

**DEBRECENI EGYETEM, AGRÁRTUDOMÁNYI CENTRUM,
MEZŐGAZDASÁGTUDOMÁNYI KAR, MEZŐGAZDASÁGI NÖVÉNYTANI
ÉS NÖVÉNYÉLETTANI TANSZÉK**



**NÖVÉNYTERMESZTÉSI ÉS KERTÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI
ISKOLA**

A Doktori Iskola vezetője: Dr. Ruzsányi László egyetemi tanár, MTA doktor

Témavezető: Dr. Pethő Menyhért egyetemi tanár, a biológiai tudomány kandidátusa

Ph.D. Értekezés

**A CIKLIKUS HIDROXÁMSAVAK BIOLÓGIAI HATÁSAI, SZEREPÜK A
MIKROELEM-FELVÉTELLEN ÉS A MIKROELEM-TOLERANCIÁBAN**

Szerző: Makleit Péter

Debrecen, 2002.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	6
2.1. A ciklikus hidroxámsavak általános jellemzése	6
2.2. A hidroxámsavak fémkomplexei	11
2.2.1. A ciklikus hidroxámsavak fémkomplexei	11
2.2.2. A nem ciklikus hidroxámsavak fémkomplexei	13
2.3. A ciklikus hidroxámsavak laboratóriumi szintézise	14
2.4. A ciklikus hidroxámsavak előfordulása és mennyisége a növényekben	14
2.5. A ciklikus hidroxámsavak bioszintézise és annak genetikai lokalizáltsága	18
2.6. A ciklikus hidroxámsavak biológiai hatásai	23
2.6.1. Lehetséges fitosziderofor funkció	23
2.6.2. Allelopátiás hatás és fitotoxicitás	25
2.6.3. Rezisztenciafaktor szerep	26
2.6.4. Herbicidek, peszticidek méregtelenítése	28
2.6.5. A ciklikus hidroxámsavak egyéb biológiai hatásai	29
2.6.6. A ciklikus hidroxámsavak biológiai hatásainak okai	30
2.7. Mugineinsav típusú fitoszideroforok	33
2.8. Mikroszervezetek és gombák által kiválasztott szideroforok jellemzői	36
2.9. A ciklikus hidroxámsavak mennyiségi meghatározásának módszerei és növényi mintaelőkészítési eljárások	37
3. Anyag és módszer	41
3.1. Felhasznált növények és fajták	41
3.2. Nevelési körülmények	41
3.3. A GDIBOA és a GDIMBOA izolálása növényi anyagból	45
3.4. A gyökerek által kiválasztott ciklikus hidroxámsavak meghatározásának módszere	46
3.5. A gyökerek által kiválasztott mugineinsav típusú fitoszideroforok meghatározásának módszere	46
3.6. A minták elemtartalmának meghatározása, értékelési módszerek	47
4. Eredmények és értékelésük	49
4.1. Mikroelem-felvétel	49
4.1.1. A ciklikus hidroxámsavak alkalmazása tápoldatos kísérletekben	49

4.1.2. Határozott idejű ciklikus hidroxámsav-glükozidos kezelés hatása az uborka mikroelem-felvételére különböző pH-n	49
4.1.3. Tartósan hidroxámsav-glükozidot tartalmazó tápoldaton nevelt uborkanövények mikroelem-felvétele	55
4.1.4. Tartósan hidroxámsav-glükozidot tartalmazó tápoldaton nevelt kukoricánövények mikroelem-felvétele	57
4.1.5. A bxbx kukoricamutáns jellemzői, mikroelem-felvétele	61
4.1.6. A mikroelem-felvétellel kapcsolatos kísérletek értékelése	66
4.2. Mikroelem-tolerancia	69
4.2.1. A DIBOA-glükozid szerepe az uborka nikkeltoleranciájában	69
4.2.2. A DIBOA-glükozid szerepe az uborka mikroelem-toleranciájában, emelt szintű mikroelem-adagolás mellett	73
4.2.3. A DIMBOA-glükozid szerepe a kukorica mikroelem-toleranciájában, emelt szintű mikroelem-adagolás mellett	80
4.2.4. A mikroelem-toleranciával kapcsolatos kísérletek értékelése	83
4.3. Különböző fajok ciklikus hidroxámsav-kiválasztásának összehasonlítása	85
5. Következtetések, javaslatok	87
6. Összefoglalás	88
Új és újszerű tudományos eredmények	90
Köszönetnyilvánítás	91
Saját publikációk, előadások, posztterek	92
7. Irodalom	93-109

1. BEVEZETÉS

A ciklikus hidroxámsavak elsősorban a *Poaceae* család számos, gazdaságilag jelentős faja által termelt és gyökereiken keresztül kiválasztott másodlagos anyagcseretermékek. Felfedezésük óta, sokrétű biológiai szerepük miatt intenzíven kutatják e vegyületcsoport sajátosságait. NIEMEYER 1988-ban készült összefoglaló cikkének megjelenése óta nem publikáltak olyan munkát, mely e vegyületcsoport sajátosságait összefoglalóan tárgyalná. Magyar nyelven, a ciklikus hidroxámsavak széleskörű biológiai szerepét átfogó munka eddig még nem jelent meg. A jelen munka egyik célkitűzése volt ezért e hiány pótlása és a rendelkezésre álló ismeretanyag összefoglalása. Ehhez közel 60 magyar és idegen nyelvű folyóirat majd 200 publikációját, valamint tudományos dolgozatokat, könyvrészleteket használtam fel. Az adatgyűjtést és feldolgozást a dolgozat elkészítéséhez 2001. februárjában fejeztem be.

A munka másik célkitűzése a ciklikus hidroxámsavak szerepének tisztázása volt a mikroelem-felvételben. A hidroxámsavak fémekkel komplexeket képeznek. A szintetikusan előállított alifás és ciklikus hidroxámsavak e sajátosságait a kémiai analitika és a humán gyógyászat használja fel.

A mikroorganizmusok által termelt hidroxámsavak, melyek között ciklikus vegyületek is vannak, szerepet játszanak a termelő szervezetek vasellátásában, mivel a hidroxámsavak oldatban tartják a ferri ionokat, ezzel megakadályozzák leköttetésüket, a vaskomplexek pedig megfelelő vasforrások. A mikrobiális eredetű hidroxámsavakhoz hasonló funkcióval rendelkeznek a szintén a *Poaceae* család fajai által termelt és kiválasztott, komplexképző sajátosságú mugineinsav típusú vegyületek. E vegyületcsoportról bebizonyosodott, hogy nem csak a vas-, hanem a réz-, cink- és mangánfelvételben is szerepet játszanak.

A ciklikus hidroxámsavaknak a *Poaceae* család egyes fajainak vasfelvételében betöltött szerepe már bizonyítást nyert (PETHŐ, 1994; PETHŐ *et al.* 1997; LÉVAI, 1998; PETHŐ, 2000). A *Poaceae* család növényei tehát különböző, komplexképző sajátosságú vegyülettípust termelhetnek. Előzetes vizsgálatok arra engedtek következtetni, hogy a fajok mugineinsav, valamint ciklikus hidroxámsav típusú vegyületeinek kiválasztása FeCl_3 -adagolás mellett eltérő. A magasabb mugineinsav típusú vegyület-kiválasztású fajok nem, vagy kis mennyiségű ciklikus hidroxámsavat termelnek, míg mugineinsav típusú vegyületeket kis mennyiségben termelő fajok

általában magas ciklikus hidroxámsav-kiválasztással rendelkeznek. A két vegyületcsoport kiválasztásának napi ritmusa is eltér.

Mindezek alapján kutatásaim kezdetén feltételeztem, hogy a ciklikus hidroxámsavak a mugineinsav típusú vegyületekhez és a mikroorganizmusok által termelt hidroxámsavakhoz hasonlóan szerepet játszanak a mikroelem-felvételében. A kísérletekben különböző mikroelemek: vas, réz, cink, mangán és nikkel felvételében betöltött szerepüket kívántam vizsgálni. E mellett vizsgáltam a ciklikus hidroxámsavak szerepét a mikroelem-toleranciában, valamint összehasonlítottam a különböző fajok ciklikus hidroxámsav-kiválasztását.

A ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételben betöltött szerepének tisztázása, mely a szóban forgó vegyületek egy újabb biológiai szerepét testesíti meg, nem csak elméleti, de gyakorlati szempontból is jelentős, és további kérdések felvetését és magyarázatát teszi lehetővé. Az e vegyületeket termelő növényfajok között olyan kultúrnövények vannak, mint a *Triticum aestivum*, *Secale cereale* és *Zea mays*, valamint olyan gyakori gyomnövények, mint az *Agropyron repens*, vagy az *Echinochloa crus-galli*. A termesztett fajok, mint emberi táplálék, élelmiszeripari nyersanyag, vagy takarmány kerülnek felhasználásra. A fajok mikroelem-felvétele meghatározza mikroelem-tartalmukat, így közvetve minőségüket, értéküket. Mind a csökkent, mind a megemelt mikroelem-tartalom káros lehet, hiszen még a zavartalan anyagcseréhez szükséges elemek is potenciálisan toxikusak lehetnek, amennyiben az optimálisnál nagyobb mennyiségben kerülnek felvételre. A mikroelemek hiánya, vagy többlete a tápláléklánc alapját képező növények esetében végül is a végső fogyasztó, az ember szintjén jelentkezik. A nagyobb ciklikus hidroxámsav-kiválasztással rendelkező fajták mikroelem-feltáró képessége nagyobb, melynek különösen azért van jelentősége, mert a nagy termésekkel jelentős mennyiségű mikroelemet vonunk ki, visszapótlásuk pedig nem megoldott. A ciklikus hidroxámsavakat termelő gyomfajok is konkurensei a kultúrnövényeknek. E versengés részleteinek megértéséhez, a gyomfaj versenyképességének magyarázatához hozzá tartozik a hatékonyabb mikroelem-felvétel ismerete. Természetesen a szóban forgó gyomfajok versenyképességét a ciklikus hidroxámsavak allelopátiás hatása fokozza.

Dolgozatom további részében a ciklikus hidroxámsavak megnevezésére számos esetben a cHx rövidítést használom.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A ciklikus hidroxámsavak általános jellemzése

A benzoxazinok oxigént és nitrogént tartalmazó heterociklusos vegyületek. Az oxazin gyűrűben a kettes és négyes helyzetben hidroxil, a hármas helyzetben pedig karbonil csoport található, melyek e vegyületek reakcióképes csoportjai (BASS és YOE, 1966). Amennyiben a nitrogén atomon hidroxil csoport található, ciklikus hidroxámsav a kérdéses vegyület. A karbonil- és a négyeshelyzetű hidroxil csoportok fémekkel komplexet képezhet. Amikor a hidroxil csoportot hidrogén helyettesíti, a vegyületek laktámok, s a komplexképző sajátosság megszűnik. Hasonló változást eredményez, ha a reaktív csoportokhoz metoxi gyök kapcsolódik. A benzolgyűrűn is egy, vagy két metoxi csoport kötődhet. Az oxazingyűrűn található =C-OH glikozilálódhat, ami a vegyületek nagyfokú stabilitását eredményezi. Ennek hiányában ugyanis hangyasav felszabadulása mellett a hatos gyűrű egy szénatommal rövidül, a vegyület pedig benzoxazolinná alakul. Érdeklődésünk középpontjában a komplexképző sajátosságú ciklikus hidroxámsavak állnak.

A benzoxazinok és származékaik kémiai nevei, valamint az első leírásukat tartalmazó publikációk:

Ciklikus hidroxámsavak (4-hidroxi-1,4-benzoxazin-3-on):

DIMBOA: 2,4-dihidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (WAHLROOS-VIRTANEN, 1959)

GDIMBOA: 2-(4-hidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (WAHLROOS-VIRTANEN, 1959)

DIBOA: 2,4-dihidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (VIRTANEN-HIETALA, 1960)

GDIBOA: 2-(4-hidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (HIETALA-VIRTANEN, 1960)

DIM₂BOA: 2,4-dihidroxi-7,8-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (KLUN *et al.* 1970)

GDIM₂BOA: 2-(4-hidroxi-7,8-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (HOFMAN-MASODJIKOVÁ, 1973)

TRIBOA: 2,4,7-trihidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (WOODWARD *et al.* 1979 a.)

Laktámok (1,4-benzoxazin-3-on):

HBOA: 2-hidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1969 a, b.)

GHBOA: 2-(2-hidroxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1969 a, b.)

HMBOA: 2-hidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (TIPTON *et al.* 1967)

GHMBOA: 2-(2-hidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (GAHAGAN-MUMMA, 1967)

HM₂BOA: 2-hidroxi-7,8-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (NIEMEYER, 1988)

GHM₂BOA: 2-(2-hidroxi-7,8-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (HOFMAN-MASODJIKOVÁ, 1973)

DHBOA: 2-hidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (WOODWARD *et al.* 1979 a.)

GDHBOA: 2-(7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (NAGAO *et al.* 1985)

Cl-GHMBOA: 2-(5-klóro-2-hidroxi-7-metoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (LE VAN-WRATTEN, 1984)

Metil-származékok (4-metoxi-1,4-benzoxazin-3(4H)-on):

HDMBOA: 2-hidroxi-4,7-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on (HEDIN *et al.* 1993)

GHDMBOA: 2-(2-hidroxi-4,7-dimetoxi-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on)- β -D-glükopiranozid (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1970)

Benzoxazolinok (benzoxazolin-2-on):

BOA: 2-benzoxazolin (VIRTANEN-HIETALA, 1955)

MBOA: 6-metoxi-2-benzoxazolin (VIRTANEN *et al.* 1956)

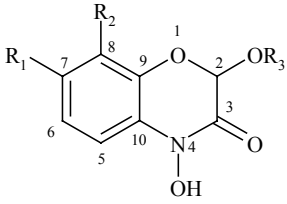
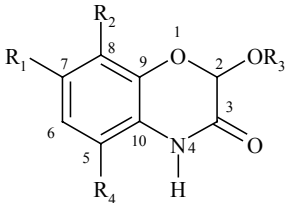
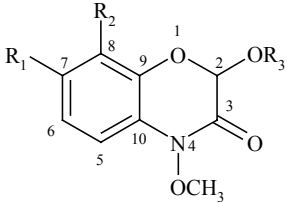
M₂BOA: 6,7-dimetoxi-2-benzoxazolin (KLUN *et al.* 1970)

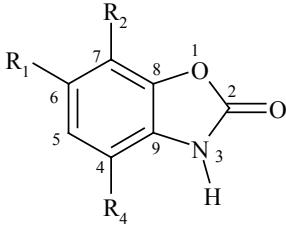
CL-M₂BOA: 4-klór-6,7-dimetoxi-2-benzoxazolin (ANAI *et al.* 1996)

4-ABOA: 4-acetil-2-benzoxazolin (FIELDER *et al.* 1994)

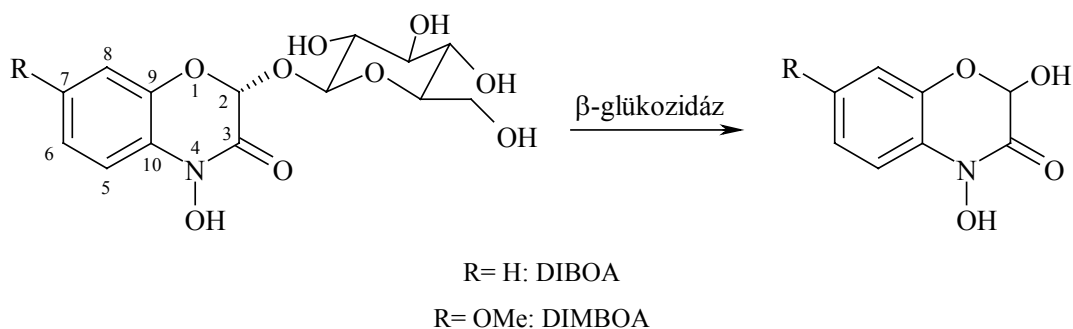
A benzoxazinok és származékaik szerkezetét CAMBIER *et al.* szerint (1999 a.) az 1. táblázatban tüntettem fel.

1. táblázat

Hidroxámsavak (4-hidroxi-1,4- benzoxazin-3-on)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Rövidítés	Molakula- tömeg (g)
	H	H	H		DIBOA	181
	H	H	Glü		GDIBOA	343
	CH ₃ O	H	H		DIMBOA	211
	CH ₃ O	H	Glü		GDIMBOA	373
	CH ₃ O	CH ₃ O	H		DIM ₂ BOA	241
	CH ₃ O	CH ₃ O	Glü		GDIM ₂ BOA	403
	OH	H	H		TRIBOA	197
Laktámok (1,4-benzoxazin-3- on)						
	H	H	H	H	HBOA	165
	H	H	Glü	H	GHBOA	327
	CH ₃ O	H	H	H	HMBOA	195
	CH ₃ O	H	Glü	H	GHMBOA	357
	CH ₃ O	CH ₃ O	H	H	HM ₂ BOA	225
	CH ₃ O	CH ₃ O	Glü	H	GHM ₂ BOA	387
	OH	H	H	H	DHBOA	181
	OH	H	Glü	H	GDHBOA	343
	CH ₃ O	H	Glü	Cl	Cl- GHMBOA	391
Metil-származékok (4-metoxi-1,4- benzoxazin-3-on)						
	CH ₃ O	H	H		HDMBOA	225
			8			

	CH ₃ O	H	Glü		GHDMBOA	387
Benzoxazolinok (benzoxazolin-2-on)						
	H	H		H	BOA	135
	CH ₃ O	H		H	MBOA	165
	CH ₃ O	CH ₃ O		H	M ₂ BOA	195
	CH ₃ O	CH ₃ O		Cl	Cl-M ₂ BOA	229
	H	H		COCH ₃	4-ABOA	177

A ciklikus hidroxámsavak a differenciálódott növényi szövetekben glükozidok formájában találhatók, melyek a növényi rész sérülése során bomlanak (1. ábra). A glükózt β -glükozidázok hasítják le, majd a benzoxazinból hangyasav felszabadulása közben a megfelelő benzoxazolin alakul ki (WAHLROOS-VIRTANEN, 1959; VIRTANEN-HIETALA, 1960; NIEMEYER, 1988). E β -glükozidázok specifikusak a cHx-glükozidokra, aktivitásuk a cHx-glükozidok mennyiségével párhuzamosan változik, és aminosavsorrendjüket tekintve más, növényben található glükozidázokkal nem mutatnak rokonságot (NAKAGAWA *et al.* 1995; SUE *et al.* 2000). A glükozidok a vakuólumon kívül, a β -glükozidázok a vakuólumban találhatók a sérüléstől mentes sejtekben (MASSARDO *et al.* 1994).



1. ábra: A ciklikus hidroxámsavak és glükozidjaik szerkezete

A szabad hidroxámsavak könnyen lebomlanak, de a benzoxazin→benzoxazolin átalakulás vizes közegben nem kvantitatív. A DIBOA és DIMBOA fél életideje a kukoricánövénny kivonatában található pH-n kb. 30 óra. A pH és a hőmérséklet növelésével az átalakulás mind teljesebbé tehető (BRENDENBERG *et al.* 1962; WOODWARD *et al.* 1978). Az átalakulás hatékonyságát fokozza a dipoláris, aprotikus oldószerek alkalmazása (NIEMEYER, 1988). PETHŐ eljárásával (1992 b.) a DIMBOA→MBOA átalakulás megfelelő körülmények biztosításával (60 °C-ra melegítés, 0,03 mol/L NH₄OH hozzáadása) kvantitatívvá tehető. A benzoxazin→benzoxazolin átalakulás vizes közegben, alkoholos és aprotikus oldószerekben aldol és izocianát intermediereken keresztül megy végbe (BRAVO-NIEMEYER, 1986 a, b.). Az átalakulás pontos mechanizmusát több kutatócsoport tisztázta (SMISSMANN *et al.* 1972; CORCUERA *et al.* 1982; COPAJA *et al.* 1986). A DIMBOA bomlását vizsgálva több kutató rámutatott, hogy a köztes termékek között a szóban forgó vegyület izomerjei is megtalálhatók (BRAVO és NIEMEYER, 1985; COPAJA *et al.* 1986).

