,4 (6,30) b

¹ Die wurde auf 0,5 cm genau ermittelt. Der Tag 0 bezeichnet den Tag, an dem die Anfangspflanzenhöhen aufgezeichnet wurden und die erste Applikation durchgeführt wurde.

² Angegeben sind die Mittelwerte mit der Standardabweichung in Klammern (n = 20 für alle Behandlungsgruppen).

³ Verschiedene Buchstaben (a und b) bezeichnen signifikante Unterschiede (P 0,05) der Mittelwerte. Die Unterschiede wurden mittels ANOVA und anschließend Fisher-LSD bewertet.

[0114] Obwohl die Erfindung zum Zweck der Erläuterung detailliert beschrieben wurde, ist selbstverständlich, dass die Einzelheiten nur für diesen Zweck gelten und Variationen hierbei vom Fachmann ohne Abweichen von der Idee und dem Umfang der Erfindung, die durch die folgenden Ansprüche definiert ist, durchgeführt werden können.

Sequenzprotokoll

(1) Allgemeine Angaben:

- (i) Anmelder: Cornell Research Foundation, Inc.
- (ii) Bezeichnung der Erfindung: Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen
- (iii) Anzahl der Sequenzen: 10
- (iv) Korrespondenzadresse:
 - (A) Adressat: Nixon, Hargrave, Devans & Doyle LLP
 - (B) Straße: Clinton Square, Postfach 1051
 - (C) Stadt: Rochester
 - (D) Staat: New York
 - (E) Land: USA
 - (F) ZIP: 14603
- (v) Computerlesbare Fassung:
 - (A) Datenträger: Diskette
 - (B) Computer: IBM-PC-kompatibel
 - (C) Betriebssystem: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) Software: PatentIn Release 1.0, Version 1.30
- (vi) Daten der jetzigen Anmeldung:
 - (A) Anmeldenummer:
 - (B) Anmeldetag:
 - (C) Klassifikation:
- (vii) Daten der früheren Anmeldung:
 - (A) Anmeldenummer: US 60/036 048
 - (B) Anmeldetag: 27. Januar 1997
- (viii) Angaben zu Anwalt/Vertreter:
 - (A) Name: Michael L. Goldman
 - (B) Registrierungsnummer: 30 727
 - (C) Aktenzeichen: 19603/1502
- (ix) Telekommunikationsangaben:
 - (A) Telefon: (716) 263-1304
 - (B) Telefax: (716) 263-1600

(2) Angaben zu SEQ ID No. 1:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 338 Aminosäuren

- (B) Art: Aminosäure
- (C) Strangform:
- (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: Protein
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 1:

Met Gln Ile Thr Ile Lys Ala His Ile Gly Gly Asp Leu Gly Val Ser
 1 5 10 15

Gly Leu Gly Ala Gln Gly Leu Lys Gly Leu Asn Ser Ala Ala Ser Ser
 20 25 30

Leu Gly Ser Ser Val Asp Lys Leu Ser Ser Thr Ile Asp Lys Leu Thr
 35 40 45

Ser Ala Leu Thr Ser Met Met Phe Gly Gly Ala Leu Ala Gln Gly Leu
 50 55 60

Gly Ala Ser Ser Lys Gly Leu Gly Met Ser Asn Gln Leu Gly Gln Ser
 65 70 75 80

Phe Gly Asn Gly Ala Gln Gly Ala Ser Asn Leu Leu Ser Val Pro Lys
 85 90 95

Ser Gly Gly Asp Ala Leu Ser Lys Met Phe Asp Lys Ala Leu Asp Asp
 100 105 110

Leu Leu Gly His Asp Thr Val Thr Lys Leu Thr Asn Gln Ser Asn Gln
 115 120 125

Leu Ala Asn Ser Met Leu Asn Ala Ser Gln Met Thr Gln Gly Asn Met
 130 135 140

Asn Ala Phe Gly Ser Gly Val Asn Asn Ala Leu Ser Ser Ile Leu Gly
 145 150 155 160

Asn Gly Leu Gly Gln Ser Met Ser Gly Phe Ser Gln Pro Ser Leu Gly
 165 170 175

Ala Gly Gly Leu Gln Gly Leu Ser Gly Ala Gly Ala Phe Asn Gln Leu
 180 185 190

Gly Asn Ala Ile Gly Met Gly Val Gly Gln Asn Ala Ala Leu Ser Ala
 195 200 205

Leu Ser Asn Val Ser Thr His Val Asp Gly Asn Asn Arg His Phe Val
 210 215 220

Asp Lys Glu Asp Arg Gly Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met Asp
 225 230 235 240

Gln Tyr Pro Glu Ile Phe Gly Lys Pro Glu Tyr Gln Lys Asp Gly Trp
 245 250 255

Ser Ser Pro Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser Lys
 260 265 270

Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Gly Ala Ser Met Asp Lys Phe Arg Gln
 275 280 285