HOFMAN és HOFMANOVÁ (1969 a., b.) feltételezése szerint a hidroxámsavak és a laktámok a növényben redoxpárokban találhatóak, melyek a szövetek fiziológiai állapotától függően egymásba átalakulnak.

Több szerző közöl adatokat a ciklikus hidroxámsavak és származékaik kémiai jellemzőiről (2. táblázat).

2. táblázat

A ciklikus hidroxámsavak és származékaik abszorpciós maximumai és olvadáspontjaik:

Vegyület	Abszorpciós maximumok (nm)	Referencia
DIBOA (világos narancssárga kristályos)	254/282 (Etanol) 254/282 (Metanol)	VIRTANEN-HIETALA, 1960 BARNES <i>et al.</i> 1987; ATKINSON <i>et al.</i> 1991
GDIBOA (bézs színű tűkristályos)	255/281 (Etanol) 258/285 (Víz) 259/287 (Metanol)	VIRTANEN-HIETALA, 1960 HARTENSTEIN-SICKER, 1994 BAUMELER <i>et al.</i> 2000
DIMBOA (színtelen kristályos)	262,5 (Víz) 206,5/262 (Etanol) 262 (Metanol)	VIRTANEN-HIETALA, 1960 HIRIART <i>et al.</i> 1985 ATKINSON <i>et al.</i> 1991
GDIMBOA (fehér, apró tűkristályos)	278/287 (Metanol)	BAUMELER <i>et al.</i> 2000
BOA	270 (Etanol)	VIRTANEN-HIETALA, 1960

	Olvadáspontok (°C)	
DIBOA	152 153-154 155 163,5-165 198-201	VIRTANEN-HIETALA, 1960 HONKANEN-VIRTANEN, 1960 TIPTON <i>et al.</i> 1967 PATENT, 1975 BAUMELER <i>et al.</i> 2000
GDIBOA	186,5-187 256-257 183-185	VIRTANEN-HIETALA, 1960 HARTENSTEIN-SICKER, 1994 BAUMELER <i>et al.</i> 2000
DIMBOA	159-162 159-162 162 179-180 138	VIRTANEN-HIETALA, 1960 ROTH-KNÜSLI, 1961 TIPTON <i>et al.</i> 1967 PATENT, 1975 BAUMELER <i>et al.</i> 2000
GDIMBOA	249	BAUMELER <i>et al.</i> 2000

A DIMBOA oldódásának mértéke alkoholokban: 1-butanol < 2-propanol < 1-propanol < etanol < metanol (BRAVO-NIEMEYER, 1986 b.).

2.2 A hiroxámsavak fémkomplexei

2.2.1. A ciklikus hidroxámsavak fémkomplexei

TIPTON és BUELL (1970) vizsgálták először a ciklikus hidroxámsavak fémkomplexeit. A DIMBOA, GDIMBOA és egyéb vegyületek (pld. citromsav) Fe(III)-ionnal alkotott komplexeinek stabilitását vizsgálták. A logK értékek: DIMBOA=19,4; GDIMBOA=21,3; citromsav=11,9.

A DIMBOA és a GDIMBOA a vassal stabilabb komplexet képez, mint a citromsav, holott e vegyületnek fontos szerepet tulajdonítanak a Fe(III)-ionok megkötésében és növényen belüli szállításában (BROWN-TIFFIN, 1965). A mért pKa értékek: DIMBOA=6,95; GDIMBOA=6,40, az 1:1 komplexek stabilitása: DIMBOA=9,25; GDIMBOA=9,39.

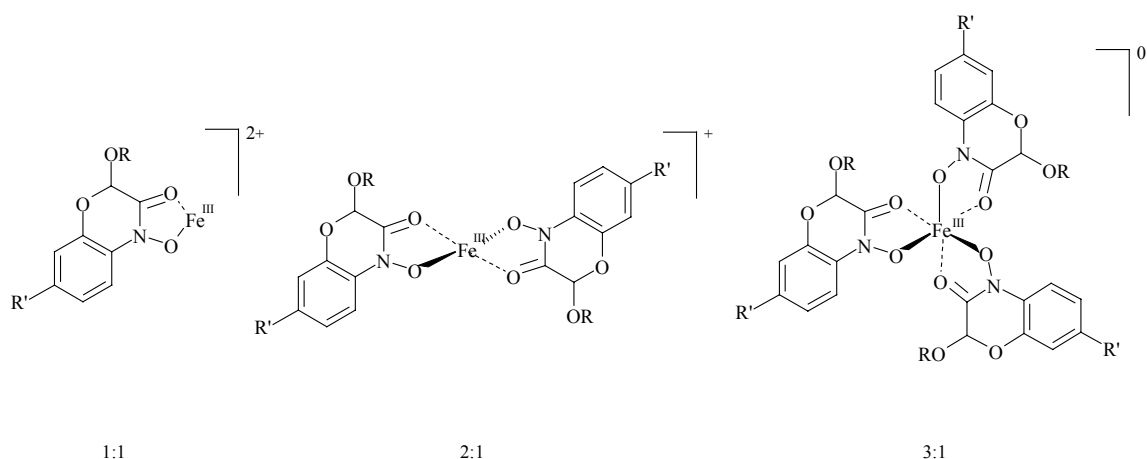
DABED *et al.* (1983) a DIMBOA fémkomplexeit vizsgálták. DIMBOA 1:1 komplexeinek stabilitási együtthatóit mérték kétértékű kationokkal: Cu(II)=5,4; Ni(II)=4,5; Zn(II)=4,2; Mn(II)=3,4; Ca(II)=3,0. A 2:1 komplexek stabilitási együtthatóit a következő értékekben határozták meg: Ni(II)=3,6; Zn(II)=3,5. A Mg(II) komplexek stabilitási együtthatói nagyon kicsik voltak, a Fe(II)-komplexek nem oldódtak. A pH=5,5 értéknél vizsgálták a DIMBOA, citromsav és almasav fémkomplexáló

képességét, és valamennyi vizsgált kation esetében a DIMBOA hatékonyabbnak bizonyult a két utóbbi vegyületnél, vagyis az összes ionból többet komplexált.

HIRIART *et al.* (1985) a DIMBOA Cu(II)-komplexeit tanulmányozták. Meghatározták a komplexek szerkezetét különböző pH-n, a komplexstabilitási együtthatókat 10, 20, 30 °C-on. pH=2,5 értéknél megindul a komplexképzés, 1:1 komplexek kialakulásával. A 2:1 komplexek pH=4,0 értéknél kezdenek kialakulni és pH=6,0 felett dominálnak. Az 1:1 komplexek stabilitása 5,0-5,5, a 2:1 komplexek stabilitása 3,8-4,1. A DIMBOA pKa értékeit különböző hőmérsékleteken 6,3-7,0 közötti értékeknek mérték.

NIEMEYER (1988) összefoglaló jellegű munkájában leírja, hogy a cHx-ak komplexei stabilabbak, mint a növényben előforduló szerves savaké (citromsav, almasav), de kevésbé stabilak, mint a mikrobiális hidroxámsavaké.

BIGLER *et al.* (1996) a ciklikus hidroxámsavak Fe(III)-komplexeit vizsgálva a tömegspektrometria módszerével kimutatták, hogy a laktámok a cHx-akkal ellentétben nem képeznek komplexeket a vassal, mely tény elkülönítésük alapja. DIMBOA, GDIMBOA, DIBOA és GDIBOA viselkedését vizsgálták metanolos vas(III)-oldatokban és leírták a komplexek szerkezetét is. 1:1, 2:1 és 3:1 (ligandum: fém) komplexek is előfordulnak (2. ábra). Bebizonyították, hogy a glükóz szubsztituensnek nincs, vagy csak elhanyagolható hatása van az aglükon Fe(III)-komplexáló képességére. Ezt támasztják alá TIPTON és BUELL (1970) mérései is, melyek szerint a DIMBOA és GDIMBOA Fe(III)-komplexeinek stabilitási állandói közel azonosak. Leírják, hogy a hidroxámsavak és glükozidjaik vegyesen is képezhetnek komplexeket: pld: DIBOA: GDIBOA: Fe(III)=1: 2: 1. A GDIMBOA Fe(III)-komplexének kialakulási idejét kb. 300 másodpercre mérték. A DIBOA és GDIBOA Fe(III)-al 3: 1 komplexeket képeznek metanolban, de az utóbbi vegyület 2: 1 komplexei is előfordulnak (ligandum: fém).



R= H, vagy Glükóz; R'= H, vagy metoxi

2. ábra: A ciklikus hidroxámsavak vas-komplexei (BIGLER *et al.* 1996)

FARKAS *et al.* (1998) különböző monohidroxámsavak Cu(II)- és Fe(III)-komplexeinek stabilitását vizsgálták, meghatározták a komplexek szerkezetét különböző pH-n, illetve a különböző hidroxámsavak pKa értékeit is. A cHx-ak közül a GDIBOA-t vizsgálták. pKa értéke ($t=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I=0,2\text{ mol/l KCl}$) = 6,85. Ez közepes erősségű savi karakterre utal.

A GDIBOA Cu(II)-komplexének stabilitása: $[\text{CuA}]^+=4,95$; $[\text{CuA}_{-1}]=0,01$. A GDIBOA Fe(III)-komplexének stabilitása: $[\text{FeA}]^{2+}=7,41$; $[\text{FeA}_2]^+=13,52$; $[\text{FeA}_3]=8,80$. A $\text{pH} \cong 5$ -nél megkezdődik a precipitáció, azaz a kiválás. A GDIBOA Fe(III)-komplexének képződése már $\text{pH}=1$ alatt megindul, de $\text{pH}=2$ -nél már jelentős. A savas közegben történő komplexképzés lehetővé teszi, hogy a rizoszférában is megtörténjen a komplexképzés, ami alátámasztja a GDIBOA lehetséges szerepét a vas felvételében.

2.2.2. A nem ciklikus hidroxámsavak fémkomplexei

A nem ciklikus hidroxámsavak fémkomplexeit analitikai és elméleti megfontolásokból tanulmányozták. Vizsgálták komplexeik stabilitását különböző fémionokkal és ezzel összefüggésben lehetséges szerepüket az adott ionok analitikai meghatározására, felhasználásukat a gyógyászatban az illető fémion kivonására a szervezetből (kelátterápia).

ARMOUR és RYAN (1957) leírták a hidroxámsavak fémek komplexálásában betöltött szerepét, a hidroxámsavak fém komplexeinek szerkezeti eltérései és az analitikai felhasználás közti összefüggéseket tárták fel. A vas és a hidroxámsavak között az 1: 1 komplexek mellett pld. kimutatták az 1: 3 komplexek létét is.

BASS és YOY (1966) 36 egyenes láncú hidroxámsav komplexképzését vizsgálva arra a tapasztalatra jutottak, hogy a szóban forgó vegyületek alkalmasak fémek gravimetriás és kolorimetriás meghatározására.

MIZUKAMI és NAGATA (1968) vizsgálatai szerint a hidroxámsavak fémekkel alkotott komplexeiben a fém és a vegyület között úgy alakul ki a komplex, hogy a =C=O csoport és az =N-OH csoportok oxigénjei és a fém között datív kötéssel létesül kapcsolat.

CHATERJEE (1978) a nem ciklikus hidroxámsavak általános jellemzését adja: pK, komplexstabilitások fémekkel. 33 vizsgált hidroxámsav pK értéke 7-11 közé esett, ami azt mutatja, hogy a hidroxámsavak közepesen erős savak. Kimutatta, hogy az átmeneti fémek hidroxámsav komplexeinek stabilitása a következő sorrendben növekszik a vizsgált nem ciklikus hidroxámsavtól függetlenül: Mn(II) → Ni(II) → Co(II) → Zn(II) → Cu(II) → Fe(III).

BROWN *et al.* (1982) szerint a glicinohidroxámsav Ni(II)-komplexének röntgenstrukturanalízise azt mutatja, hogy a komplex síkbeli, ML₂ típusú (pH=6,2-8,6 között) és a komplexképzésben az =N-OH csoport N-atomja vesz részt. A hidroxámsavak tehát a N-atomon keresztül is képesek komplex képzésre.

BROWN és ROCHE (1983) acetohidroxámsav, propionhidroxámsav, glicin- és szerinhidroxámsav Ni(II)-komplexeinek stabilitását és szerkezetét írták le. A pH növekedésével a komplexek szerkezete az 1: 1, majd 1: 2, majd 1: 3 formában alakul. A komplexek szerkezete oktaéderez.

SENIOR és GLENNON (1987) mérései szerint az acetohidroxámsav felhasználható Fe(III) /Fe(II) rendszerből a Fe(III)-ionok megkötésére. A komplex 420-440 nm-nél

abszorpcióval rendelkezik, így a módszer alkalmas Fe(III)-ionok mennyiségi meghatározására más ionok jelenlétében is.

2.3. A ciklikus hidroxámsavak laboratóriumi szintézise

A ciklikus hidroxámsavak laboratóriumi szintézisére megfelelő eljárások állnak rendelkezésre: szintézisük néhány lépésben, jó kitermelésű (82 és 96% közötti) reakciókkal megoldható (SICKER *et al.* 1989, HARTENSTEIN-SICKER, 1994; TAYS-ATKINSON, 1998), melyek segítségével nagy mennyiségben előállíthatók (HARTENSTEIN *et al.* 1992, 1993; LARSEN-CHRISTENSEN, 2000). A természetes benzoxazinok széleskörű biológiai hatása miatt számos szintetikus benzoxazin származékot fejlesztettek ki gyógyászati és mezőgazdasági felhasználásra (JERNOW-ROSEN, 1975; HUANG-CHAN, 1984).

2.4. A ciklikus hidroxámsavak előfordulása és mennyisége a növényekben

Az első cikket, amely benzoxazolin típusú vegyületek természetes eredetéről ad hírt 1955-ben publikálták (VIRTANEN-HIETALA). Rozs kémiai analízise során BOA-t találtak. Nem sokkal ezután MBOA-t izoláltak búzából és kukoricából (VIRTANEN *et al.* 1956). 1959-ben bebizonyosodott, hogy e vegyületek nem fordulnak elő a növényekben, hanem a DIBOA és DIMBOA valamint glükozidjainak bomlástermékei (WAHLROOS-VIRTANEN, 1959, VIRTANEN-HIETALA, 1960). Azóta számos publikáció nyújt információt a cHx-ak előfordulásáról a növényvilágban.

Egy blefarin nevű glükozidot már 1936-ban izoláltak a kétszikű *Blepharis edulis*-ből (LAL, 1936), de csak később bizonyosodott be, hogy ez GHBOA (CHATERJEE-BASA, 1969).

A cHx-ak másodlagos anyagcseretermékek, melyek elsősorban a *Poaceae* családban fordulnak elő (NIEMEYER, 1988). *Poaceae* nemzetségek, amelyekben cHx-akat találtak: *Secale* (VIRTANEN-HIETALA, 1955), *Triticum*, *Zea* (HIETALA-VIRTANEN, 1960), *Coix* (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1969 a.), *Triticale* (CORCUERA *et al.* 1982), *Elymus*, *Arundo*, *Chusquea* (ZUNIGA *et al.* 1983, WOLF *et al.* 1985), *Aegilops*, *Tripsacum* (NIEMEYER, 1988), *Agropyron* (COPAJA *et al.* 1991, FRIEBE *et al.* 1995), *Hordeum* (BARRIA *et al.* 1992), *Echinochloa* (PETHŐ, 1993; 1993 a). Az *Avena* és *Oryza* nemzetségekből nem tudtak cHx-akat kimutatni (TANG *et*

al. 1975). Szintén nem tudták kimutatni a fenti vegyületeket bizonyos *Bromus*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Lolium*, *Phalaris*, *Poa* és *Setaria* fajokból (ZUNIGA *et al.* 1983). Előfordulásuk a *Sorghum* nemzetségben vitatott (NIEMEYER, 1988).

A cHx-ak szórványosan egyéb növénycsaládokban is előfordulnak, de csak bizonyos fajokban. Előfordulásukat jelezték a *Scrophulariaceae* (CHEN-CHEN, 1976, PRATT *et al.* 1995), *Acanthaceae* (LAL, 1936, CHATERJEE-BASA, 1969, WOLF *et al.* 1985, PRATT *et al.* 1995, BIGLER *et al.* 1996, BAUMELER *et al.* 2000) és *Ranunculaceae* (ÖZDEN *et al.* 1992) családokból.

A cHx-ak aglükonként is jelen vannak a növényben, bár csak a differenciálódó szövetekben (ZUNIGA-MASSARDO, 1991). Az állandósult szövetekben glükozidos formában találhatóak (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1971, CAMBIER *et al.* 1999 a).

A cHx-ak a fűféle növények valamennyi részében megtalálhatók, kivéve a szemterméseket (NIEMEYER, 1988, NAKAGAWA *et al.* 1995). Rózs pollenjéből is sikerült cHx-at izolálni (ZHANG *et al.* 1995). A különböző növényi részekben eltérő mennyiségben találhatóak: a fiatal levelekben nagyobb koncentrációban találhatóak, mint az idősebbekben, függetlenül a növény korától. A levelekben a maximális koncentráció a legnagyobb méret elérésekor tapasztalható (ARGANDONA *et al.* 1981 a). A gyökerekben is megtalálhatók (ARGANDONA-CORCUERA, 1985). A levelek szállító szövegeiben, nagyobb koncentrációban vannak jelen, mint a levél egészében. A levél epidermiszében nem mutathatók ki (ARGANDONA *et al.* 1987). A levelek alapi részén alacsonyabb a cHx-koncentráció, mint a csúcsban (NIEMEYER, 1988). Mind a gyökérben, mind a hajtásban, a központi hengerben nagyobb a cHx-koncentráció, mint a kéregszövetben (ARGANDONA-CORCUERA, 1985). Mindezek a cHx-ak transzportfolyamatokban történő részvételére utalnak. A kukorica fiatalabb gyökérrészeiben nagyobb a koncentráció, mint az idősebbekben (XIE *et al.* 1991 a).

Az összes cHx-tartalom a gyökérben kisebb, mint a hajtásban (TANG *et al.* 1975, ARGANDONA *et al.* 1981 b, ARGANDONA-CORCUERA, 1985). A hajtásban és a gyökérben egyaránt a csírázás utáni 2.-4. napon a legmagasabb a cHx-koncentráció, majd ez után fokozatosan csökken (ARGANDONA *et al.* 1980, ZUNIGA *et al.* 1983, TOLDINÉ TÓTH É. 1984, NAKAGAWA *et al.* 1995, CAMBIER *et al.* 1999 b). Egyetlen kivételt képez a GHDMBOA (metilált-cHx) koncentrációjának változása a kukorica gyökerében. E vegyület koncentrációja állandó, magas szinten marad a növény 20 napos koráig (CAMBIER *et al.* 1999 b). A maximális cHx-koncentráció faj-, és fajtafüggő, csakúgy, mint a koncentráció csökkenésének mértéke (3. és 4. táblázat).

3. táblázat

Néhány példa a ciklikus hidroxámsavak maximális koncentrációjára a különböző növényekben (mg/kg friss tömeg)

Növényfaj	Koncentráció	Forrás
DIMBOA		
Kukorica	5-2400	WOODWARD <i>et al.</i> 1979 b; ZUNIGA-MASSARDO, 1991
Termesztett búza	290-2290	COPAJA <i>et al.</i> 1991
Durum búza	170-680	ZUNIGA <i>et al.</i> 1983
DIBOA		
Kukorica	0-250	WOODWARD <i>et al.</i> 1979 b
Termesztett búza	29	ZUNIGA-MASSARDO, 1991
Durum búza	0-20	ZUNIGA <i>et al.</i> 1983
Rozs	780	ZUNIGA <i>et al.</i> 1983
GDIMBOA		
Kukorica	370-4500	MELASON <i>et al.</i> 1997; CAMBIER <i>et al.</i> 1999 b
Termesztett búza	373-3730	ZUNIGA-MASSARDO, 1991; MELASON <i>et al.</i> 1997
GDIBOA		
Termesztett búza	0,8-261	ZUNIGA-MASSARDO, 1991; NAKAGAWA <i>et al.</i> 1995

4. táblázat

A maximális koncentráció kialakulásának ideje a *Triticum aestivum* növényben (NAKAGAWA *et al.* 1995)

cHx	Csíráztatás (óra)
GDIBOA	36
GDIMBOA	48-60
DIBOA	36
DIMBOA	60-72

A különböző fajokban az összes cHx-tartalom mellett a cHx-összetétel is változatos:

- Rozsban a GDIBOA, búzában és kukoricában a GDIMBOA van többségben (HIETALA-VIRTANEN, 1960; TANG *et al.* 1975; WOODWARD *et al.* 1979 b).
- A *Coix lacryma-jobi* növényben GDIMBOA található, GDIBOA nem (TANG *et al.* 1975).
- Durum búzában a GDIMBOA nagyobb mennyiségben van jelen, mint a GDIBOA (ZUNIGA *et al.* 1983).
- Az *Elymus gyanus* és a *Cuscuta cumingii* fajokban csak GDIMBOA található (ZUNIGA *et al.* 1983).
- Az *Agropyron repens* hajtásában, a legnagyobb mennyiségben előforduló cHx-glükozid a GDIBOA (FRIEBE *et al.* 1995).

ARGANDONA és CORCUERA (1985) kukorica xylemnedvében és guttációs cseppjeiben nem tudtak cHx-akat kimutatni, melynek oka az, hogy a kimutatni kívánt szabad cHx-ak bomlékonyak, a bomlástermékek viszont ferri-kloriddal színreakciót nem adnak. PETHŐ cHx-glükozidokat mutatott ki kukorica xylemnedvéből (PETHŐ személyes közlés). A termesztett búza floemnedvében GDIMBOA-t azonosítottak (GIGOVICH *et al.* 1994). Ebből arra lehet következtetni, hogy a cHx-ak a xylemben és a floemben is szállítódnak. A szöveteken belül apoplazmás úton transzlokálódnak, de nem tudják, hogy glükozidként, vagy aglükonként (ZUNIGA-MASSARDO, 1991). A cHx-glükozidok sejten belüli lokalizációja nem pontosan ismert (KUMAR *et al.* 1994).

A cHx-akat a termelő növények gyökereiken keresztül ki is választják a vegyületeket. Ezt párhuzamosan többen is igazolták (PEREZ-ORMENO-NUNEZ, 1991, PETHŐ, 1992 d.). PEREZ és ORMENO-NUNEZ (1991) a rozs gyökérexudátumából DIBOA-t mutattak ki (5. táblázat).

5. táblázat

DIMBOA és a DIBOA mennyisége a rozs gyökérkivonatában és gyökérexudátumában PEREZ és ORMENO-NUNEZ szerint (1991) (mmol/kg friss tömeg)

Vegyület	Gyökérkivonat		Gyökérexudátum	
	DIBOA	DIMBOA	DIBOA	DIMBOA
Mennyiség	0,8-1,3	n.d.	0,1-25,0	n.d.

n.d. nem detektálható

PETHŐ (1992 d) cHx-akat mutatott ki termesztett búza és rozs gyökérexudátumából. Termesztett búza gyökérexudátumában a kortól és vasellátástól függően a benzoxazin→benzoxazolin átalakítás után 0,07-0,39 µg/g friss tömeg értékben BOA-t, 0,22-0,96 µg/g friss tömeg értékben pedig MBOA-t mutatott ki. A rozs gyökérexudátumában a vasellátás függvényében 0,30-1,25 µg/g friss tömeg értékben BOA-t, 0,88-1,75 µg/g friss tömeg értékben pedig MBOA-t mért.

A cHx-koncentráció a környezeti tényezőktől is függ. Alacsony nevelési hőmérséklet a kukoricahajtásában növeli, a gyökérben csökkenti a cHx-koncentrációt. Kis fényintenzitáson a kukoricánövények több cHx-at tartalmaznak. A sötétben nevelt, etiolált búzánövények több cHx-at tartalmaznak, mint az azonos korú fényen nevelt fajtársaik (ÅHMAN – JOHANSSON, 1994). A N-adagok növelése a kukorica egyes fajtáinál növeli azok cHx-tartalmát (NIEMEYER, 1988). A különböző tápelemek mennyiségének hatását a cHx-tartalomra a cHx-ak lehetséges fitosziderofor funkciójának taglalása kapcsán érintem.

2.5. A ciklikus hidroxámsavak bioszintézise és annak genetikai lokalizáltsága

A cHx-ak bioszintézise a triptofánnal közös, a sikiminsav úton indul. A DIMBOA bioszintézisében a heterociklusos gyűrű (oxazin) 2. és 3. C-atomjai a ribóz 1. és 2. C-atomjából származnak, az aromás gyűrű a sikiminsav út egyik intermedieréből (a kinasav beépülését igazolták), a metoxi csoport a glicinből, metioninből, vagy a glicerinsavból származik. Az oxazin gyűrű egy aromás amin és a ribóz, vagy ribóz-foszfát kapcsolódásával keletkezik (REINMANN és BYERRUM, 1964). TIPTON *et al.* (1973) igazolták az antranilsav beépülését az aromás gyűrűbe. E két publikáció

bizonyítja, hogy a sikiminsav út intermedierei az antranilsavig beépülnek a benzoxazinokba, a további intermedierek, pld. a triptofán, azonban nem. Az antranilsav beépülését később többen is megerősítették (KUMAR-CHILTON, 1994; NAKAGAWA *et al.* 1995).

Kezdetben a laktám-glükozidokat a benzoxazin-glükozidok intermediereinek tekintették a bioszintézisben (TIPTON *et al.* 1973; GAHAGAN-MUMMA, 1967; NIEMEYER, 1988), ezt az állítást később többen cáfolták. LEIGHTON *et al.* (1994) a cHx-bioszintézisben részt vevő enzimek szubsztrátspecifitását vizsgálva arra a következtetésre jutottak, hogy a laktám-glükozidok nem lehetnek intermedierei a benzoxazin-glükozidoknak. ZUNIGA és MASSARDO (1991) kísérleti eredményei szerint a benzoxazinok a szövetek differenciálódása során aglükonként szintetizálódnak, majd később, a differenciálódás során glükozilálódnak. A cHx-ak bioszintéziséhez nincs szükség szöveti differenciálódásra, mert a differenciálatlan kallusz is jelentős szintézisre képes (ZUNIGA *et al.* 1990).

KUMAR és CHILTON (1994) további részleteket tárt fel a DIMBOA bioszintézisében. Kimutatták, hogy a DIMBOA-bioszintézis köztesei az 5-foszforibozil-antranilát és ennek Amadori-átrendeződésen átesett terméke, az 1-(o-karboxianilino)-1-deoxiribulóz-5-foszfát. A DIMBOA bioszintézisében az utóbbi vegyület, vagy egyéb antranilát származék oxidatív dekarboxilálódik, majd egy intermedier keletkezik, amely dekarboxilálódik és az orto helyzetű C-atomon oxigenálódik.

KUMAR *et al.* (1994) kimutatták, hogy a 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on a DIBOA bioszintézis köztese az antranilsav és a DIBOA között. Ebből a köztes termékből a kukorica mikroszómái oxigén és NADPH jelenlétében közvetlenül DIBOA-t állítanak elő.

A DIMBOA a DIBOA-ból szintetizálódik. FREY *et al.* (1997) szerint a C⁷ helyzetű oxigén atom a molekuláris oxigénből származik, e helyen bekövetkező hidroxilálás, majd metil csoport kapcsolódása (citokróm P450 enzim és metil-transzferáz segítségével) eredményezi a DIMBOA-t (3. és 4. ábrák). PETHŐ (1994) igazolta, hogy a kukorica gyökereiben a GDIBOA→GDIMBOA átalakulás végbemegy, ugyanis a GDIBOA-val táplált kukorica gyökereiben a vegyület GDIMBOA-vá alakul át.

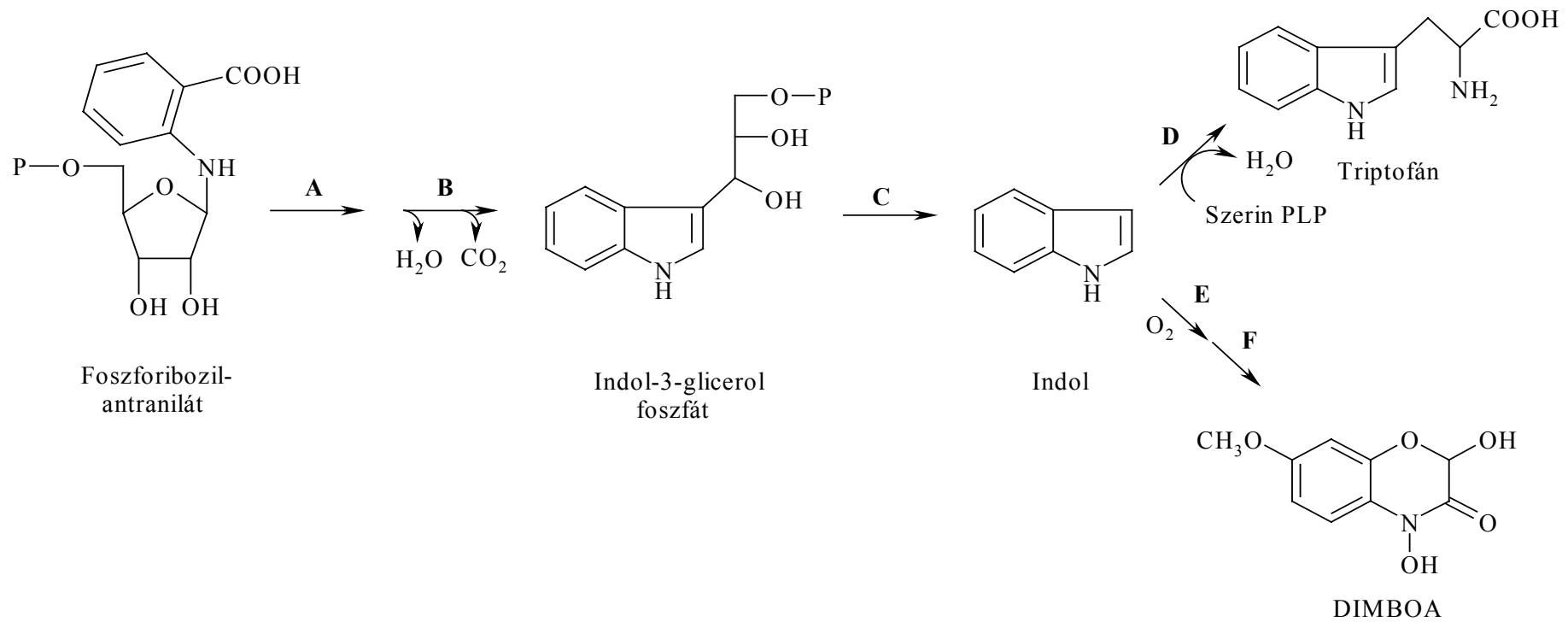
Többen izoláltak a cHx-ak bioszintézisében közreműködő enzimeket: BAILEY és LARSON (1989) a DIMBOA glükozilezését végző két enzimet izolálták csíranövények fehérjekivonataiból. Egyéb glükozil transzferázoktól eltérően csak a DIMBOA glükozilezését végzik. FREY *et al.* (1995) azonosítottak egy, a DIMBOA

bioszintézisében részt vevő N-specifikus P450 monooxygenázt. GLAWISCHNIG *et al.* (1999) a DIMBOA és DIBOA bioszintézisében részt vevő citokróm P450 dependens monooxygenázokat izoláltak kukoricából és rozsból, melyek 4 egymást követő lépést katalizálnak a folyamatban. Mivel a kukorica és a rozs rokonsági körei egymástól már régen elváltak, a DIBOA bioszintéziseik útja viszont megegyezik, valószínűsíthető, hogy a bioszintézisért felelős gének evolúciója a *Poaceae* család fejlődésének korai szakaszában következett be.

A cHx-ak bioszintézisét irányító kulcsfontosságú gén jele: Bx. Van cHx-akat nem termelő mutáns, melynek genotípusa bxbx. A Bx gén a kukorica negyedik kromoszómáján található, annak rövidebb karján (SIMCOX-WEBER, 1985). Bár a DIMBOA szintézisét egy gén kódolja, a vegyület mennyiségét több kisebb gén határozza meg (FREY *et al.* 1995). Megállapították, hogy a Bx gén az indol-szintetáz- α enzim szintéziséért felelős (korábbi neve TRP-szintetáz). Az indol az utolsó közös intermedier a TRP és a DIMBOA bioszintézisében.

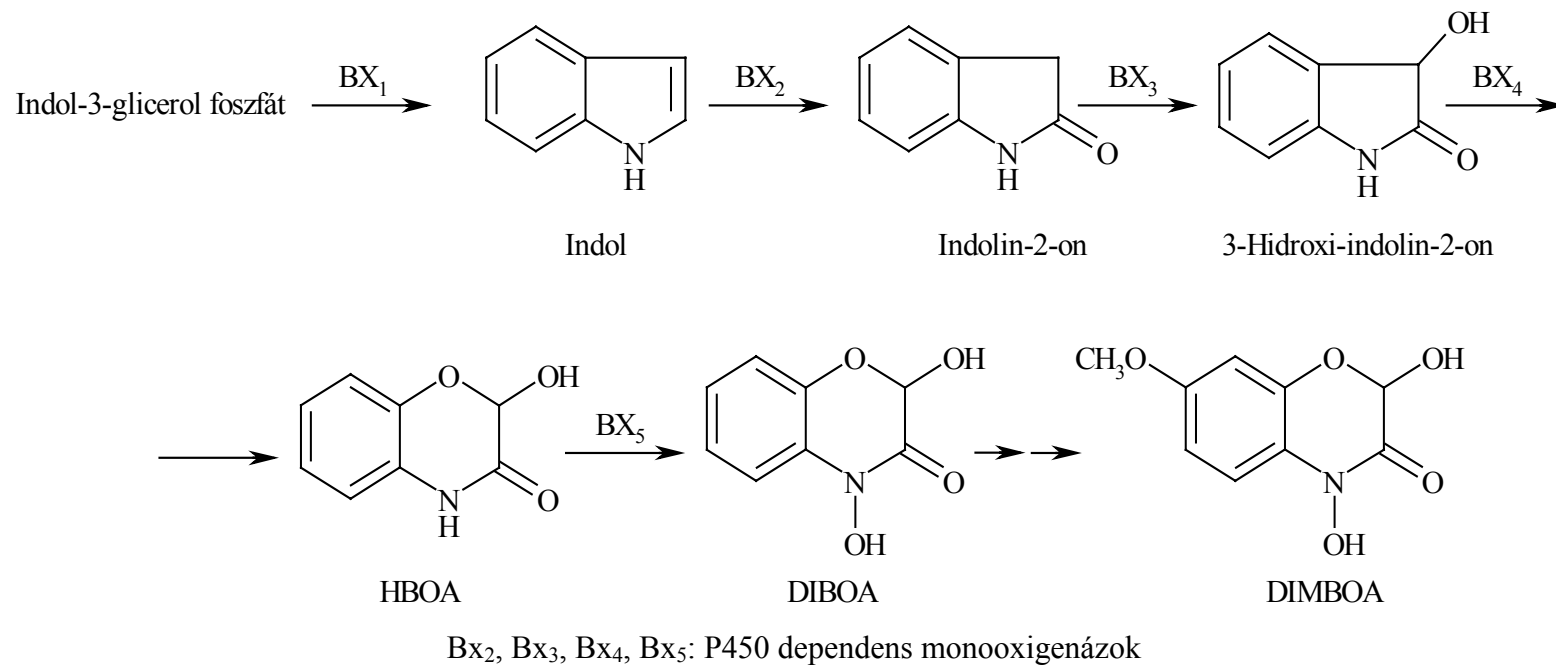
A Bx gén mutációjával létrejött bx gén nem tudja kódolni az indol-szintetáz enzimet, ezáltal a DIMBOA sem szintetizálódik a bxbx mutánsban. A bxbx mutánsok TRP szintézise nem szenved csorbát, mert a TRP bioszintézisében az indol a TRP-szintetáz- β szintetizálja (MELASON *et al.* 1997).

FREY *et al.* (1997) publikálták, hogy a kukoricában a DIBOA bioszintézisében 5 gén vesz részt. Ezek a 4. kromoszómán találhatók, és Bx₁, Bx₂, Bx₃, Bx₄ és Bx₅ elnevezést kaptak. A Bx₁ kódolja az indol szintetáz- α enzimet, a többi gén a citokróm P450 dependens monooxygenázokat.



3. ábra: A ciklikus hidroxámsavak bioszintézise (MELASON *et al.* 1997)

Foszforibozil-antranilát-izomeráz. (B) Indol-3-glicerol-foszfát-szintáz. (C) Indol- szintáz (triptofán szintáz α). (D) Triptofán-szintáz β . (E) További citokróm P450 által végbemenő oxidációs lépések. (F) Metil-transzferáz. PLP = piridoxál-foszfát



4. ábra: A bioszintézis további részletei (FREY *et al.* 1997; GLAWISCHNIG *et al.* 1999)

2.6. A ciklikus hidroxámsavak biológiai hatásai

2.6.1. Lehetséges fitosziderofor funkció

A sziderofor görög szó, jelentése vashordozó. A definíció szerint szideroforok azok a vegyületek, melyek kis molekulatömegűek (500-1000 dalton), Fe(III)-specifikusak, bioszintézisüket a vasellátás szabályozza és feladatuk a sejtek vassal való táplálása. A szideroforok egyik kémiai szerkezeti csoportját a hidroxamátok képezik. A szideroforok kialakulása evolúciós következmény, szükségességét az aerob, O₂ tartalmú légkör kialakulása tette szükségessé. Aerob körülmények között Fe(II)→Fe(III) átalakulás megy végbe, s a ferri ion hidroxidok formájában leköttődik, mely vegyület nehezen oldható, különösen semlegeshez közeli, vagy lúgos pH-n (NEILANDS, 1981). A vas vegyületeinek oldhatósága pH=4,0 felett a pH egy számértékkel való növekedésével 1/1000 részére csökken (SUGIURA-NOMOTO, 1984).

A ciklikus hidroxámsavak lehetséges szerepére a növények ásványi táplálkozásában DABED *et al.* (1983) és NIEMEYER (1988) utalt először. Felvetésüket arra alapozták, hogy a cHx-ak szerves savakénál stabilabb komplexeket képeznek. A hidroxámsavak vaskomplexáló képességére a mikrobiális hidroxamátok vasfelvételben betöltött szerepe is ráirányította a figyelmet.