Ala Met Gly Met Ile Lys Ser Ala Val Ala Gly Asp Thr Gly Asn Thr
 290 295 300

Asn	Leu	Asn	Leu	Arg	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Ser	Leu	Gly	Ile	Asp	Ala
305				310					315					320	
Ala	Val	Val	Gly	Asp	Lys	Ile	Ala	Asn	Met	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Ala
	325				330					335					

Asn Ala

(2) Angaben zu SEQ ID No. 2:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 2141 Basenpaare
 - (B) Art: Nucleinsäure
 - (C) Strangform: Einzelstrang
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: DNA (genomisch)
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 2:

CGATTTCACC	CGGGTGAACG	TGCTATGACC	GACAGCATCA	CGGTATTGCA	CACCGTTACG	60
GCGTTTATGG	CCGCGATGAA	CCGGCATCAG	GCGGCCGCGCT	GGTCGCCGCA	ATCCGGCGTC	120
GATCTGGTAT	TTCAGTTGG	GGACACCGGG	CGTGAACCTCA	TGATGCAGAT	TCAGCCGGGG	180
CAGCAATATC	CCGGCATGTT	GCGCACGCTG	CTCGCTCGTC	GTTATCAGCA	GGCGGCAGAG	240
TGCGATGGCT	GCCATCTGTG	CCTGAACGGC	AGCGATGTAT	TGATCCTCTG	GTGGCCGCTG	300
CCGTCGGATC	CCGGCAGTTA	TCCGCAGGTG	ATCGAACGTT	TGTTTGAACT	GGCGGGAATG	360
ACGTTGCCGT	CGCTATCCAT	AGCACCGACG	GCGCGTCCGC	AGACAGGGAA	CGGACGCGCC	420
CGATCATTAA	GATAAAGGCG	GCTTTTTTA	TTGCAAACAG	GTAACGGTGA	GGAACCGTT	480
CACCGTCGGC	GTCACTCAGT	AACAAGTATC	CATCATGATG	CCTACATCGG	GATCGCGCTG	540
GGCATCCGTT	GCAGATACTT	TTGCGAACAC	CTGACATGAA	TGAGGAAACG	AAATTATGCA	600
AATTACGATC	AAAGCGACA	TCGGCGGTGA	TTTGGCGTC	TCCGGTCTGG	GGCTGGGTGC	660
TCAGGGACTG	AAAGGACTGA	ATTCCGCGGC	TTCATCGCTG	GGTCCAGCG	TGGATAAACT	720
GAGCAGCACC	ATCGATAAGT	TGACCTCCGC	GCTGACTTCG	ATGATGTTG	GCGCGCGCT	780
GGCGCAGGGG	CTGGCGCCA	GCTCGAAGGG	GCTGGGGATG	AGCAATCAAC	TGGGCCAGTC	840
TTTCGGCAAT	GGCGCGCAGG	GTGCGAGCAA	CCTGCTATCC	GTACCGAAAT	CCGGCGGCCGA	900
TGCGTTGTCA	AAAATGTTG	ATAAAGCGCT	GGACGATCTG	CTGGGTCTAG	ACACCGTGAC	960
CAAGCTGACT	AACCAGAGCA	ACCAACTGGC	TAATTCAATG	CTGAACGCCA	GCCAGATGAC	1020
CCAGGGTAAT	ATGAATGCGT	TCGGCAGCGG	TGTGAACAAAC	GCACTGTCGT	CCATTCTCGG	1080
CAACGGTCTC	GGCCAGTCGA	TGAGTGGCTT	CTCTCAGCCT	TCTCTGGGGG	CAGGGGGCTT	1140

GCAGGGCCTG AGCGGCCGCGG GTGCATTCAA CCAGTTGGGT AATGCCATCG GCATGGCGT	1200
GGGGCAGAAT GCTGCGCTGA GTGCGTTGAG TAACGTCAGC ACCCACGTAG ACGGTAACAA	1260
CCGCCACTTT GTAGATAAAAG AAGATCGCGG CATGGCGAAA GAGATCGGCC AGTTTATGGA	1320
TCAAGTATCCG GAAATATTCTG GTAAACCAGGA ATACCAGAAA GATGGCTGGA GTTCGCCGAA	1380
GACGGACGAC AAATCCTGGG CTAAAGCGCT GAGTAAACCG GATGATGACG GTATGACCGG	1440
CGCCAGCATG GACAAATTCC GTCAGGCATG GGGTATGATC AAAAGCGCGG TGGCGGGTGA	1500
TACCGGCAAT ACCAACCTGA ACCTGCGTGG CGCGGGCGGT GCATCGCTGG GTATCGATGC	1560
GGCTGTCGTC GGCGATAAAA TAGCCAACAT GTCGCTGGGT AAGCTGGCCA ACGCCTGATA	1620
ATCTGTGCTG GCCTGATAAA GCGGAAACGA AAAAAGAGAC GGGGAAGCCT GTCTCTTTTC	1680
TTATTATGCG GTTTATGCGG TTACCTGGAC CGGTTAACATCA TCGTCATCGA TCTGGTACAA	1740
ACGCACATTT TCCC GTTCAT TCGCGTCGTT ACGCGCCACA ATCGCGATGG CATCTTCCTC	1800
GTCGCTCAGA TTGCGCGGCT GATGGGAAAC GCCGGGTGGA ATATAGAGAA ACTCGCCGGC	1860
CAGATGGAGA CACGTCTGCG ATAAATCTGT GCCGTAACGT GTTTCTATCC GCCCCTTTAG	1920
CAGATAGATT GCGGTTTCGT AATCAACATG GTAATGCGGT TCCGCCTGTG CGCCGGCCGG	1980
GATCACCACA ATATTCAATAG AAAGCTGTCT TGACACCTACC GTATCGCGGG AGATACCGAC	2040
AAAAATAGGGC AGTTTTGCG TGGTATCCGT GGGGTGTTCC GGCCTGACAA TCTTGAGTTG	2100
GTTCGTCATC ATCTTTCTCC ATCTGGCGA CCTGATCGGT T	2141