A ciklikus hidroxámsavak lehetséges fitosziderofor funkcióját több tény támasztja alá:

1/ A kukoricagyökerek cHx-tartalma a vasellátás függvénye. A 2 hetes kukorica növények gyökereinek GDIMBOA-tartalma FeCl₃ adagolás hatására, 5x10⁻⁸ és 10⁻⁶ mol/L FeCl₃ koncentrációk között növekszik (PETHŐ 1992 c; 1992 d).

2/ A kukorica, búza és rozs cHx-kiválasztása a vasellátás függvénye. A kiválasztott DIMBOA mennyisége a kukorica esetében függ a vasellátottságtól. A ferri-klorid koncentrációjának növelése a tápoldatban fokozza a kukorica DIMBOA-kiválasztást. A vashiányos közegen nevelt kukorica növények DIMBOA-kiválasztása 180, az 5x10⁻⁷ mol/L FeCl₃ adagolás mellett 260, a 10⁻⁶ mol/L FeCl₃ adagolásnál 350 μmol/L DIMBOA koncentrációt eredményezett a tápoldatban (PETHŐ 1992 c, 1992 d).

A búza és a rozs gyökerei is választanak ki hidroxámsavakat. A rozs esetében a kukoricához hasonlóan a vasadagolás hatására növekszik a hidroxámsav-kiválasztás, búza esetében azonban a vasadagolás csökkenti a hidroxámsav-kiválasztást (PETHŐ, 1994).

3/ A fűfélék tápoldatában talált cHx-ak nem mikrobiális eredetűek. Steril tápoldatos kultúra alkalmazásával igazolták, hogy a kukorica tápoldatából izolált hidroxámsavakat a növények termelik (LÉVAI, 1998).

4/ A cHx-ak vaskomplexei megfelelő vasforrások kukorica, rozs, rizs, zab és uborka számára. Pl. a Fe(III)-DIMBOA komplex adagolás hatására a két hetes, vashiányos közegen nevelt kukoricanövények klorózisa megszűnt, a komplex megfelelő vasforrásnak bizonyult (PETHŐ, 1992 d; 1993 b; PETHŐ *et al.* 1997). A GDIBOA Fe(III)-komplexe az uborka klorózisát, mely vas hiánya miatt alakult ki, szintén mérsékli, tehát megfelelő vasforrás (PETHŐ-KOVÁCS, 1996).

Izotóp technika alkalmazásával is igazolták, hogy a cHx-ak vaskomplexei megfelelő vasforrások a kukorica és a rozs számára (LÉVAI, 1998).

5/ A cHx-ak vaskomplexeit a növények felveszik. A vashiányos közegen nevelt kukorica növények a GDIBOA Fe(III)-komplexéből többet vesznek fel, mint vassal megfelelően ellátott közegen nevelt társaik. A ciklikus hidroxámsavakat nem termelő, vashiányos közegen nevelt rizs a GDIMBOA Fe(III)-komplexét felveszi, a hidroxamát a gyökerében, sőt a hajtásában is kimutatható, a komplex hatására a klorózis mérséklődik (PETHŐ, 1993 b; 1994).

6/ A cHx adagolás nem csak a Fe-, de a Cu-, és Mn-tartalmat is növelte uborka esetében. Alacsony koncentrációban (1-3 mikromol/L) alkalmazott GDIBOA, illetve GDIMBOA a 14. és 18. napon adagolva fokozza az uborka leveleiben a Fe-, Cu-, és Mn-tartalmat (PETHŐ-KOVÁCS, 1996).

7/ A cHx-kiválasztás szabályos napi menetet mutat. A szintén fitosziderofor funkciót ellátó mugineinsav típusú vegyületek-kiválasztásának napi menete eltér a cHx-kiválasztás napi menetétől. A kukorica DIMBOA-kiválasztásának napi menete megfelelő vasellátottság mellett (5×10^{-6} mol/L FeCl_3) legmagasabb az éjszakai órákban, majd fokozatosan csökken a nap folyamán. A mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztás napi menete ettől eltérően maximumát a megvilágítás utáni 4. órában éri el. A mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztást a vashiány fokozza, a ciklikus hidroxámsav-kiválasztás általában a vasellátottság növekedésével nő.

Vizgálták a kukorica növények különböző korában a hidroxámsav-kiválasztást (8-16 napos kor között). Vashiányos növényeknél a kor előrehaladásával a hidroxámsav-kiválasztás stagnál, FeCl_3 -al megfelelően ellátott növényeknél pedig emelkedik. Fe(III)-EDTA-val az utóbbi hatást nem lehetett elérni (PETHŐ *et al.* 1997; LÉVAI, 1998).

8/ A mugineinsav típusú fitoszideroforokat kisebb mennyiségben kiválasztó fajok cHx-kiválasztása számottevő. A kukorica, rozs és búza hidroxamát-kiválasztása FeCl_3 -adagolás mellett a felsorolás sorrendjében csökken (PETHŐ, 2000). Az adott fajok mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztásának mennyiségi sorrendje éppen ellenkező.

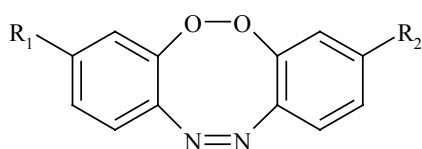
2.6.2. Allelopátiás hatás és fitotoxicitás:

A cHx-aknak és benzoxazolinoknak a fejlődés magasabb fokán álló növények csírázását- és növekedését gátló hatását többen bizonyították (WOLF *et al.* 1985; BARNES *et al.* 1987; PEREZ-ORMENO-NUNEZ, 1991, 1993; PETHŐ, 1992 b; 1993; 1993 a; FRIEBE *et al.* 1995). A DIBOA és a DIMBOA allelopátiás hatása glükozidként magasabb koncentrációban érvényesül, mint aglükonként. E vegyületek kisebb koncentrációban gátolják a kétszikűek csírázását, mint a cHx-akat nem termelő fűfélékét (PETHŐ, 1992 c; 1993 a).

A DIBOA és a DIMBOA *in vitro* toxikusnak mutatkozott a *Chlorella xanthella* algafajjal szemben (BRAVO-LAZO, 1996).

A cHx-ak és a belőlük kialakuló benzoxazolinok származhatnak a hidroxámsavakat termelő fűfélék növényi maradványaiból (BARNES *et al.* 1987), de megtalálhatók a termelő növények gyökérexudátumában is (PEREZ-ORMENO-NUNEZ, 1991; PETHŐ, 1992 d; FRIEBE *et al.* 1995).

A cHx-ak a talajban mikrobiális bomlást szenvednek, mely folyamat felerősíti a cHx-ak allelopátiás hatását, ugyanis a bomlásterméként keletkező 2,2'-oxo-1,1'-azobenzén (a) és e vegyület metoxi származékai (b, c) (5. ábra) növekedést gátló hatásúak (NAIR *et al.* 1990), sőt gátló hatásuk a cHx-akhoz képest erősebb (CHASE *et al.* 1991).



5. ábra: a: 2,2'-oxo-1,1'-azobenzén: $R_1 = R_2 = \text{H}$

b: $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3$

c: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

Kevés adat van a cHx-ak hatásáról az azokat termelő fűfélékre. Kimutatták, hogy a DIMBOA előli a kukoricalevél sejteit mind cHx-akat termelő, mind nem termelő fajták esetében. Plazmolízist, sejt-kollapszust okoz. Ugyanilyen hatása van dohánylevél-, és sárgarépagyökér-sejtekre is. Szöveti szinten nekrozist, torzulásokat okoz. Az utóbbi a lokális sejtnagyobbodás gátlásából fakad (SAHI *et al.* 1995). Elképzelhető hogy a cHx-aknak szerepe van a fertőző ágensekkel szembeni védekezésben a hiperszenzitív szöveti reakción keresztül.

2.6.3. Rezisztenciafaktor szerep:

A cHx-ak részt vesznek a baktériumok, gombák és rovarkártevők elleni rezisztencia, tolerancia kialakításában.

Az MBOA koncentrációtól függően baktericid, vagy gátolja az *Erwinia stewartii* baktériumok szaporodását. E baktérium a kukorica baktériumos hervadását okozza. Az MBOA-nak szerepe van az említett betegséggel szembeni rezisztenciában (WHITNEY-MORTIMORE, 1961). A baktériumos szárrothadásra (*Erwinia spp.*) kevésbé érzékeny kukoricafajták esetében magasabb szöveti GDIMBOA-szintet mértek (BEMILLER-PAPPELIS, 1965). Kimutatták, hogy a kukorica baktériumos lágyrothadását okozó *Erwinia chrysanthemi* szaporodását a DIMBOA és a kukorica szövetek etil-acetátos kivonata egyaránt gátolja. A cHx-at nem termelő bxbx mutáns etil-acetátos kivonata nem rendelkezik gátló hatással. A DIMBOA a GDIMBOA-ból szabadul fel a kórokozó támadásakor (CORCUERA *et al.* 1978).

BRAVO és LAZO (1996) publikálták, hogy a DIBOA-nak és a DIMBOA-nak antimikrobiális hatása van különböző egyéb baktériumokkal (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) szemben is.

A BOA, MBOA és DIMBOA gátolja a *Fusarium nivale* gomba (hópenész) növekedését (VIRTANEN-HIETALA, 1955; WAHLROOS-VIRTANEN, 1958; WAHLROOS-VIRTANEN, 1959). A BOA és MBOA antifungális hatását HOFMAN és HOFMANOVÁ (1971) is igazolta.

A *Puccinia graminis* (búza fekete rozsdá) gombával szemben rezisztens búzafajtákban magasabb a GDIMBOA koncentrációja. Mivel a DIMBOA gátolja a gomba uredospóráinak csírázását, úgy vélik, hogy a β -glükozidázok aktivitásának is szerepe van a rezisztenciában (ELNAGHY-LINKO, 1962; ELNAGHY-SHAW, 1966).

A DIMBOA-koncentráció és a kukorica leveleinek és szárának *Helminthosporium turcicum*-mal (kukorica helmintospóriumos megbetegedése) való fertőzöttsége között negatív korreláció van (LONG *et al.* 1975; LONG *et al.* 1978; TOLDINÉ TÓTH É. 1984).

Az MBOA gátolja a *Penicillium chrysogenum* gomba növekedését, de a táptalajokon különféle penészedést és bakteriális fertőzéseket okozó ágensek kifejlődését is akadályozza (LOOMIS *et al.* 1957).

NIEMEYER (1988) áttekintő publikációjában leírja, hogy a cHx-aknak a fent említetteken kívül a következő gombákkal szembeni rezisztenciában is szerepe van:

- *Fusarium moniliforme* – rizs bolond növekedés
- *Cephalosporium maydis*
- *Fusarium graminearum* – kukorica fuzáriumos megbetegedése
- *Ustilago maidis* – kukorica golyvás üszög gombája
- *Erysiphe graminis* – gabona lisztharmat - búza esetében
- *Cercospora herpotrichoides* - búza szártörő betegsége (szártörő gomba)

Ezeknél a gombáknál is negatív korrelációt tapasztaltak a fajok, fajták cHx-tartalma és a gomba fertőzésének mértéke között.

NAKAGAWA *et al.* (1995) közlik, hogy a DIBOA, és a DIMBOA különböző gombaspórák csírázását gátolja.

A *Candida albicans* gomba növekedését a különböző benzoxazinoidok eltérő mértékben gátolják. A benzoxazinok antifungális hatása kisebb koncentrációnál jelentkezik, mint a laktámoké. Az antifungális hatás feltétele a hidroxámsav csoport megléte (BRAVO-LAZO, 1996).

A cHx-aknak szerepe van a levéltetvek elleni rezisztenciában is. Laboratóriumi etetési kísérletekben a cHx-ak, az alkalmazott koncentráció függvényében a levéltetvek pusztulását okozzák, gátolják szaporodásukat, lassítják fejlődésüket, vagy repellens (elriasztó) hatásuk van. Természetes körülmények között elsősorban repellens hatásuk jelentkezik.

A DIMBOA a *Rhopalosiphum maydis* (zöld kukorica levéltetű) szaporodását gátolja, mortalitását fokozza. A levéltetű-fertőzés mértéke a nagyobb DIMBOA tartalmú kukoricafajtáknál kisebb (LONG *et al.* 1977; BECK *et al.* 1983). A gabonafélék DIMBOA koncentrációja és *Metopolophium dirhodum* (sárgászöld rózsza levéltetű) rezisztenciája között pozitív korrelációt tapasztaltak termesztett búza, durum búza és rozs esetében (ARGANDONA *et al.* 1980). A termesztett búza és a durum búza

Schizaphis graminum (zöld gabona levéltetű) fertőzöttsége elsősorban a cHx tartalom függvénye (ARGANDONA *et al.* 1981 a, b, 1982). Ugyanezt állapították meg a kukoricáról, rozsról is (ZUNIGA *et al.* 1983). Mesterséges etetési kísérletekben a DIMBOA és a GDIMBOA is egyaránt koncentrációtól függően letális, szaporodást gátló, vagy elriasztó hatású a *Schizaphis graminum* levéltetűre. A glükózid az aglükonnal azonos hatást magasabb koncentrációban képes elérni. Hatékony koncentrációik abba a tartományba esnek, amely a levélben is megtalálhatóak (CORCUERA *et al.* 1985). A DIMBOA levéltetű elleni rezisztenciában betöltött szerepével kapcsolatban CORCUERA *et al.* (1982) megállapították, hogy a tritikálé levéltetű rezisztenciája is összefüggésben van a fajta cHx-koncentrációjával.

A cHx-aknak szerepe van a *Sitobion avenae* (gabona levéltetű) elleni rezisztenciában is (NIEMEYER, 1988; LESZCYNYSZKI-DIXON, 1990). A búza floemnedvében található GDIMBOA mennyisége és a *Rhopalosiphum padi* (zelnicemeggy levéltetű) túlélése között negatív korrelációt mutattak ki (GIGOVICH *et al.* 1994). A vad *Hordeum* fajokban található GDIBOA-ból felszabaduló DIBOA szintén toxikus a *R. padi* levéltetűre (BARRIA *et al.* 1992).

A DIMBOA-tartalom és a kukoricamolylal (*Ostrinia nubilalis*) szembeni rezisztencia között szoros pozitív korrelációt mutattak ki, a hernyók első nemzedékénél (LOOMIS *et al.* 1957; TSENG *et al.* 1984; REID *et al.* 1991).

A DIMBOA toxikus a Magyarországon egyre inkább terjedő és egyre több problémát okozó kukoricabogár (*Diabrotica virgifera*) lárvájára is (XIE *et al.* 1990).

2.6.4. Herbicidek, peszticidek méregtelenítése

A cHx-aknak szerepük van a 2-kloro-4,6-dialkilamino-s-triazinokkal (pld: Simazin, Atrazin) szembeni rezisztenciában. E gyomirtó szereket széles kultúrnövény körben, pre- és posztemergensen, egy- és kétszikű gyomok ellen használják. A DIMBOA, GDIMBOA, DIBOA és GDIBOA e herbicid hatóanyagot „in vitro” méregtelenítő hatásáról először 1961-ben számoltak be (ROTH-KNÜSLI). A cHx-ak az említett herbicid hatóanyag hidroxilezését segítik elő, ezzel végzik el a méregtelenítést „in vivo” is (HAMILTON-MORELAND, 1962; HAMILTON, 1964; TIPTON *et al.* 1971; NIEMEYER, 1988). Kimutatták, hogy a kukoricanövénybe jutott herbicid hatóanyag 2-3 nap alatt teljes mértékben átalakul nem mérgező hidroxil formává (NAKANO *et al.* 1973). Különböző fajok, fajták benzoxazin tartalma és a herbicid rezisztencia között

szoros pozitív korrelációt mutattak ki. Ettől függetlenül egyéb tényezők is szerepet játszanak a 2-kloro-4,6-dialkilamino-s-triazinokkal szembeni rezisztenciában, hiszen a benzoxazinokat tartalmazó búza és rozs fogékony az említett herbicid típusra. A rezisztencia mértékét a herbicid felvételének, transzlokációjának sebessége is meghatározza. Ez különböző fajok és fajták esetében eltérő mértékű (HAMILTON, 1964).

A DIMBOA hatékony a talajfertőtlenítő rovarölő szerként használt Diazinon (O,O–dietyl–O-6–metil-2(metyletil)–4-pirimidinil]–tiofoszfát) méregtelenítésében is. A méregtelenítés ez esetben is a hidrolízis serkentésével valósul meg. A diazinon bomlásának mértéke pozitív korrelációt mutatott a DIMBOA mennyiségével és az inkubációs idővel (IOANNOU *et al.* 1980).

2.6.5. A ciklikus hidroxámsavak egyéb biológiai hatásai

A természetes eredetű DIBOA és DIMBOA mutagén hatását mutatták ki *Salmonella typhimurium* baktérium két törzsével szemben. A DIBOA mutagén hatása erősebb volt. A szintetikus analóg vegyületek vizsgálata rámutatott, hogy a ketteshelyzetű hidroxil és a heteshelyzetű metoxi csoportok megléte a mutagén hatás feltétele (HASHIMOTO *et al.* 1979 b).

PETHŐ (1992 a) a benzoxazolinok citokininaktivitását mutatta ki biológiai tesztekben.

Az MBOA fokozza egy észak-amerikai egérfaj (*Microtus montanus*) fertilitását, növeli reprodukív képességét. A vemhes nőtények száma és a hímek heréinek tömege növekszik az MBOA fogyasztás hatására. A tavasszal kihajtó fűféle növények fiatal hajtásaiban a fogyasztás közben kialakuló MBOA „jelzi” a szaporodási szerveknek a tavasz eljöttét. A jelzés felfogója valószínűleg a neuroendokrin rendszer (SANDERS *et al.* 1981; BERGER *et al.* 1981).

A DIMBOA és a DIBOA egyaránt rákkeltőnek bizonyult biológiai tesztekben. E vegyületek 2-hidroxi változatai még veszélyesebbek. A 4-acetoxi változatok képesek a DNS-hez kapcsolódni (NIEMEYER, 1988).

Az előbbi ténnyel ellentétes az a tapasztalat, hogy a rozs pollenjéből izolált DIBOA *in vitro* egy prosztatárak-vonal sejtjeinek növekedését gátolja (ZHANG *et al.* 1995).

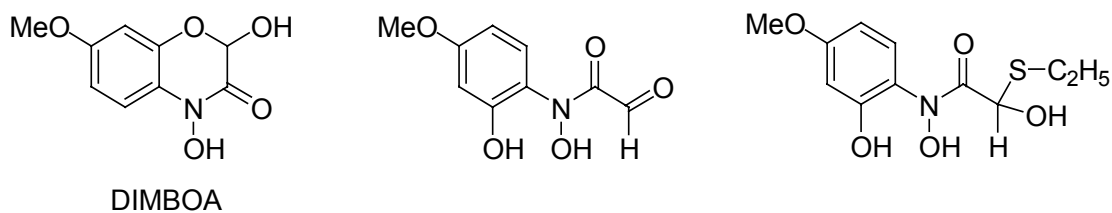
2.6.6. A ciklikus hidroxámsavak biológiai hatásainak okai

A BOA és az MBOA csökkentik az auxinok membránreceptorokhoz való kötődését, ezzel szerepük van az auxinok által indukált megnyúlásos növekedés szabályozásában. Mivel előfordulásuk korlátozott, kialakulásukra pedig csak meghatározott feltételek mellett van lehetőség, szerepük nem lehet általános az auxinok hatásának módosításában, azonban az aktuális növekedésgátló hatásért felelősek lehetnek (RAY *et al.* 1977; VENIS-WATSON, 1978). A DIBOA is gátolja az auxinok kötődését a receptorokhoz (NIEMEYER, 1988).

A DIMBOA gátolja a fotofoszforilálást spenót növényekből izolált kloroplasztiszokban. A hatás az ATP-áz komplex CF₁ komponensének gátlása útján realizálódik (QUERIOLO *et al.* 1981). A DIMBOA gátolja az elektron transzportot kukoricánövényekből izolált kloroplasztiszokban és mitokondriumokban. A GDIMBOA-nak gátló hatása nincs.

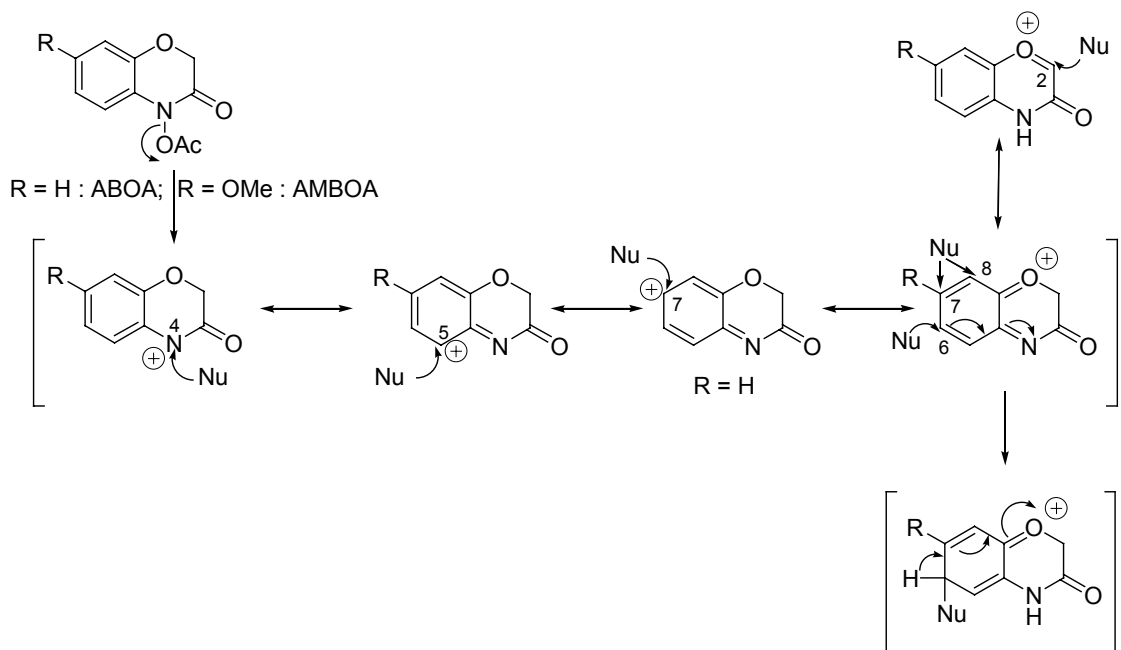
A DIBOA és a DIMBOA az alkalmazott koncentrációtól függő mértékben gátolja az *Avena sativa* plazmamembrán ATP-ázát is, a DIBOA pedig a *Vicia faba* plazmamembrán ATP-ázát (FRIEBE *et al.* 1997).

A cHx-akat termelő növényeknél az elektron transzportot gátló hatás a kloroplasztiszokban és a mitokondriumokban a GDIMBOA és a hidrolizáló β -glükózidáz eltérő kompartmentizációja miatt nem jelentkezik (MASSARDO *et al.* 1994). A DIMBOA élő szervezetekre gyakorolt széles körű hatása tehát az energiaátalakítási folyamatokban betöltött szerepével is magyarázható. A cHx-ak gátló hatását kapcsolatba hozzák –SH csoportokkal kapcsolatos reagáló hajlamukkal. Valószínűsítik, hogy a kloroplasztisz CF₀CF₁ ATP-ázának gátlása is azon alapul, hogy a DIMBOA a fehérje cisztein molekuláihoz kapcsolódik, és ezzel abban olyan molekulaszervezeti változások jönnek létre, amelyek gátolják az ATP-áz működését (NIEMEYER *et al.* 1982), (6. ábra). A DIMBOA-nak enzimek –SH csoportjaival való reagálását mások is megerősítették (ARGANDONA *et al.* 1982; PÉREZ-NIEMEYER, 1985).



6.ábra: DIMBOA-nak –SH csoporttal való reagálása (NIEMEYER *et al.* 1982).

A cHx-ak egyéb módon is reakcióba lépnek a fehérjékkel: aktiválódásuk után (pld. észterifikáció a 4-hidroxi csoporton) reagálnak a fehérjékben található nukleofil, aromás aminosav maradékokkal (ISHIZAKI *et al.* 1983; HASHIMOTO *et al.* 1991). A benzoxazinok O-acetátjai nukleofil ágensekkel reagálnak (fenolok, indolok, etántiol). A reakció centruma a pozitívan töltött N-atom. A 2-metilén-indollal való reakcióban a benzoxazin gyűrű hatos pozíciója a reakció centruma. Az ilyen típusú reakcióknak szerepe lehet a cHx-ak mutagén- és gátló hatásában (HASHIMOTO *et al.* 1979 a, b). A biológiailag aktív benzoxazinok elektrofil természetűe és reakcióik a nukleofil makromolekulákkal kulcsszerepet játszhatnak sokrétű, élő szervezetekre gyakorolt hatásaikban. A DIBOA-t és a DIMBOA-t a biológiai makromolekulák alkilezőinek tartják, bizonyos átalakulások (4-O-acetilezés) után, melyeknek lejátszódására az anyagcserében lehetőség van. A benzoxazin-származékok DNS-re gyakorolt hatásának alapja, hogy a belőlük kialakuló kationos karakterű termék és a DNS kapcsolatából kovalensen módosított DNS alakul ki, mivel a benzoxazin gyűrű és a guanin C8-as szénatomja között kötés létesül. A kationos karakterű termék kialakulására a N-O közötti kötés megbomlásával van lehetőség, s ez leggyakrabban a négyeshelyzetű hidroxil-csoport észterifikációja után, a heteshelyzetű metoxi-, és ketteshelyzetű hidroxil-csoportok megléte esetén valósul meg. A négyeshelyzetű hidroxil csoport elsődleges szerepet játszik biológiai aktivitásukban. A heteshelyzetű metoxi csoport megléte is fokozza biológiai hatásukat. A benzoxazinokból kialakuló elektrofil karakterű vegyületek további többcentrumú elektrofil molekulák kialakulását teszik lehetővé, melyek szintén reakcióba lépnek különböző nukleofilekkel. E hatást az AMBOA-val (4-acetil-2-dezoxi-DIMBOA) igazolták (7. ábra). Hatásaik részben in vivo is ilyen okokra vezethetők vissza (HASHIMOTO *et al.* 1991; HASHIMOTO-SHUDO, 1996).



7. ábra: Többcentrumú elektrofil molekulák kialakulása az ABOA-ból és az AMBOA-ból. ABOA: 4-acetil-2-dezoxi-DIBOA; AMBOA: 4-acetil-2-dezoxi-DIMBOA. (HASHIMOTO-SHUDO, 1996).

Természetes eredetű és szintetikus benzoxazin-származékok hatását vizsgálva *Clorella xanthella* alga szaporodására, az előbbiekkal ellentétben azt tapasztalták, hogy nem a molekula elektrofil természetének erőssége, hanem lipofil karakterének mértéke és a hidroxámsav-csoport megléte szabja meg a szaporodást gátló hatás mértékét. A GDIMBOA-nak és a GDIBOA-nak nem volt antialgális hatása. Vizsgálták az említett vegyületek antifungális hatását is a *Candida albicans* gombára. A GDIMBOA-nak és a GDIBOA-nak sem volt antifungális hatása. Az antifungális hatás kialakulásához is elsősorban a hidroxámsav-csoport megléte szükséges (BRAVO-LAZO, 1996).

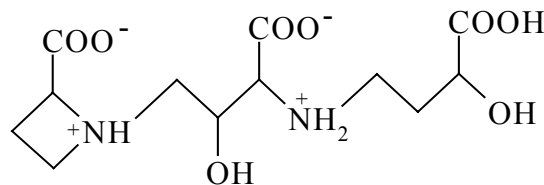
A cHx-ak herbicideket méregtelenítő hatásának feltételezett mechanizmusa szerint 2-kloro-4,6-dialkilamino-s-triazinok Cl-t kötő C-atomja ellen a hidroxamátcsoport O-atomja nukleofil támadást intéz, majd egy intermedieren keresztül a Cl-atom helyét hidroxil csoport foglalja el, így a vegyület kevésbé mérgező formává alakul át. E mechanizmust piridinnel és hidroxilaminnal, mint nukleofilekkel modellezték (NAKANO *et al.* 1973).

A peroxidázok képesek a NADH oxidálására molekuláris oxigénnel és ezzel a H_2O_2 szintézisét segítik elő. A DIMBOA a torma peroxidáz-C enzim esetében serkenti az előbbi folyamatot. Mivel a hidrogén-peroxid a sejtfal elemeinek végső összekapcsolódásában is szerepet játszik, úgy gondolják, hogy a DIMBOA növekedést

gátló hatása hidrogén-peroxid képződését segítő hatásával is összefüggésben lehet (ROJAS *et al.* 1997). A DIMBOA a zab sejtfal-peroxidázainak működését is serkenti a koleoptilokban, úgy, hogy a peroxidáz inaktív formájából aktív formájának kialakulását segíti elő. A zab sejtfal-peroxidáz is a NADH oxidációját katalizálja, s a folyamat H_2O_2 -ot eredményez. Így a DIMBOA a zab koleoptilok növekedését is gátolja. A peroxidázok elősegítik a lignin bioszintézist és a sejtfal poliszaharidjainak összekapcsolódását is, ezzel a sejtfal rigiditását fokozzák (GONZALEZ-ROJAS, 1999).

A DIBOA prosztatarák sejtek növekedését gátló hatását az RNS-reduktáz aktivitás csökkenésével hozzák összefüggésbe (ZHANG *et al.* 1995).

2.7. Mugineinsav típusú fitoszideroforok



8. ábra: A mugineinsav képlete

A fitoszideroforként elismert mugineinsav típusú vegyületek közül az utóbbi évtizedekben többet izoláltak: mugineinsav (TAKAGI, 1976), aveninsav (FUSHIYA *et al.* 1980), 2'-deoxi-mugineinsav (NOMOTO *et al.* 1981), 3'-hidroximugineinsav, disztikhonsav (SUGIURA-NOMOTO, 1984). A mugineinsav típusú vegyületek nem fehérjeépítő aminosavak. E vegyületeket több fűféle növényfaj termeli: rizs, zab, termesztett búza, árpa, kukorica, cirok és gyökerein keresztül kiválasztja (TAKAGI, 1976; FUSHIYA *et al.* 1980; SUGIURA-TANAKA, 1981; NOMOTO *et al.* 1981; SUGIURA-NOMOTO, 1984; TAKAGI *et al.* 1984; LYTLE-JOLLEY, 1991; ZHANG *et al.* 1991 a; YEHUDA *et al.* 1997). A különböző fajok mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztásának mértéke eltérő (6. táblázat). A kiválasztott mennyiség egységnyi gyökértömegre vonatkoztatva a következő sorrendet mutatja: árpa > termesztett búza > zab > rozs >> kukorica >> cirok > rizs (LYTLE-JOLLEY, 1991; ZHANG *et al.* 1991 a).

6. táblázat

Néhány 16 napos, nem steril kultúrában nevelt, vashiányos növény mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztása RÖMHELD (1991) szerint (mikromol/g száraz gyökér tömeg/nap)

Növény	Átlag	Minimum és maximum értékek
Árpa	8,2	6,0-20,0
Termesztett búza	7,5	5,0-16,0
Rozs	2,7	2,0-6,0
Cirok	0,4	0,1-2,0

A mugineinsav típusú vegyületek kiválasztása vas-, réz-, mangán-, és cinkhiányban növényfajtól függően fokozódhat (TAKAGI, 1976; FUSHIYA *et al.* 1980; NOMOTO *et al.* 1981; TAKAGI *et al.* 1984; ZHANG *et al.* 1989; ZHANG *et al.* 1991 b; ERENOGLU *et al.* 1997; HOPKINS *et al.* 1997; GRIES *et al.* 1997; ERENOGLU *et al.* 1997). E vegyületek komplexeket képeznek az említett ionokkal és a növények a komplexeket veszik fel. Az oxidált vas felvétele után a redukció a gyökéren belül következik be (SUGIURA-NOMOTO, 1984; MARSCHNER *et al.* 1986; RÖMHELD-MARSCHNER, 1986; RÖMHELD, 1987).

A mugineinsav típusú vegyületek sziderofor funkciót látnak el a *Poaceae* család növényeinél, vagyis ugyanazt a szerepet játsszák, mint a mikrobiális szideroforok,- azaz a nehezen oldható vasvegyületből a vasat mobilizálják, az oxidált állapotú vas ionokkal komplexet képeznek-, ezért nevezték el TAKAGI *et al.* (1984) a mugineinsav típusú vegyületeket fitoszideroforoknak, vagyis növényi szideroforoknak.

A jelentős mértékű mugineinsav-típusú fitosziderofor kiválasztással rendelkező fűféle növények vasigényüket a fitoszideroforok vaskomplexeiből fedezik (MARSCHNER *et al.* 1986; RÖMHELD-MARSCHNER, 1986; RÖMHELD, 1987)

A kis mértékű mugineinsav-kiválasztással rendelkező növények RÖMHELD (1991) szerint a következő forrásokból fedezik vasigényüket: a szervesen kötött vas, a mikrobiális eredetű szideroforok vaskomplexei, Fe(III)→Fe(II) átalakulás és a Fe(II)-felvétel. A mugineinsav típusú vegyületek vasfelvételben betöltött szerepét bizonyítja, hogy a Fe(III)-komplexeik megfelelő vasforrásnak bizonyultak a növények számára

(NOMOTO *et al.* 1981; SUGIURA-TANAKA, 1981; MINO *et al.* 1983; TAKAGI *et al.* 1984; HOPKINS *et al.* 1992). A vasfelvételben hatékony pázsitfűfélék jelentős fitosziderofor-kiválasztással rendelkeznek, melynek következtében vasmobilizáló és felvevő képességük jelentősen nő. Hatékonyan hasznosítják a mikrobiális szideroforok vaskomplexeit is, míg a vasfelvételben nem hatékony növények e mechanizmusai nem, vagy csökkent mértékben működnek (LYTLE-JOLLEY, 1991).

A vas-, réz-, és cinkhiányban kiválasztott mugineinsav típusú vegyületek különféle egyéb fémionokkal is komplexeket képezhetnek, - beleértve a nehézfémionokat - segítve azok felvételét (TREEBY *et al.* 1989; RÖMHELD, 1991; AWAD-RÖMHELD, 1997 a).

A mugineinsav típusú vegyületek fémkomplexeinek stabilitását többen vizsgálták. A megállapított stabilitási állandók: mugineinsav-Fe(III)=18,1 (MINO *et al.* 1981), mugineinsav-Fe(II)=8,1 (MINO *et al.* 1983; SUGIURA-TANAKA, 1981), mugineinsav-Cu(II)=18,3, mugineinsav-Zn(II)=10,7. A mugineinsav típusú vegyületek a mikrobiális szideroforoknál stabilabb Fe(III)-komplexeiket képeznek (SUGIURA-TANAKA, 1981). A nehézfém kivonó képességüket összehasonlítva a mikrobiális szideroforokéval (pl: Desferal) megállapították, hogy azonos hatékonysággal működnek (AWAD-RÖMHELD, 1997 b). Összehasonlítva a mugineinsav típusú fitoszideroforok és a ciklikus hidroxámsavak fémkomplexeinek stabilitását, azt tapasztaljuk, hogy az előbbieké jóval nagyobb.

A mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztás szabályos napi ritmust mutat: vashiányos árpa esetében a sötét periódusban a kiválasztott mennyiség minimális, nappal viszont a megvilágítás kezdetétől számított 2 óra után fokozódik a kiválasztás, mely maximumát a megvilágítás kezdete után 4 órával éri el, majd a megvilágítás kezdete utáni 10. órában újra minimális lesz (TAKAGI *et al.* 1984). A vashiányos búza fitosziderofor-kiválasztásának napi ritmusa a következőképpen alakul: a megvilágítás kezdete után minimális, majd emelkedni kezd és maximumát a megvilágítás kezdete utáni 4. - 5. órában éri el, majd újra kisebb értéket vesz fel, és a minimumra esik vissza kb. 18 óra körül. A vassal megfelelően ellátott növényeknél ez a napi ritmus nem tapasztalható, a fitosziderofor-kiválasztás egész nap a minimális szinten marad (ZHANG *et al.* 1991 a). A fitosziderofor kiválasztást a környezeti tényezők is befolyásolják: pl. a fényintenzitás (CAKMAK *et al.* 1997). A C₄-es növények (kukorica, cirok) fitosziderofor-kiválasztása, függetlenül a vasellátástól a nap folyamán állandó, alacsony értéket mutat (YEHUDA *et al.* 1997). A mugineinsav típusú

fitosziderofor- kiválasztás napi ritmusa eltér a cHx-kiválasztás napi ritmusától (PETHŐ *et al.* 1997).

2.8. Mikroszervezetek és gombák által kiválasztott szideroforok jellemzői

1/ Kémiaiilag egy részük hidroxamát típusú és szerepük van a termelő mikroorganizmusok vasellátásában.

A trihidroxamátokhoz tartozó ferrioxiamint *Streptomyces* fajokból, a ferrikrómokat *Ustilago* fajokból izolálták. Molekulánként 3 hidroxámsav csoportot tartalmaznak. Fe(III)-ionnal stabil komplexeket képeznek. Szerepet játszanak a mikroorganizmusok vasanyagcseréjében. A pH=9-nél 1: 1, pH=7-nél 3: 1 komplexeket képeznek.

Vashiányban a mikroorganizmusok hidroxamát-kiválasztása fokozódik. Vannak hidroxámsavat ciklusos kötésben tartalmazó bakteriális és gomba termelte vegyületek is, pl: mikobaktin, aszpergillinsav (NEILANDS, 1967). A jelenleg ismert mikrobiális hidroxamát típusú szideroforokhoz tartoznak a ferrikrómok, rhodotorulsav, citrát-hidroxamátok, mikobaktinok, ferrioxiaminok (NEILANDS, 1981).

A bakteriális eredetű hidroxamát típusú szideroforok vaskomplexeinek stabilitása nagyobb, mint a szerves savak, vagy az EDTA-Fe(III)-komplexeié pld: $\log K_{\text{ferrioxiamin}} = 31$ (POWELL *et al.* 1980; NEILANDS, 1981).

2/ A talajban megtalálhatók.

A mikrobiális eredetű hidroxamát típusú szideroforok mennyisége a talajban alkalmas arra, hogy szerepe legyen a növények vasellátásában is (10^{-7} – 10^{-8} mol/L vizes talajkivonat). A magasabb szervesanyag-tartalmú talajokban mennyiségük az előbb leírt értékeken belül nagyobb. A talajban található mikrobiális eredetű szideroforok nagy része szervesanyagokhoz kötötten található, mintegy raktárként (POWELL *et al.* 1980).

3/ A talaj szervesanyagokhoz kötötten található, mintegy raktárként (POWELL *et al.* 1980).

Meszes talajokon a talajoldatban akár 60%-os is lehet a mikrobiális hidroxamátok által komplexált vas mennyisége az összes vastartalomtól. A vas(III)-hidroxamátok mennyisége a környezeti tényezőktől függ, valamint szezonálisan is változik. E vegyületeknek jelentős szerepe lehet a növények vasfelvételében: a felbomlott komplexekből és a vasat felvett mikroorganizmusok szétválasztásából jelentős mennyiségű vashoz juthatnak (HÖRDT-RÖMHELD, 1997).