(2) Angaben zu SEQ ID No. 3:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 403 Aminosäuren
 - (B) Art: Aminosäure
 - (C) Strangform:
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: Protein
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 3:

Met Ser Leu Asn Thr Ser Gly Leu Gly Ala Ser Thr Met Gln Ile Ser
 1 5 10 15

Ile Gly Gly Ala Gly Gly Asn Asn Gly Leu Leu Gly Thr Ser Arg Gln
 20 25 30

Asn Ala Gly Leu Gly Gly Asn Ser Ala Leu Gly Leu Gly Gly Asn
 35 40 45

Gln Asn Asp Thr Val Asn Gln Leu Ala Gly Leu Leu Thr Gly Met Met
 50 55 60

Met Met Met Ser Met Met Gly Gly Gly Leu Met Gly Gly Gly Leu
 65 70 . 75 80

Gly Gly Gly Leu Gly Asn Gly Leu Gly Gly Ser Gly Gly Leu Gly Glu
 85 90 95

Gly Leu Ser Asn Ala Leu Asn Asp Met Leu Gly Gly Ser Leu Asn Thr
 100 105 110

Leu Gly Ser Lys Gly Gly Asn Asn Thr Thr Ser Thr Thr Asn Ser Pro
 115 120 125

Leu Asp Gln Ala Leu Gly Ile Asn Ser Thr Ser Gln Asn Asp Asp Ser
 130 135 140

Thr Ser Gly Thr Asp Ser Thr Ser Asp Ser Ser Asp Pro Met Gln Gln
 145 150 155 160

Leu Leu Lys Met Phe Ser Glu Ile Met Gln Ser Leu Phe Gly Asp Gly
 165 170 175

Gln Asp Gly Thr Gln Gly Ser Ser Gly Gly Lys Gln Pro Thr Glu
 180 185 190

Gly Glu Gln Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Val Thr Asp Ala Leu Ser Gly
 195 200 205

Leu Met Gly Asn Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly
 210 215 220

Gly Gly Gln Gly Gly Asn Ala Gly Thr Gly Leu Asp Gly Ser Ser Leu
 225 230 235 240

Gly Gly Lys Gly Leu Gln Asn Leu Ser Gly Pro Val Asp Tyr Gln Gln
 245 250 255

Leu Gly Asn Ala Val Gly Thr Gly Ile Gly Met Lys Ala Gly Ile Gln
 260 265 270

Ala Leu Asn Asp Ile Gly Thr His Arg His Ser Ser Thr Arg Ser Phe
 275 280 285

Val Asn Lys Gly Asp Arg Ala Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met
 290 295 300

Asp Gln Tyr Pro Glu Val Phe Gly Lys Pro Gln Tyr Gln Lys Gly Pro
 305 310 315 320

Gly Gln Glu Val Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser
 325 330 335

Lys Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Pro Ala Ser Met Glu Gln Phe Asn
 340 345 350

Lys Ala Lys Gly Met Ile Lys Arg Pro Met Ala Gly Asp Thr Gly Asn
 355 360 365

Gly Asn Leu Gln Ala Arg Gly Ala Gly Gly Ser Ser Leu Gly Ile Asp
 370 375 380

Ala Met Met Ala Gly Asp Ala Ile Asn Asn Met Ala Leu Gly Lys Leu
 385 390 395 400

Gly Ala Ala

(2) Angaben zu SEQ ID No. 4:

(i) Sequenzeigenschaften:

- (A) Länge: 1288 Basenpaare
- (B) Art: Nucleinsäure
- (C) Strangform: Einzelstrang
- (D) Topologie: linear

(ii) Art des Moleküls: DNA (genomisch)

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 4:

AAGCTTCGGC ATGGCACGTT TGACCGTTGG GTCGGCAGGG TACGTTGAA TTATTCATAA	60
GAGGAATACG TTATGAGTCT GAATACAAGT GGGCTGGGAG CGTCAACGAT GCAAATTCT	120
ATCGGCGGTG CGGGCGGAAA TAACGGGTTG CTGGGTACCA GTGCCAGAA TGCTGGGTTG	180
GGTGGCAATT CTGCACTGGG GCTGGCGGC GGTAATCAAA ATGATACCGT CAATCAGCTG	240
GCTGGCTTAC TCACCGGCAT GATGATGATG ATGAGCATGA TGGGCGGTGG TGGGCTGATG	300
GGCGGTGGCT TAGGCGGTGG CTTAGGTAAT GGCTTGGGTG GCTCAGGTGG CCTGGCGAA	360
GGACTGTCGA ACGCGCTGAA CGATATGTTA GGCGGTTCGC TGAACACGCT GGGCTCGAAA	420
GGCGGCAACA ATACCACCTTC AACAAACAAAT TCCCCGCTGG ACCAGGGCCT GGGTATTAAC	480
TCAACGTCCC AAAACGACGA TTCCACCTCC GGCACAGATT CCACCTCAGA CTCCAGCGAC	540
CCGATGCAGC AGCTGCTGAA GATGTTCAGC GAGATAATGC AAAGCCTGTT TGGTGATGGG	600
CAAGATGGCA CCCAGGGCAG TTCCTCTGGG GGCAAGCAGC CGACCGAAGG CGAGCAGAAC	660
GCCTATAAAA AAGGAGTCAC TGATGCGCTG TCAGGGCCTGA TGGGTAATGG TCTGAGCCAG	720
CTCCTTGGCA ACGGGGGACT GGGAGGTGGT CAGGGCGGTAA ATGCTGGCAC GGGTCTTGAC	780
GGTTCGTCGC TGGGCGGCAA AGGGCTGCAA AACCTGAGCG GGCCGGTGGAA CTACCAGCAG	840
TTAGGTAACG CCGTGGGTAC CGGTATCGGT ATGAAAGCGG GCATTCAAGGC GCTGAATGAT	900
ATCGGTACGC ACAGGCACAG TTCAACCCGT TCTTCGTCA ATAAAGGCGA TCAGGGCGATG	960
CGCAAGGAAA TCGGTCAAGTT CATGGACCAAG TATCCTGAGG TGTTTGGCAA GCCCGAGTAC	1020
CAGAAAGGCC CGGGTCAGGA GGTAAAACC GATGACAAAT CATGGGCAAA AGCACTGAGC	1080
AAGCCAGATG ACGACGGAAT GACACCAGCC AGTATGGAGC AGTTCAACAA AGCCAAGGGC	1140
ATGATCAAAA GGCCCATGGC GGGTGATACC GGCAACGGCA ACCTGCAGGC ACGCGGTGCC	1200
GGTGGTTCTT CGCTGGGTAT TGATGCCATG ATGGCCGGTG ATGCCATTAA CAATATGGCA	1260
CTTGGCAAGC TGGGCGCGGC TTAAGCTT	1288

(2) Angaben zu SEQ ID No. 5:

(i) Sequenzeigenschaften:

- (A) Länge: 341 Aminosäuren
- (B) Art: Aminosäure
- (C) Strangform:
- (D) Topologie: linear

(ii) Art des Moleküls: Protein

(xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 5:

Met	Gln	Ser	Leu	Ser	Leu	Asn	Ser	Ser	Ser	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Met
1															15
Ala	Leu	Val	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Thr	Thr	Gly	Ser	Thr	Ser
															30
Ser	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Val	Val	Val	Lys	Leu	Ala	Glu	Glu	Leu	Met
															45
Arg	Asn	Gly	Gln	Leu	Asp	Asp	Ser	Ser	Pro	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Ala
															50
Lys	Ser	Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Lys	Ala	Gly	Gly	Ile	Glu	Asp	Val	
															80
Ile	Ala	Ala	Leu	Asp	Lys	Leu	Ile	His	Glu	Lys	Leu	Gly	Asp	Asn	Phe
															95
Gly	Ala	Ser	Ala	Asp	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Gly	Gln	Gln	Asp	Leu	Met
															100
Thr	Gln	Val	Leu	Asn	Gly	Leu	Ala	Lys	Ser	Met	Leu	Asp	Asp	Leu	Leu
															115
Thr	Lys	Gln	Asp	Gly	Gly	Thr	Ser	Phe	Ser	Glu	Asp	Asp	Met	Pro	Met
															130
Leu	Asn	Lys	Ile	Ala	Gln	Phe	Met	Asp	Asp	Asn	Pro	Ala	Gln	Phe	Pro
															145
Lys	Pro	Asp	Ser	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Glu	Leu	Lys	Glu	Asp	Asn	Phe
															165
Leu	Asp	Gly	Asp	Glu	Thr	Ala	Ala	Phe	Arg	Ser	Ala	Leu	Asp	Ile	Ile
															180
Gly	Gln	Gln	Leu	Gly	Asn	Gln	Gln	Ser	Asp	Ala	Gly	Ser	Leu	Ala	Gly
															195
Thr	Gly	Gly	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Phe	Ser	Asn	Asn	Ser	Ser
															210
Val	Met	Gly	Asp	Pro	Leu	Ile	Asp	Ala	Asn	Thr	Gly	Pro	Gly	Asp	Ser
															225
Gly	Asn	Thr	Arg	Gly	Glu	Ala	Gly	Gln	Leu	Ile	Gly	Glu	Leu	Ile	Asp
															245