4/ A mikorhiza gombák is termelnek hidroxamát típusú szideroforokat, valamint megvan a lehetősége a vason kívül az egyéb fémekkel történő komplexképzésnek is.

Egy mikorhizát alkotó gomba (*Suillus granulatus*) által kiválasztott trihidroxamát típusú szideroforok vas és alumínium vegyületekből is képesek a fémionokat oldatba vinni. A növények szempontjából lényeges, hogy a gyökereikkel szimbiózisban élő gombák sziderofor-kiválasztásukkal vas- és egyéb mikroelem-forrást biztosítanak számukra is (WATTEAU-BERTHELIN, 1994). Megvan a lehetősége, hogy a szideroforok az aktinidákkal (89-103 rendszámú elemek) is komplexeket képezzenek és bejuttassák azokat a biológiai rendszerekbe (NEILANDS, 1981).

2.9. A ciklikus hidroxámsavak mennyiségi meghatározási módszerei és növényi mintaelőkészítési eljárások

Számos módszert használtak már a cHx-ak és származékaik mennyiségi meghatározására. E módszerek több csoportba sorolhatók.

Az első csoportba a benzoxazinokat a belőlük kialakuló benzoxazolinok mennyisége alapján határozzák meg. A benzoxazolinok mennyisége mérhető spektrofotométerrel (BECK *et al.* 1957; SCISM *et al.* 1974), gázkromatográfiás módszerrel (TANG *et al.* 1975), magas nyomású folyadékkromatográfiával (PESSI-SCALORBI, 1979), spektrofluorimetriás módszerrel, valamint izotópkioldásos eljárással (NIEMEYER, 1988). A fentebb leírt módszercsoport hátránya, hogy a benzoxazin→benzoxazolin átalakulás csak meghatározott feltételek mellett tekinthető kvantitatívnak (BRAVO-NIEMEYER, 1986 a; PETHŐ, 1992 b). A cHx-ak bomlása, a kialakuló benzoxazolinok mennyisége a pH-tól, a hőmérséklettől és a reakcióközegtől függ (WOODWARD *et al.* 1978). CAMBIER *et al.* (1999 b) e módszercsoport újabb hibáját mutatták ki. Leírják, hogy a HDMBOA (-N-O metilált DIMBOA) igen instabil, MBOA-vá bomlik, csakúgy, mint a DIMBOA. Ez a tény felveti, hogy a DIMBOA azon típusú meghatározási módszerei, ahol a belőle keletkező MBOA mennyiségéből következtetnek a DIMBOA mennyiségére, hibával terheltek. E módszercsoport nem teszi lehetővé a glükozidok és az aglükonok közti különbségtételt sem.

A mennyiségi meghatározási módszerek másik csoportja a cHx-ak összes mennyiségét méri a kialakult kék színű Fe(III)-komplexek mennyisége alapján kolorimetriás eljárással (HAMILTON, 1964; LONG *et al.* 1974; ARGANDONA *et al.* 1980). E módszerek a cHx-ak összes mennyiségét megbízhatóan meghatározzák, de nem adnak felvilágosítást ezen belül az egyes vegyületek mennyiségéről.

A legújabb eljárások az egyes cHx-ak, valamint származékaik mennyiségi meghatározását is lehetővé teszik. Ehhez gázkromatográfiát (WOODWARD *et al.* 1979 a; b), vékonyréteg kromatográfiával kombinált UV módszert (ZUNIGA *et al.* 1983), vagy magas nyomású folyadékkromatográfiát (HPLC) használnak (GUTIERREZ *et al.* 1982; LYONS *et al.* 1988). Az utóbbi években a cHx-ak mennyiségi meghatározására elsősorban a HPLC módszereket alkalmazzák, melyek tovább finomodtak elsősorban a különböző új típusú oszlopok, valamint oldószerkegyek alkalmazása útján (XIE *et al.* 1991 b; NAKAGAWA *et al.* 1995; PRATT *et al.* 1995; BAUMELER *et al.* 2000). Ettől függetlenül önmagukban alkalmazva nem mindig alkalmasak az egyes vegyületek megfelelő elválasztására, ezért egyéb eljárásokkal kapcsolják azokat össze: pl: CAMBIER *et al.* (1999 a) HPLC, atmoszférikus nyomáson végzett ionizáció és tömegspektrometria (APCI/MS/MS) segítségével vizsgálták a benzoxazin-származékokat.

A ciklikus hidroxámsavak növényi mintákból történő mennyiségi meghatározása változatos mintaelőkészítési eljárásokkal oldható meg. A kimutatható cHx típusa szorosan összefügg a mintaelőkészítési eljárás módjával (BAUMELER *et al.* 2000), a mintaelőkészítési eljárás pedig a meghatározás módszerével. A mintaelőkészítési eljárások a legtöbb esetben több, különböző típusú, változatos preparatív, tisztítási eljárás egymásutánjából állnak. Az alábbiakban a legfontosabb szempontok szerint kerülnek rendszerezésre.

Amikor a benzoxazin→benzoxazolin átalakulás termékét kívánják meghatározni (első mérési módszer csoport), a növényi anyagot általában desztillált vízben homogenizálják, majd a tisztítás bizonyos fázisában az oldatot 100 °C-ra melegítik. Ezzel elősegítik az átalakulást. A benzoxazolinokat általában diklór-metánnal vonják ki.

Amennyiben a cHx-ak összes mennyiségét kívánják meghatározni a kialakult Fe(III)-komplexek mennyisége alapján (második mérési módszer csoport), a növényi anyag homogenizálásakor, vagy az után az oldat pH-ját 2-3 közötti értékre csökkentik, mely meggátolja a benzoxazinok bomlását.

Az egyes, különböző cHx-ak mennyiségét meghatározó műszeres méréseket (harmadik és negyedik mérési módszer csoport) megelőző mintaelőkészítési eljárásokban a benzoxazin aglükonok izolálásakor a növényi anyagot desztillált vízzel homogenizálják, majd állni hagyják a glükozidok bomlása végett. Ez után az oldat pH-ját lecsökkentik, majd az aglükonokat etil-acetáttal, vagy dietil-éterrel vonják ki. A benzoxazin-glükozidok meghatározásához a növényi anyagot el kell ölni. A növényi

anyag feldolgozása során a glükozidokat többféle módszerrel lehet megőrizni, és a hidrolízist megakadályozni: az ép növényt forró vízbe, vagy forró etanolba kell helyezni, vagy 70%-os alkoholban $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolni (VIRTANEN-HIETALA, 1960), vagy folyékony N_2 -be kell tenni (HOFMAN-HOFMANOVÁ, 1969 a.). A többlépcsős tisztítási eljárás során a glükozidokat metanollal, n-butanollal, vagy etil- acetáttal lehet kivonni.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Felhasznált növények és fajták

Uborka (*Cucumis sativus* L.) Fajtái: Budai korai és Joker F1. Rozs (*Secale cereale* L.) Fajta: Kisvárdai. Termesztett búza (*Triticum aestivum* L.) Fajta: Mv 16. Kukorica (*Zea mays* L.) Fajta: Norma „SC” és bxbx. A bxbx kukorica fajtát a Maize Genetics COOP Stock Center (Urbana, Illinois, USA) biztosította. A kísérletekhez szükséges mennyiségű vetőmaghoz önbeporzással történő felszaporítással jutottam (1. és 2. kép; 42. o.).

3.2. Nevelési körülmények

A növényeket klímakamrában, tápoldaton neveltem (3-6. képek; 43-44. o.). A megvilágítás időtartama 16 óra, intenzitása 240 W/m^2 , a termoperiódus $25/22 \text{ }^\circ\text{C}$, a páratartalom 65-70%. A növények magjait/szemterméseit 3%-os H_2O_2 oldattal, vagy ötszörös higítású hypo oldattal felületileg sterilizáltam, steril desztillált vízzel mostam, majd 2 napig $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -os termosztátban, nedves szűrőpapíron csíráztattam. A fejlettség alapján szelektált növényeket műanyag háló segítségével $5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ koncentrációjú CaSO_4 oldatra raktam sötét termosztátba, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -ra, a hipokotilok/mezokotilok megnyúlása végett. Ez után a hipokotilok/mezokotilok köré sterilizált szivacsot tekertem, mellyel a tápoldat felett elhelyezkedő műanyag lapokban lévő furatokba helyeztem a növényeket. A megvilágítás, tápoldat adagolás és levegőztetés ez után kezdődött. Az uborkanövények tápoldatát CSEH *et al.* (1982) szerint, a következőképpen állítottam össze:

KNO_3	$1,25 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	$1,25 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	$0,50 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
KH_2PO_4	$0,25 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$
H_3BO_3	$1,15 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	$4,60 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	$1,90 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	$1,24 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	$8,00 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$

A kukoricánövények tápoldatát TREEBY *et al.* (1989) szerint, a következőképpen állítottam össze:

K ₂ SO ₄	0,70 x 10 ⁻³ mol/L
KCl	0,10 x 10 ⁻³ mol/L
Ca(NO ₃) ₂	2,00 x 10 ⁻³ mol/L
MgSO ₄	0,50 x 10 ⁻³ mol/L
KH ₂ PO ₄	0,10 x 10 ⁻³ mol/L
H ₃ BO ₃	1,00 x 10 ⁻⁵ mol/L
MnSO ₄	5,00 x 10 ⁻⁷ mol/L
ZnSO ₄	5,00 x 10 ⁻⁷ mol/L
CuSO ₄	2,00 x 10 ⁻⁷ mol/l
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	1,00 x 10 ⁻⁸ mol/L

A tápoldatokat egyszer desztillált vízzel készítettem el. Az uborkanövények tápoldatának pH-ja 3,7, a kukorica növények tápoldatának pH-ja 4,0 értékű volt, amely a növények nevelése során jelentősen nem változott. 3 liter tápoldatra mindkét növényfajból 20 db került, de kukoricát neveltem 1liter űrtartalmú edényekben is, és ekkor 10 növény került 1liter tápoldatra, s ilyenkor a növényeket a tápoldat felett elhelyezett műanyag háló segítségével rögzítettem. A hidroxámsav-kiválasztás összehasonlításakor kukoricából 15, búzából és rozsból 25-25 növény került az 1 liter űrtartalmú, sötét falú edényekre. A tápoldatot 3 naponta cseréltem és folyamatosan levegőztettem. A vasadagolás mértéke és formája az egyes kísérletekben más-más volt. Kísérleteimben a cHx-ak jól oldódó, kétszikűekre kevésbé toxikus glükozidjait (főként GDIBOA) adagoltam. A kukoricával végzett kísérletekben a GDIMBOA-t használtam, mivel kukoricában főként e vegyület fordul elő.



1.-2. képek: A bxbx mutáns felszaporítása a Tanszék Agrobotanikai Bemutató Kertjében





3.-4. Képek: Tápoldatos kukoricanövények 3 literes edényeken.



5. kép: Tápoldatos fiatal kukoricanövények 1 literes edényeken

6. kép: Tápoldatos uborkanövények 3 literes edényeken



3.3. A GDIBOA és a GDIMBOA izolálása növényi anyagból

PETHŐ (1993 b) alapján a friss növényi anyagot forró vízzel előljük (30-40 ml desztillált víz/2-4 g friss növényi tömeg), ezzel a β -glükozidázokat inaktiváljuk. Az előlt növényi anyagot dörzscsészében kvarchomok segítségével homogenizáljuk, majd a forraló vízzel azonos mennyiségű abszolút etanollal Erlenmeyer-lombikba mossuk. A mintákat ez után horizontális rázógépen 30 percig rázatjuk, majd centrifugáljuk. A felülúszót vákuumban a vizes fázisig bepároljuk, majd háromszor, azonos mennyiségű n-butanollal kirázzuk. Az egyesített butanolos fázisokat szintén bepároljuk, majd a maradékot kromatografáljuk Whatman 3MM papíron, etil-acetát: hangyasav: víz = 65: 5: 35 arányú oldószer-elegyének felső fázisával. A kromatogram 120-150 perces lefutása után a cHx-glükozidok az $R_f = 0,12$ régió kivágásával és a papír 35 %-os etanollal történő eluálásával izolálhatók. A cHx-glükozidok pontos helye a kromatogramon UV abszorpciójuk és ferri-klorid reagenssel adott pozitív színreakciójuk alapján határozható meg. További tisztítás Sephadex LH-20 oszlopon, 30%-os etanollal történik. A ferri-klorid-aktív frakciókat vákuumban szárazra pároljuk, majd 0,5 ml 35%-os etanollal felvesszük és mikroszűrőn szűrjük. A cHx-glükozidok mennyiségét HPLC analízissel állapítjuk meg. Analízishez 20 μ l-es mintákat viszünk fel. A felhasznált készülék Labor MIM gyártmányú Liquochrom 2010. Oszlop: 4x250 miliméter méretű Chromsil C₁₈, fordított fázisú 10 μ m-es gyantamérettel. Átfolyási sebesség: 1 ml/perc, elúció lineáris gradienssel, 20%-os metanol koncentrációról indulva, percenként 5%-al emelve a metanol koncentrációját 50%-os koncentrációig. Detektálás a vegyületekre jellemző hullámhosszon.

A cHx-glükozidok kereskedelmi forgalomban nem kaphatók, ezért általunk izolált és kromatográfiásan tisztított preparátumokkal készített kalibrációs görbék segítségével, a csúcsmagasságok alapján határozzuk meg mennyiségüket, alapvetően CORCUERA *et al.* (1978) módszere alapján. Ennek lényege, hogy a GDIMBOA-t és ennek bomlástermékeit (DIMBOA, MBOA) fiatal kukoricahajtásokból, a GDIBOA-t és annak bomlástermékeit (DIBOA, BOA) fiatal rozshajtásokból izoláljuk. Etil-acetátos extrakciót követő papír- és oszlopkromatográfiás tisztítás után a képződő tiszta, kristályos termékek tömegmérése, és megfelelő töménységű oldatok készítése után a későbbi meghatározásoknál használt HPLC analízis eljárásokkal meghatározzuk a jellemző abszorpciós hullámhosszokon a retenciós időket és a csúcsmagasságokat. E

mérésekből kalibrációs görbék készülnek, melyek a későbbiekben az ismeretlen mennyiségű benzoxazin mennyiségi és minőségi meghatározását teszik lehetővé.

3.4. A gyökerek által kiválasztott ciklikus hidroxámsavak meghatározásának módszere

A gyökérexudátumok gyűjtésekor a növényeket a tápoldatról levesszük, gyökereikről a tápoldat maradványait desztillált vízzel lemossuk, majd 0,2 liter levegőztetett, desztillált vizet tartalmazó edényekre rakjuk 4 órára. A gyökérexudátumok bomlásának megakadályozása végett Mikroport (Ag^+ só, Fa Roth, Calsruhe) adagolunk 1 mg/100 ml mennyiségben. A gyökereket az inkubációs idő letelte után izoláljuk, és tömegállandóságig szárítjuk, majd lemérjük a száraz tömegüket. Az oldatokat kis mennyiségre bepároljuk (kb. 20 ml), majd háromszor, azonos mennyiségű etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázisokat egyesítjük, majd vákuumban szárazra pároljuk. A maradékot kis térfogatú, 70%-os etanollal felvesszük, majd kromatografáljuk Whatman 3MM papíron, etil-acetát: hangyasav: víz = 65: 5: 35 arányú oldószerkelegyenek felső fázisával. Az $R_f=0,8-1,0$ zónából a cHx-akat metanollal eluáljuk, majd 0,03 mol/dm³ töménységű NH_4OH jelenlétében 60 °C-on az oldatokat bepároljuk. E hőkezelés során a benzoxazinok benzoxazolinokká alakulnak, melyek stabilabb vegyületek. A maradékot kis mennyiségű 50%-os metanollal felvesszük. A benzoxazinokkal ekvivalens mennyiségű benzoxazolinok mennyiségi meghatározása HPLC segítségével az előzőekben leírtakhoz hasonló elvek szerint történik, azzal a különbséggel, hogy a szolvens 50%-os metanol, amely 0,02 mol Na-acetátot tartalmaz (pH= 5,6).

3.5. A gyökerek által kiválasztott mugineinsav típusú fitoszideroforok mennyiségének meghatározási módszere

A növények gyökereit desztillált vízzel többször lemossuk, majd meghatározott időtartamra desztillált vízbe állítjuk. A gyökérexudátumok bomlásának megakadályozása végett Mikroport (Ag^+ só, Fa Roth, Calsruhe) adagolunk 1 mg/100 ml mennyiségben. Az inkubációs idő letelte után az oldatokat kis mennyiségre (30-50 ml) vákuumban, maximum 50 °C-on bepároljuk. A gyökereket tömegállandóságig szárítjuk és lemérjük száraz tömegüket. A mennyiségi meghatározás ZHANG *et al.*

(1989) eljárása alapján a következőképpen végezhető: 6,5-7,0 pH- jú $\text{Fe}(\text{OH})_3$ oldatot készítünk. A bepárolt oldatokból (melyekben a növények gyökerei voltak) 5 ml-t kiveszünk, hozzáadunk 0,25 ml 0,5 molos Na-acetát puffert (pH=5,6), majd az oldat pH-ját híg NaOH, vagy H_2SO_4 oldattal 5,6-ra állítjuk be. Az elkészített $\text{Fe}(\text{OH})_3$ oldatból 1 ml-t hozzáadunk, majd rázatással 55 °C-on 2 óráig inkubáljuk. Ez után 0,1 ml 3n H_2SO_4 oldatra szűrjük rá a reakcióelegyet 3G jelű üvegszűrőn. 4 ml-t kiveszünk, majd 0,2 ml 8 %-os hidroxilamin oldatot adagolunk, mellyel 55 °C-on 20 percig inkubáljuk. Ez után 0,2 ml 0,25 %-os ferrozin oldatot, majd 0,4 ml Na- acetát puffert (2 mol/L, pH=4,7) adagolunk. A kialakult színintenzitás 562 nm-en végzett fotometrállással számszerűsíthető. A mugineinsav típusú fitoszideroforok mennyisége a mért abszorbancia értékek alapján standard görbéről olvasható le, illetve számolható. Az oldatok mennyiségének és a száraz gyökértömegeknek ismeretében a mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztás mértéke számítható $\mu\text{g/g}$ száraz gyökér tömeg értékben.

3.6. A minták elemtartalmának meghatározása, értékelési módszerek

A minták elemtartalmának meghatározása LABTAM 8440M szekvens-szimultán induktív csatolású plazmaemissziós spektrométer (ICP) segítségével, vagy VARIAN SPECTRA AA 10 atomabszorpciós spektrométerrel történt. A mintákba amennyiben lehetséges volt, csak a kísérletek kezelése után kifejlődött hajtásrészek kerültek. Egyéb esetekben az uborkahajtások sziklevelek feletti része, a pázsitfűféle növények hajtásainak koleoptil nádusz feletti, koleoptil nélküli része került bele a mintákba. A táblázatokban szereplő adatok minden esetben három ismétlés átlagát képviselik. Mintaszám: n=6, vagy 9. A megjelölt különbségek az esetek többségében legalább P= 1,0 %-os szinten szignifikánsak, a kisebb arányban előforduló P= 5 %-os szintet *- al, a nem szignifikáns különbségeket n.s. jelöléssel láttam el a táblázatokban a számok mellett, valamint az ábrákban a diagramoszlopok felett.