Arg Gly Leu Gln Ser Val Leu Ala Gly Gly Gly Leu Gly Thr Pro Val
 260 265 270
 Asn Thr Pro Gln Thr Gly Thr Ser Ala Asn Gly Gly Gln Ser Ala Gln
 275 280 285
 Asp Leu Asp Gln Leu Leu Gly Gly Leu Leu Leu Lys Gly Leu Glu Ala
 290 295 300
 Thr Leu Lys Asp Ala Gly Gln Thr Gly Thr Asp Val Gln Ser Ser Ala
 305 310 315 320
 Ala Gln Ile Ala Thr Leu Leu Val Ser Thr Leu Leu Gln Gly Thr Arg
 325 330 335
 Asn Gln Ala Ala Ala
 340

(2) Angaben zu SEQ ID No. 6:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 1026 Basenpaare
 - (B) Art: Nucleinsäure
 - (C) Strangform: Einzelstrang
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: DNA (genomisch)
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 6:

ATGCAGAGTC TCAGTCTTAA CAGCAGCTCG CTGCAAACCC CGGCAATGGC CCTTGTCTG	60
GTACGTCCTG AAGCCGAGAC GACTGGCAGT ACGTCGAGCA AGGCGCTTC GGAAGTTGTC	120
GTGAAGCTGG CCGAGGAACG GATGCGCAAT GGTCAACTCG ACGACAGCTC GCCATTGGGA	180
AAACTGTTGG CCAAGTCGAT GGCCCGAGAT GGCAAGGCGG GCGGCGGTAT TGAGGATGTC	240
ATCGCTGCGC TGGACAAGCT GATCCATGAA AAGCTCGGTG ACAACTTCGG CGCGTCTGCG	300
GACAGCGCCT CGGGTACCGG ACAGCAGGAC CTGATGACTC AGGTGCTCAA TGGCCTGGCC	360
AAGTCGATGC TCGATGATCT TCTGACCAAG CAGGATGGCG GGACAAGCTT CTCCGAAGAC	420
GATATGCCGA TGCTGAACAA GATCGCGCAG TTCATGGATG ACAATCCCAC ACAGTTTCCC	480
AAGCCGGACT CGGGCTCCTG GGTGAACGAA CTCAGGAAG ACAACTTCCT TGATGGCGAC	540
GAAACGGCTG CGTTCCGTTG GGCACCTCGAC ATCATTGGCC AGCAACTGGG TAATCAGCAG	600
AGTGACGCTG GCAGTCTGGC AGGGACGGGT GGAGGTCTGG GCACTCCGAG CAGTTTTCC	660
AACAACTCGT CCGTGATGGG TGATCCGCTG ATCGACGCCA ATACCGGTCC CGGTGACAGC	720
GGCAATACCC GTGGTGAAGC GGGGCAACTG ATCGGCGAGC TTATCGACCG TGGCCTGCAA	780
TCGGTATTGG CCGGTGGTGG ACTGGGCACA CCCGTAAACA CCCCCGAGAC CGGTACGTCG	840

GCGAATGGCG GACAGTCCGC TCAGGATCTT GATCAGTTGC TGGGCGGCTT GCTGCTCAAG	900
GGCCTGGAGG CAACGCTCAA GGATGCCGGG CAAACAGGCA CCGACGTGCA GTCGAGCGCT	960
GCGCAAATCG CCACCTTGCT GGTCAGTACG CTGCTGCAAG GCACCCGCAA TCAGGCTGCA	1020
GCCTGA	1026

(2) Angaben zu SEQ ID No. 7:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 344 Aminosäuren
 - (B) Art: Aminosäure
 - (C) Strangform:
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: Protein
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 7:

```

Met Ser Val Gly Asn Ile Gln Ser Pro Ser Asn Leu Pro Gly Leu Gln
1           5                   10                  15

Asn Leu Asn Leu Asn Thr Asn Thr Asn Ser Gln Gln Ser Gly Gln Ser
20          25                   30

Val Gln Asp Leu Ile Lys Gln Val Glu Lys Asp Ile Leu Asn Ile Ile
35          40                   45

Ala Ala Leu Val Gln Lys Ala Ala Gln Ser Ala Gly Gly Asn Thr Gly
50          55                   60

Asn Thr Gly Asn Ala Pro Ala Lys Asp Gly Asn Ala Asn Ala Gly Ala
65          70                   75                  80

Asn Asp Pro Ser Lys Asn Asp Pro Ser Lys Ser Gln Ala Pro Gln Ser
85          90                   95

Ala Asn Lys Thr Gly Asn Val Asp Asp Ala Asn Asn Gln Asp Pro Met
100         105                  110

Gln Ala Leu Met Gln Leu Leu Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Lys Ala
115         120                  125

Ala Leu His Met Gln Gln Pro Gly Gly Asn Asp Lys Gly Asn Gly Val
130         135                  140

Gly Gly Ala Asn Gly Ala Lys Gly Ala Gly Gly Gln Gly Gly Leu Ala
145         150                  155                  160

Glu Ala Leu Gln Glu Ile Glu Gln Ile Leu Ala Gln Leu Gly Gly Gly
165         170                  175

Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Val Gly Gly Ala Gly Gly
180         185                  190

```

Ala Asp Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Asn Gly Ala
 195 200 205
 Asp Gly Gly Asn Gly Val Asn Gly Asn Gln Ala Asn Gly Pro Gln Asn
 210 215 220
 Ala Gly Asp Val Asn Gly Ala Asn Gly Ala Asp Asp Gly Ser Glu Asp
 225 230 235 240
 Gln Gly Gly Leu Thr Gly Val Leu Gln Lys Leu Met Lys Ile Leu Asn
 245 250 255
 Ala Leu Val Gln Met Met Gln Gln Gly Gly Leu Gly Gly Asn Gln
 260 265 270
 Ala Gln Gly Gly Ser Lys Gly Ala Gly Asn Ala Ser Pro Ala Ser Gly
 275 280 285
 Ala Asn Pro Gly Ala Asn Gln Pro Gly Ser Ala Asp Asp Gln Ser Ser
 290 295 300
 Gly Gln Asn Asn Leu Gln Ser Gln Ile Met Asp Val Val Lys Glu Val
 305 310 315 320
 Val Gln Ile Leu Gln Gln Met Leu Ala Ala Gln Asn Gly Gly Ser Gln
 325 330 335
 Gln Ser Thr Ser Thr Gln Pro Met
 340

(2) Angaben zu SEQ ID No. 8:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 1035 Basenpaare
 - (B) Art: Nucleinsäure
 - (C) Strangform: Einzelstrang
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: DNA (genomisch)
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 8:

ATGTCAGTCG GAAACATCCA GAGCCCGTCG AACCTCCGG GTCTGCAGAA CCTGAACCTC	60
AACACCAACA CCAACAGCCA GCAATCGGGC CAGTCCGTGC AAGACCTGAT CAAGCAGGTC	120
GAGAAGGACA TCCTCACCAT CATCGCAGCC CTCGTGCAGA AGGCCGCACA GTCGGCGGGC	180
GGCAACACCG GTAACACCGG CAACGCGCCG GCGAAGGACG GCAATGCCAA CGCGGGCGCC	240
AACGACCCGA GCAAGAACGA CCCGAGCAAG AGCCAGGCTC CGCAGTCGGC CAACAAGACC	300
GGCAACGTCG ACGACGCCAA CAACCAGGAT CCGATGCAAG CGCTGATGCA GCTGCTGGAA	360
GACCTGGTGA AGCTGCTGAA GGCGGCCCTG CACATGCAGC AGCCCCGGCGG CAATGACAAG	420
GGCAACGGCG TGGGCGGTGC CAACGGCGCC AAGGGTGCCG GCGGCCAGGG CGGCCTGGCC	480

GAAGCGCTGC AGGAGATCGA GCAGATCCTC GCCCCAGCTCG GCGGCCGG CGGGCGGCC	540
GGCGGCCGG GTGGCGGTGT CGGGCGGTGCT GGTGGCGCGG ATGGCGGCTC CGGTGCGGGT	600
GGCGCAGGCG GTGCGAACGG CGCCGACGGC GGCAATGGCG TGAACGGCAA CCAGGCGAAC	660
GGCCCGCAGA ACGCAGGCGA TGTCAACGGT GCCAACGGCG CGGATGACGG CAGCGAAGAC	720
CAGGGCGGCC TCACCGGCGT GCTGCAAAAG CTGATGAAGA TCCTGAACGC GCTGGTGCAG	780
ATGATGCAGC AAGGCGGCCT CGGCGCGGC ACCCAGGCAGC AGGGCGGCTC GAAGGGTGCC	840
GGCAACGCCT CGCCGGCTTC CGGCGCGAAC CGGGCGCGA ACCAGCCCAG TTCGGCGGAT	900
GATCAATCGT CCGGCCAGAA CAATCTGCAA TCCCAGATCA TGGATGTGGT GAAGGGAGCTC	960
GTCCAGATCC TGCAGCAGAT GCTGGCGCG CAGAACGGCG GCAGCCAGCA GTCCACCTCG	1020
ACGCAGCCGA TGTAA	1035

(2) Angaben zu SEQ ID No. 9:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 26 Aminosäuren
 - (B) Art: Aminosäure
 - (C) Strangform:
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: Protein
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 9:

Thr Leu Ile Glu Leu Met Ile Val Val Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala			
1	5	10	15
Ala Ile Ala Leu Pro Ala Tyr Gln Asp Tyr			
20	25		

(2) Angaben zu SEQ ID No. 10:

- (i) Sequenzeigenschaften:
 - (A) Länge: 20 Aminosäuren
 - (B) Art: Aminosäure
 - (C) Strangform:
 - (D) Topologie: linear
- (ii) Art des Moleküls: Protein
- (xi) Sequenzbeschreibung: SEQ ID No. 10:

Ser Ser Gln Gln Ser Pro Ser Ala Gly Ser Glu Gln Gln Leu Asp Gln			
1	5	10	15
Leu Leu Ala Met			
20			