A kísérleteket és a laboratóriumi munkát a Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdasági Növényteni- és Növényélettani Tanszék növényélettani laboratóriumában és klímaszobájában, valamint agrobotanikai bemutatókertjében végeztem. A minták elemtartalmát a Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszéken, illetve a Debreceni

Egyetem Természettudományi Karának Analitikai és Szervetlen Kémiai Tanszékén
mérték le.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Mikroelem-felvétel

4.1.1. A ciklikus hidroxámsavak alkalmazása tápoldatos kísérletekben

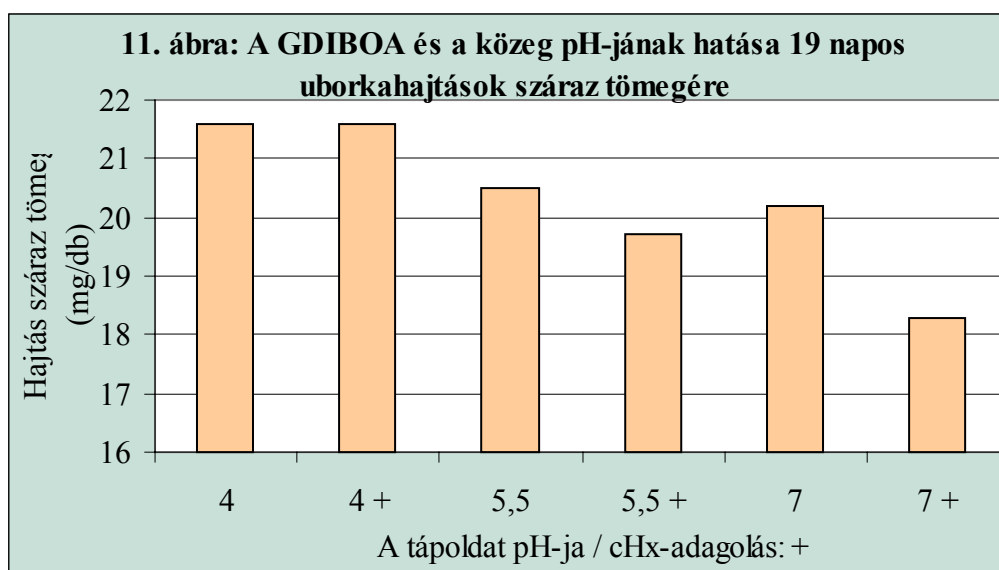
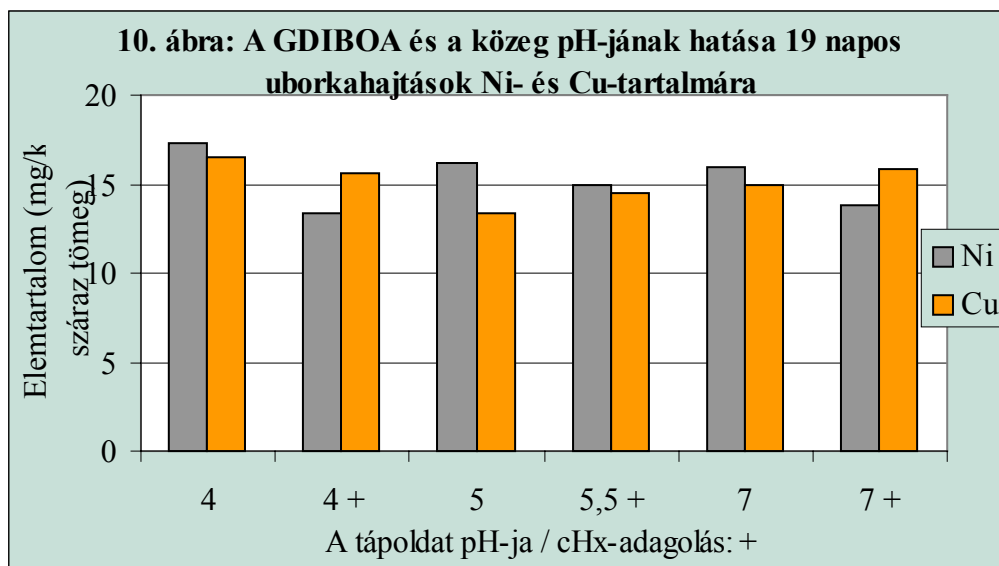
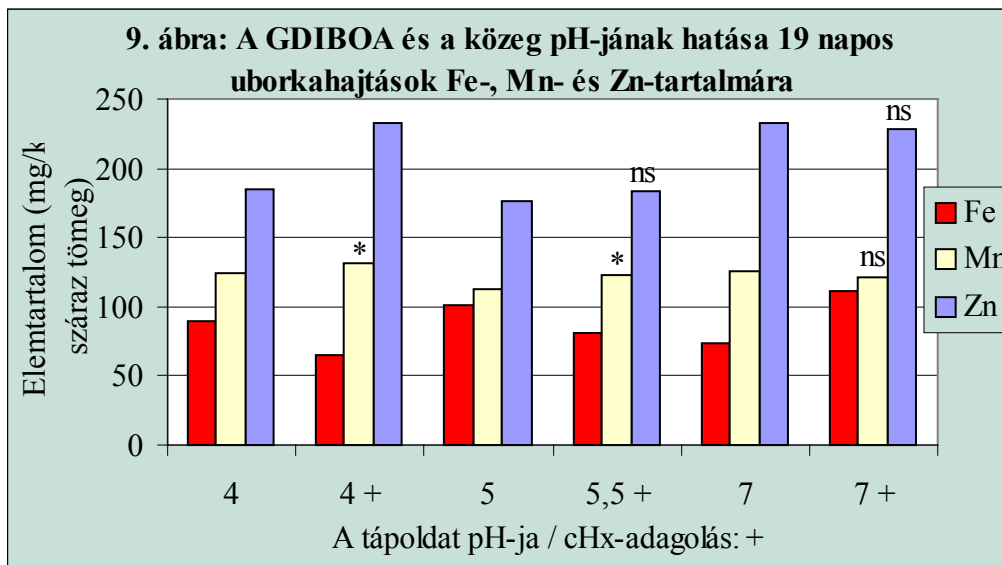
A hidroxamát-glükozidok alkalmazása tápoldatos kísérletekben kétféleképpen történt: egyik esetben a vizsgálandó elemre hiányos tápoldaton nevelt növényeket 1-6 órán át az elem hidroxamát-glükozidos komplexének oldatán inkubáltam, majd visszakerültek a hiányos tápoldatra. Más esetekben a hidroxamát-glükozid komplexét a tápoldathoz adtam a mintavétel előtti harmadik, vagy harmadik és hatodik napon. Így a komplex 3-6 napig érintkezett a növények gyökereivel.

4.1.2. Határozott idejű ciklikus hidroxámsav-glükozidos kezelés hatása az uborka mikroelem-felvételére különböző pH-n

15 napig mikroelemektől mentes közegen előnevelt uborkanövényeket 2 órára az alapoldatnak (CSEH *et al.* 1982) megfelelő koncentrációjú mikroelemoldatra helyeztem át, melyet 5×10^{-5} mol/L mennyiségben FeCl_3 -al, illetve 10^{-7} mol/L mennyiségben NiSO_4 -al egészítettem ki, majd a növények visszakerültek mikroelemektől mentes tápoldatra. A mikroelemoldat pH-ját 4,0, 5,5 és 7,0 értékekre állítottam be. Különböző pH-n a növények egyik csoportja 10^{-4} mol/L mennyiségben GDIBOA-t kapott. A hajtások mikroelem-tartalmát és száraz tömegét a 3 nap után vett mintákban határoztuk meg. Az adatokat a 7. táblázat, grafikus megjelenítésüket a 9. 10. és 11. ábrák tartalmazzák.

A GDIBOA-adagolás a Fe-tartalmat pH=7,0 értéknél, a Mn-tartalmat pH=4,0 és 5,5 értékeknél, a Zn-tartalmat pH=4,0 értéknél, a Cu-tartalmat pedig pH=5,5 és 7,0 értékeknél növelte. A hidroxamát-adagolás hatására csökkent a Cu-tartalom pH=4,0 és a Fe-tartalom pH=4,0 és 5,5 értékeknél. A hidroxamát-adagolás mindegyik pH-n csökkentette a Ni-tartalmat.

A pH=4,0 értéknél a hajtás száraz tömege hidroxámsav-adagolás mellett nem változott, 5,5 és 7,0 értékeknél viszont 3,9, illetve 9,4%-al csökkent. A pH növekedésével a gátló hatás erősödött.



7. táblázat

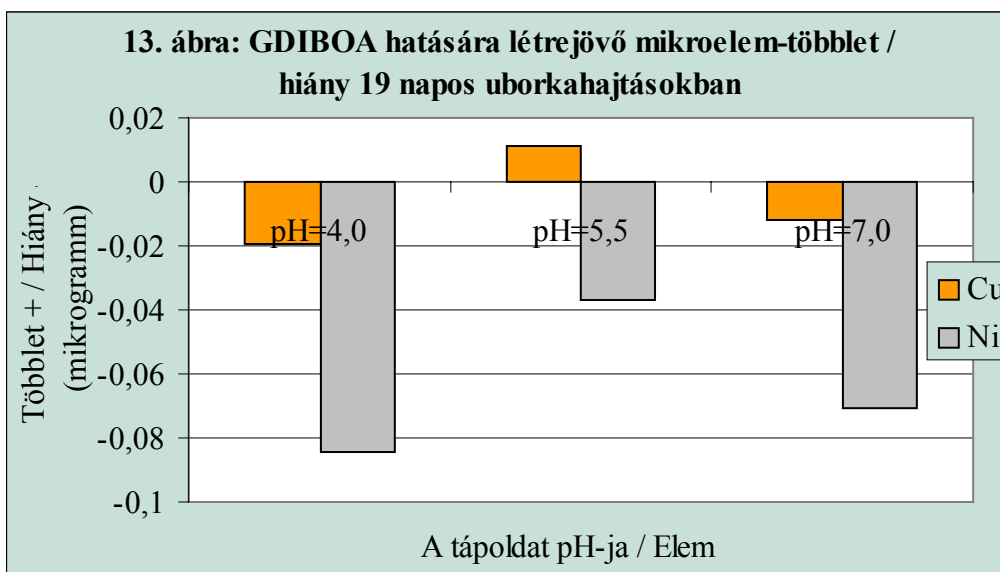
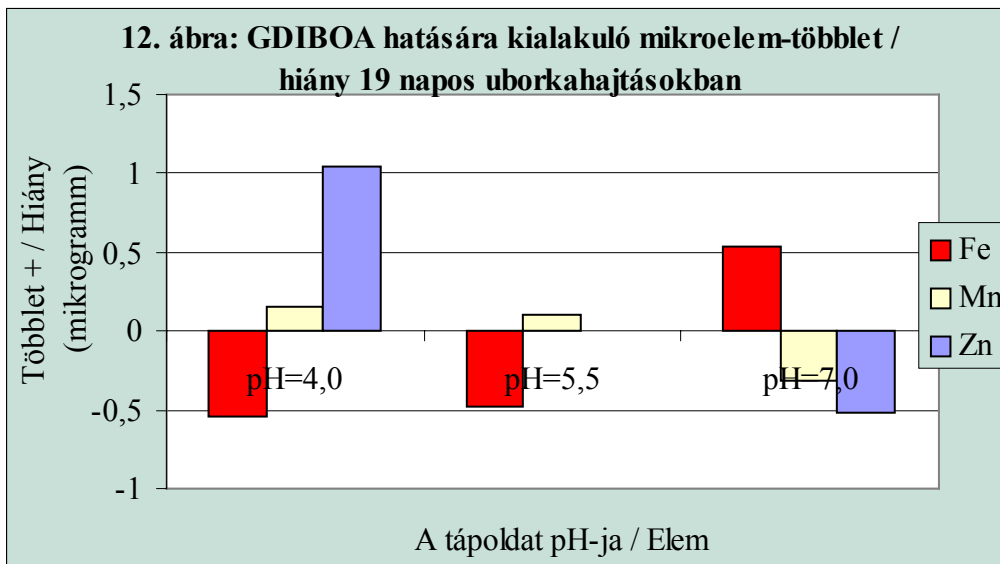
A GDIBOA és a közeg pH-jának hatása a 19 napos uborkahajtások elemtartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Elem / Hajtás tömeg	4,0	4,0 GD	5,5	5,5 GD	7,0	7,0 GD
Fe	90,0	65,0	101,0	81,0	74,0	111,0
Mn	124,0	131,0*	113,0	123,0*	126,0	122,0 n.s.
Zn	185,0	233,0	177,0	184,0 n.s.	232,0	228,0 n.s.
Cu	16,5	15,6	13,4	14,5	14,9	15,8
Ni	17,3	13,4	16,2	15,0	16,0	13,8
Hajtás tömeg	21,6	21,6	20,5	19,7	20,2	18,3

Megjegyzés: A számok a különböző pH-kat, a GD a GDIBOA-adagolást jelöli.

Az egyes elemek hajtásegységekre vonatkoztatott (továbbiakban "egyedi") mennyiségét a 8. táblázat szemlélteti, a kezelések hatására bekövetkezett eltérést grafikusán a 12. és 13. ábrák mutatják be. Az adatok az adott elemek tekintetében a hajtások egyedi elemtartalmának különbségei. A hajtások egyedi elemtartalmát minden elemnél a mg/kg értékben megadott elemtartalom (koncentráció) és a mg/db-ban megadott hajtás száraz tömeg értékek szorzata adta. A különbségeket úgy képeztem, hogy az egyedi elemtartalomban a cHx-ak hatására bekövetkezett növekedés pozitív, a csökkenés negatív előjelű. Ezt a számítási módot alkalmaztam a további olyan táblázatokban is, melyekben a hajtások egyedi elemtartalmának változását tüntettem fel. E számítások eredményeit csak azoknál a kísérletsorozatoknál tüntetem fel, amennyiben a cHx-ak elemfelvételre gyakorolt hatásában eltérést tapasztaltam a mg/kg értékben megadott elemtartalom (koncentráció) összehasonlításához képest.

A hajtások egyedi Fe-, Mn- és Zn-tartalmát a cHx-adagolás ugyanazon pH értékeknél növelte, mint amelyeknél a mg/kg értékben megadott elemtartalmat (koncentrációt). A Cu esetében a hajtás tömegcsökkenése miatt pH=7,0 értéknél az egyedi mennyiség kis mértékben csökkent.



8. táblázat

A GDIBOA és a közeg pH-jának hatása a 19 napos uborkahajtások egyedi elemtartalmának változására (többség, vagy hiány μg -ban)

Többség / Hiány	pH=4,0	pH=5,5	pH=7,0
Fe	-0,54	-0,475	0,537
Mn	0,151	0,107	-0,313
Zn	1,037	-0,04	-0,514
Cu	-0,019	0,011	-0,012
Ni	-0,084	-0,037	-0,071

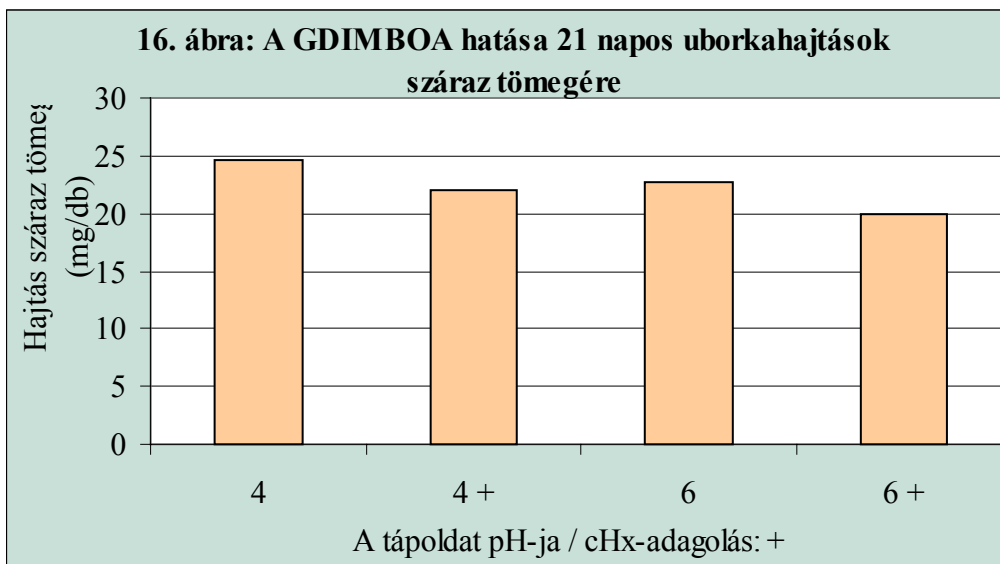
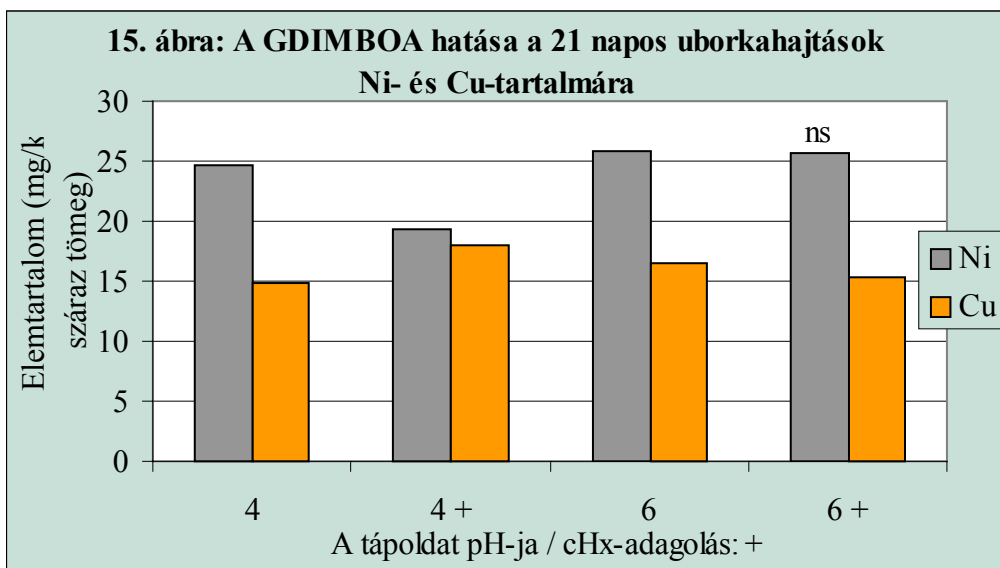
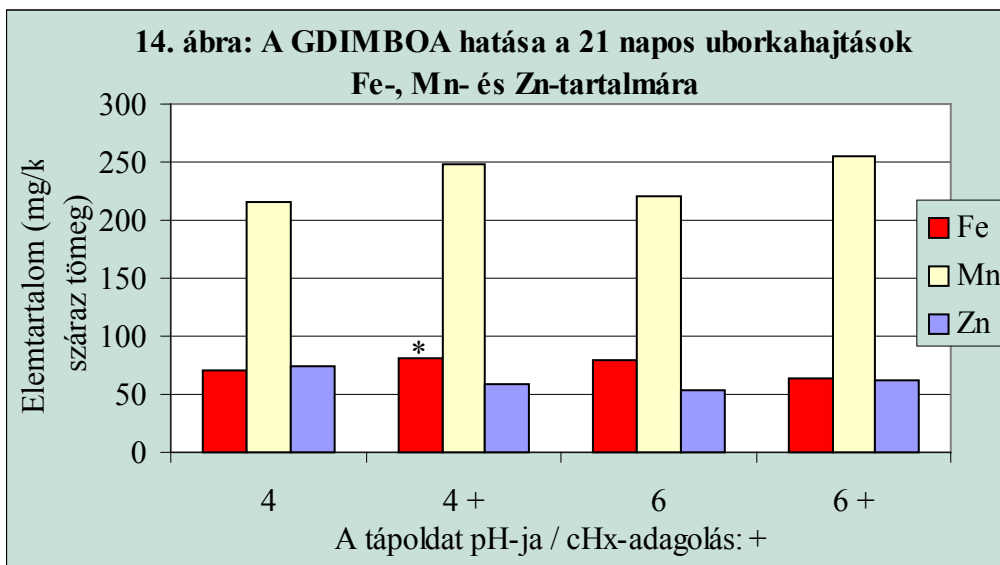
Más esetekben GDIBOA helyett GDIMBOA-t alkalmaztam, a kezelés 4 óra időtartamú, a hidroxamát-koncentráció 3×10^{-5} mol/L, az FeCl_3 -koncentrációja 5×10^{-5} mol/l, a NiSO_4 -koncentráció pedig 10^{-6} mol/L volt. Az oldatok pH-ját 4,0 és 6,0 értékekre állítottam be. A 21 napos uborkahajtások elemtartalmát és száraz tömegét a 9. táblázat, grafikus megjelenítésüket a 14. 15. és 16. ábrák tartalmazzák.