Patentansprüche

1. Verfahren zur Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen, das die Applikation eines Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in einer nicht-infektiösen Form auf eine Pflanze oder einen Pflanzensamen unter Bedingungen, die zur Verstärkung des Wachstums der Pflanze oder von aus dem Pflanzensamen gewachsenen Pflanzen wirksam sind, umfasst.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei während der Applikation, die mittels Besprühen, Injektion oder Blatabtrieb an einem Zeitpunkt, der nahe dem Zeitpunkt liegt, an dem die Applikation stattfindet, erfolgt, Pflanzen behandelt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei während der Applikation, die mittels Besprühen, Injektion, Überziehen, Bestäuben oder Eintauchen erfolgt, Pflanzensamen behandelt werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels als eine Zusammensetzung, die ferner einen Träger umfasst, auf Pflanzen oder Pflanzensamen appliziert wird.
5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei der Träger aus der aus Wasser, wässrigen Lösungen, Aufschlammungen und Pulvern bestehenden Gruppe ausgewählt ist.
6. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Zusammensetzung mehr als 0,5 nM des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels enthält.
7. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Zusammensetzung ferner Additive enthält, die aus der aus einem Kunstdünger, Insektizid, Fungizid, Nematizid und Gemischen derselben bestehenden Gruppe ausgewählt sind.
8. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in isolierter Form vorliegt.
9. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels als Bakterien, die keine Krankheit verursachen und mit einem Gen mit Codierung für das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert sind, appliziert wird.
10. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels als Bakterien, die bei einigen Pflanzenarten, jedoch nicht bei den der Applikation unterzogenen eine Krankheit verursachen und die ein Gen mit Codierung für das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels enthalten, appliziert wird.
11. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Applikation eine Infiltration des Polypeptids oder Proteins in die Pflanze bewirkt.
12. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Applikation eine größere Pflanzenhöhe, größere Ausbeute oder frühere Reifung bewirkt.
13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei während der Applikation Pflanzen behandelt werden.
14. Verfahren nach Anspruch 12, wobei während der Applikation Pflanzensamen behandelt werden, wobei das Verfahren ferner das Setzen der mit dem eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittel behandelten Samen in natürliche oder künstliche Erde und das Züchten der Pflanzen aus den in die Erde gesetzten Samen umfasst.
15. Verfahren nach Anspruch 1, wobei während der Applikation Pflanzensamen behandelt werden, um die Pflanzensamenmengen, die keimen, zu erhöhen, wobei das Verfahren ferner das Setzen der mit dem Protein oder Polypeptid eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels behandelten Samen in natürliche oder künstliche Erde und das Züchten von Pflanzen aus den in die Erde gesetzten Samen umfasst.
16. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Applikation eine frühere Keimung oder frühere Frucht- und Pflanzenfärbung bewirkt.

17. Verfahren nach Anspruch 16, wobei während der Applikation Pflanzensamen behandelt werden, wobei das Verfahren ferner das Setzen der mit dem Protein oder Polypeptid eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels behandelten Samen in natürliche oder künstliche Erde und das Züchten von Pflanzen aus den in die Erde gesetzten Samen umfasst.

18. Verfahren nach Anspruch 1, wobei während der Applikation Pflanzensamen behandelt werden, wobei das Verfahren ferner das Setzen der mit dem Protein oder Polypeptid eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels behandelten Samen in natürliche oder künstliche Erde und das Züchten von Pflanzen aus den in die Erde gesetzten Samen umfasst.

19. Verfahren nach Anspruch 18, das ferner die Applikation des Proteins oder Polypeptids eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels in einer nicht-infektiösen Form auf die gezüchteten Pflanzen zur weiteren Verstärkung des Wachstums umfasst.

20. Verfahren zur Verstärkung des Wachstums bei Pflanzen, das umfasst:
das Bereitstellen einer transgenen Pflanze oder von transgenen Pflanzensamen, die mit einem DNA-Molekül mit Codierung für ein Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels transformiert sind, und
das Wachsenlassen der transgenen Pflanzen oder der aus den transgenen Pflanzensamen produzierten transgenen Pflanzen unter Bedingungen, die zur Verstärkung des Pflanzenwachstums wirksam sind.

21. Verfahren nach Anspruch 1 oder 20, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels einem entspricht, das von einem Pathogen abgeleitet ist, das aus der aus *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Phytophthora* und Gemischen derselben bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

22. Verfahren nach Anspruch 21, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels einem entspricht, das von *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas solanacearum*, *Xanthomonas campestris* oder einer *Phytophthora*-Art abgeleitet ist.

23. Verfahren nach Anspruch 1 oder 20, wobei die Pflanze aus der aus Dikotylen und Monokotylen bestehenden Gruppe ausgewählt ist.

24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Pflanze aus der Gruppe von Reis, Weizen, Hafer, Roggen, Baumwolle, Sonnenblume, Erdnuss, Mais, Kartoffel, Süßkartoffel, Bohne, Erbse, Chicoree, Kopfsalat, Endivien, Kohl, Blumenkohl, Brokkoli, Kohlrübe, Rettich, Spinat, Zwiebel, Knoblauch, Aubergine, Paprika, Sellerie, Karotte, Turbanskürbis, Kürbis, Zucchini, Gurke, Apfel, Birne, Melone, Erdbeere, Weintraube, Himbeere, Ananas, Sojabohne, Tabak, Tomate, Sorghum, Zuckerrohr, Rose, Saintpaulia, Petunie, Pelargonie, Poinsettia, Chrysantheme, Gartennelke und Zinnie ausgewählt ist.

25. Verfahren nach Anspruch 20, wobei eine transgene Pflanze oder ein transgener Samen bereitgestellt wird.

26. Verfahren nach Anspruch 20, das ferner die Applikation des Polypeptids oder Proteins eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels auf die gezüchteten Pflanzen zur Verstärkung des Wachstums der Pflanze umfasst.

27. Verfahren nach Anspruch 22, wobei das Polypeptid oder Protein eines eine hypersensible Reaktion auslösenden Mittels dem von *Erwinia amylovora* abgeleiteten entspricht.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

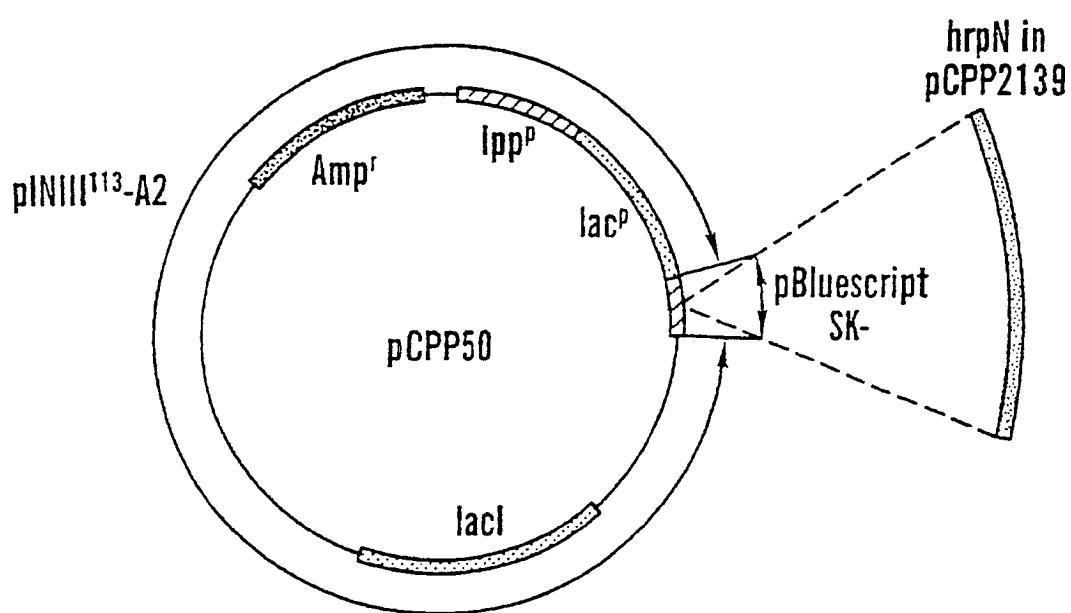


FIG. 1

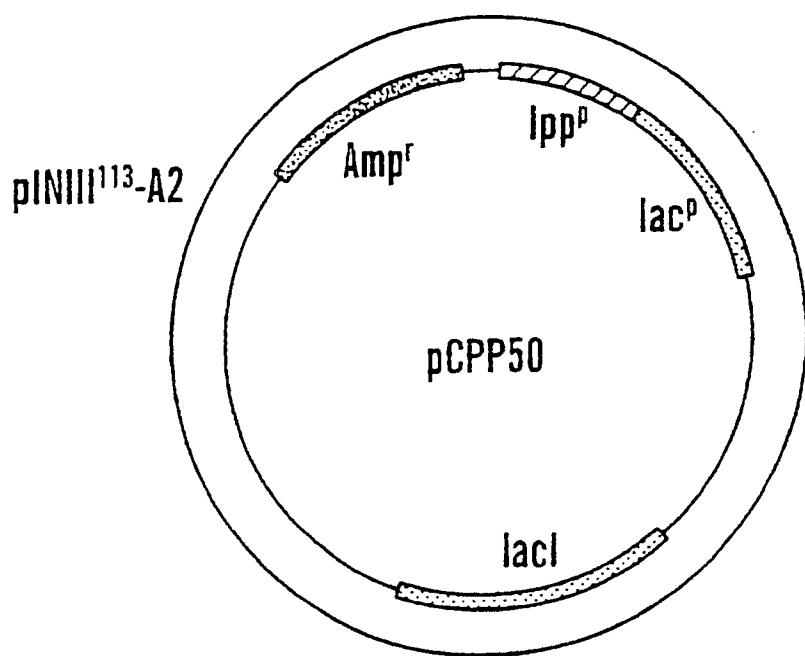


FIG. 2