9. táblázat

A GDIMBOA hatása a 21 napos uborkahajtások elemtartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Elem / Hajtás tömeg	4,0	4,0 GDM	6,0	6,0 GDM
Fe	71,5	81,0*	79,5	64,5
Mn	215,0	248,0	221,0	256,0
Zn	74,1	58,6	53,4	61,4
Cu	14,8	18,0	16,5	15,3
Ni	24,7	19,4	25,9	25,7 n.s.
Hajtás tömeg	24,6	22,1	22,7	20,0

Megjegyzés: A számok a különböző pH-t, a GDM a GDIMBOA-adagolást jelöli.



A GDIMBOA pH= 4,0 értéknél növelte a Fe-, Cu- és Mn-tartalmat, pH=6,0 értéknél a Mn-, és Zn-tartalmat. A hidroxámát-adagolás pH=4,0 értéknél csökkentette a Ni-, és Zn-tartalmat, pH=6,0 értéknél a Fe-tartalmat.

A hidroxámsav-adagolás pH=4,0 értéknél 10,2%-al, pH=6,0 értéknél 11,9%-al csökkentette a hajtás száraz tömeget. A magasabb pH-n a gátló hatás a GDIMBOA-adagolás mellett is nagyobb mértékű volt.

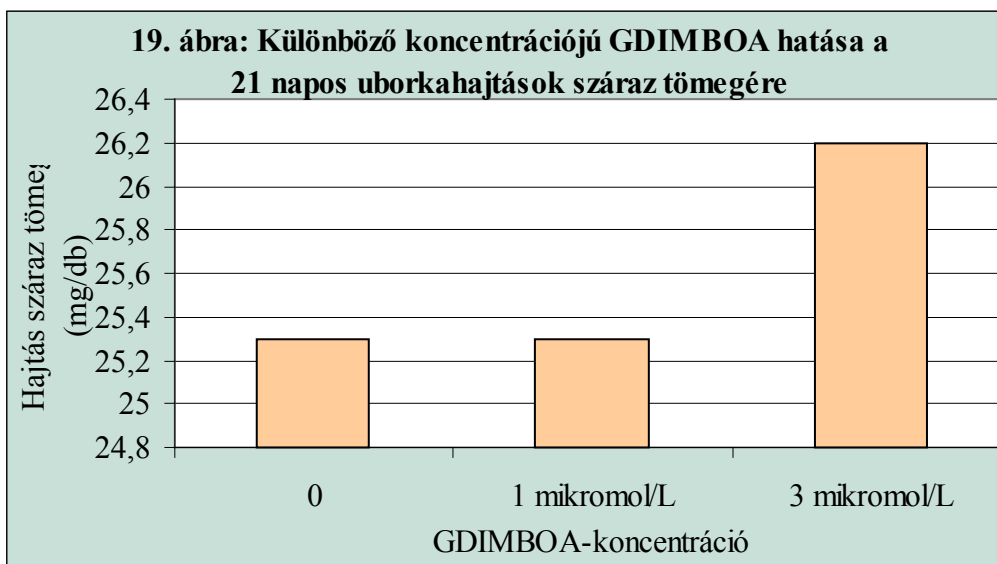
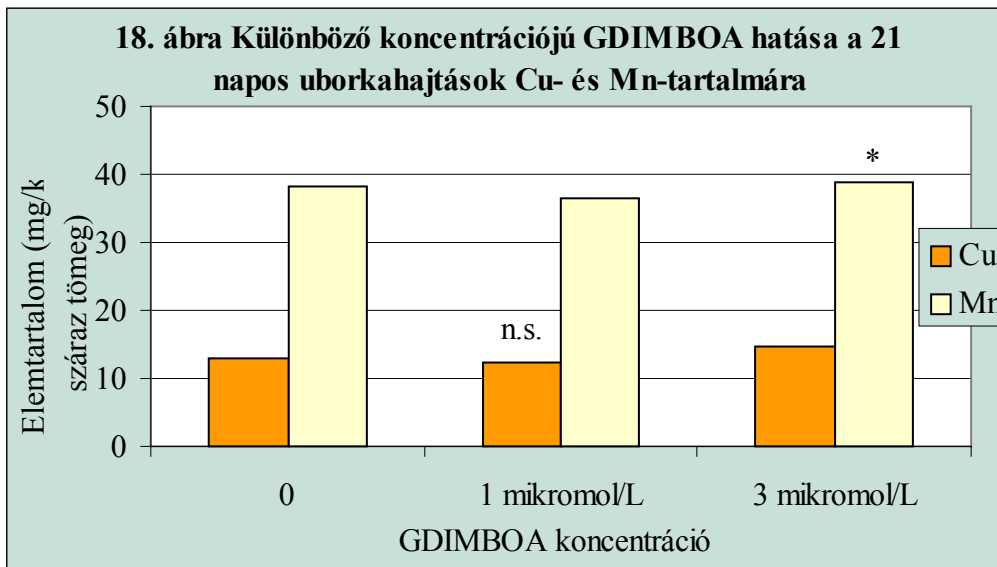
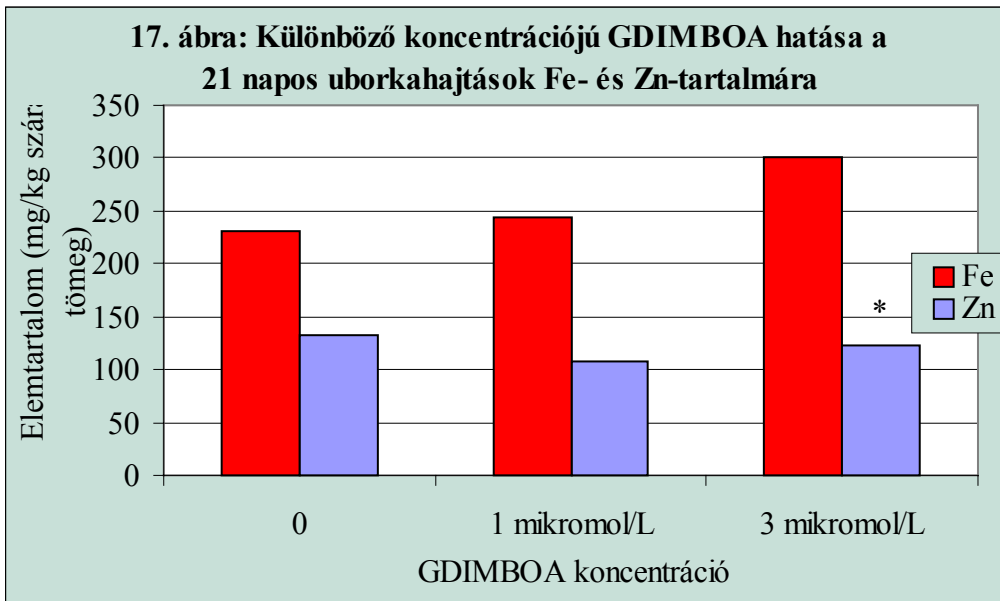
A közölt adatok azt mutatják, hogy a rövid időtartamú kezelések esetében a cHx-glükozidok hatása erősen pH-függő. A Ni-tartalom azonban minden kezelésben csökkent. Nem meglepő, hogy a cHx-glükozidok csökkentették a hajtások száraz tömegét. A kétszikű növények érzékenyek a hidroxámsavakra. Többen kimutatták kétszikűekre gyakorolt allelopátiás szerepüket (WOLF *et al.* 1985; BARNES *et al.* 1987; CHASE *et al.* 1991). A gátló hatás pH-függésének megállapítása új eredménynek számít.

4.1.3. Tartósan hidroxámsav-glükozidot tartalmazó tápoldaton nevelt uborkanövények mikroelem-felvétele

A 17 és 21 napos uborkanövények tápoldatához a tápoldatcserék alkalmával $1x$, illetve $3x10^{-6}$ mol/L mennyiségben GDIMBOA-t adagoltam. A növények mikroelem-ellátása megegyezett a CSEH *et al.* (1982) által leírtakkal. A vasadag $5x10^{-5}$ mol/L $FeCl_3$ volt. A 23 napos uborkahajtások elemtartalmát és száraz tömegét a 10. táblázat, grafikus megjelenítésüket a 17. 18. és 19. ábrák tartalmazzák.

A GDIMBOA mindkét koncentrációban fokozta az uborkanövények Fe-tartalmát. A Mn-, és Cu-tartalom $3x10^{-6}$ mol/L GDIMBOA-adagolás mellett növekedett. $1x10^{-6}$ mol/L hidroxámát-adagolás mellett a Mn-, és Zn-tartalom csökkent.

$1x10^{-6}$ mol/L hidroxámsav-adagolás mellett a hajtás száraz tömeg nem változott, $3x10^{-6}$ mol/L hidroxámsav-adagolás mellett pedig 3,6%-al növekedett.



10. táblázat

Különböző koncentrációjú GDIMBOA hatása a 21 napos uborkahajtások elemtartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Elem / Hajtás tömeg	Kontroll	1×10^{-6} mol/L	3×10^{-6} mol/L
Fe	230,0	245,0	300,0
Mn	38,1	36,5	38,7*
Zn	133,0	107,0	123,0*
Cu	12,8	12,3 n.s.	14,6
Hajtás tömeg	25,3	25,3	26,2

4.1.4. Tartósan hidroxámsav-glükozidot tartalmazó tápoldaton nevelt kukoricanövények mikroelem-felvétele

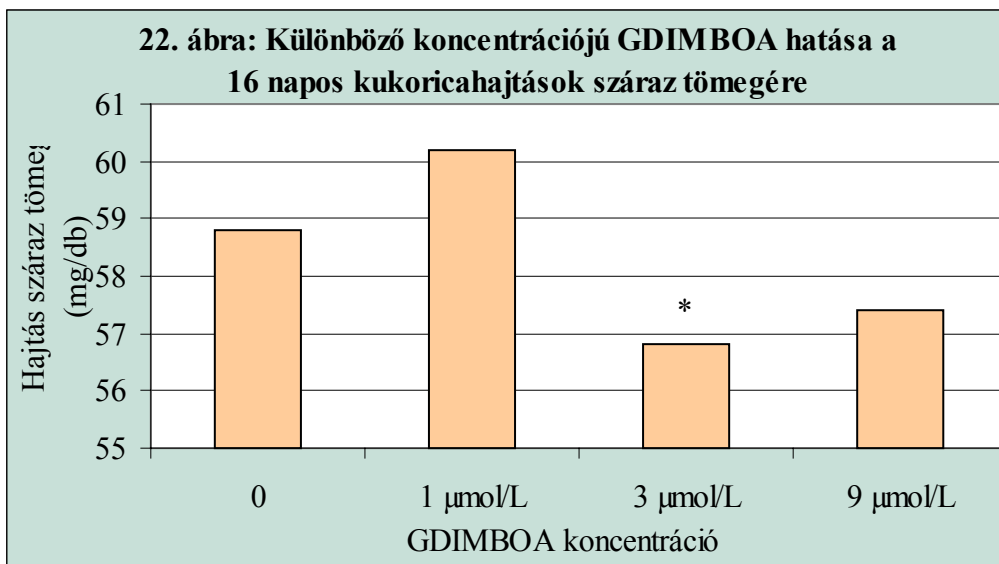
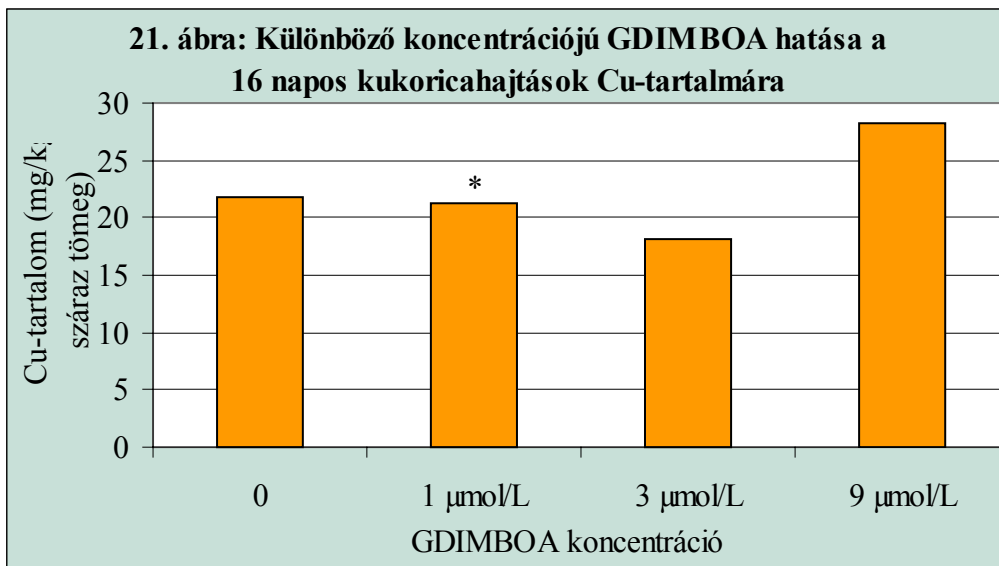
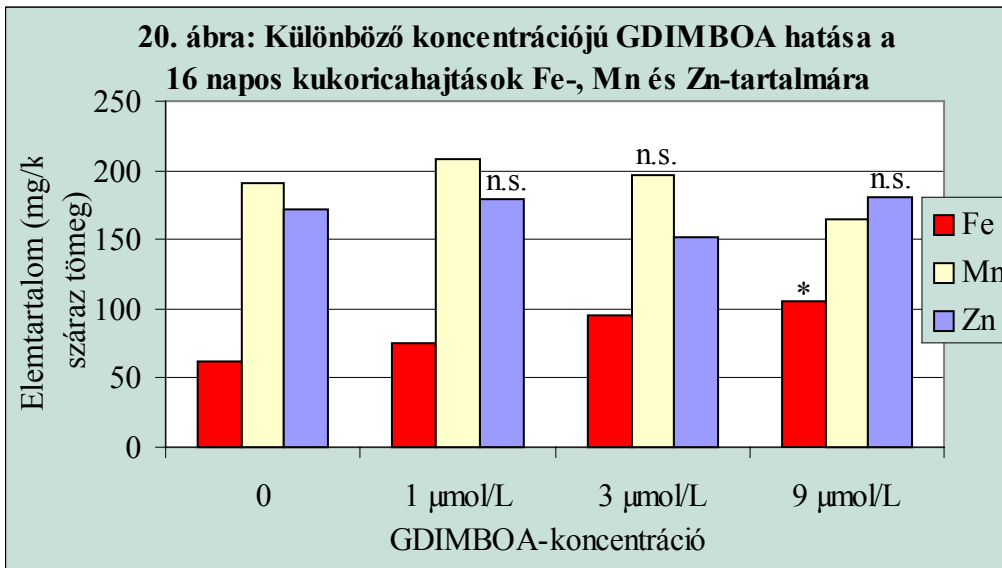
Tíz napos kukoricanövények tápoldatához $1x$, $3x$, illetve $9x10^{-6}$ mol/L GDIMBOA-t adtam, amit a 14. napon végrehajtott tápoldatcsere esetén megismételtem. A vasadag 10^{-6} mol/L $FeCl_3$ volt. A 16 napos hajtások mikroelem-tartalmát és száraz tömegét a 11. táblázat, grafikus megjelenítésüket a 20. 21. és 22. ábrák tartalmazzák.

11. táblázat

Különböző koncentrációjú GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricahajtások elemtartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Elem / Hajtás tömeg	Kontroll	1×10^{-6} mol/L	3×10^{-6} mol/L	9×10^{-6} mol/L
Fe	61,5	75,4	96,0	106,0*
Mn	191,0	208,0	196,0 n.s.	165,0
Zn	172,0	179,0 n.s.	152,0	180,0 n.s.
Cu	21,8	21,2*	18,2	28,2
Hajtás tömeg	58,8	60,2	56,8*	57,4

Hidroxamát-adagolás hatására a vastartalom emelkedett. A réztartalom növekedése az $1x$ és a $9x10^{-6}$ mol/L kezelésnél jelentkezik. $1x10^{-6}$ mol/L hidroxamát-adagolás fokozta a Mn-tartalmat is.



Az 1×10^{-6} mol/L hidroxámsav-adagolás 2,4%-al növelte, a 3×10^{-6} mol/L hidroxámsav-adagolás 3,4%-al, a 9×10^{-6} mol/L hidroxámsav-adagolás pedig 2,4%-al csökkentette a hajtások száraz tömegét a kontrollkezeléshez képest.

A hajtások egyedi elemtartalmának változását a 12. táblázat szemlélteti, az egyedi elemtartalomban a kezelések hatására bekövetkezett eltérést grafikusan a 23. ábra mutatja be (Lásd a 60. oldalon.). Az adatok számítási módját a 8. táblázattal kapcsolatban részleteztem. Az adatok az egyes cHx-kezelések és a kontrollkezelés különbségei.

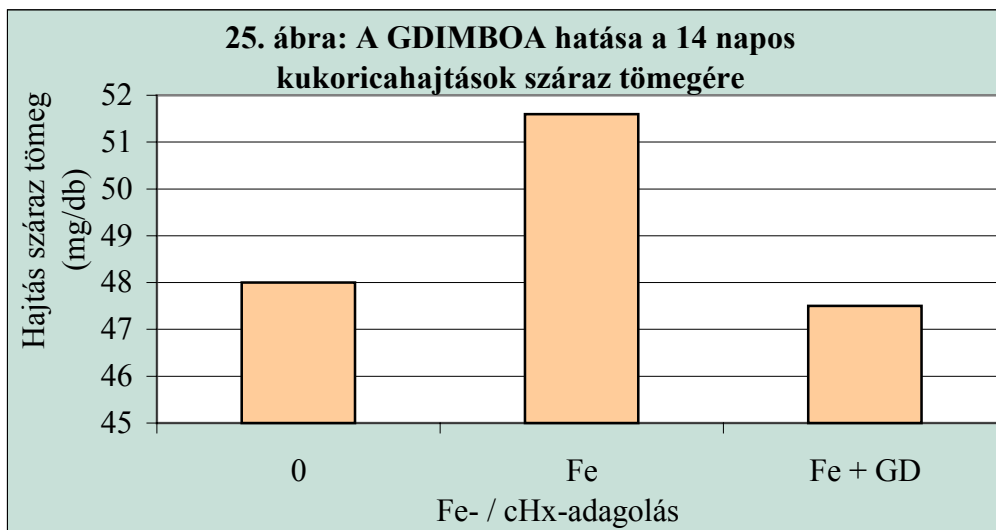
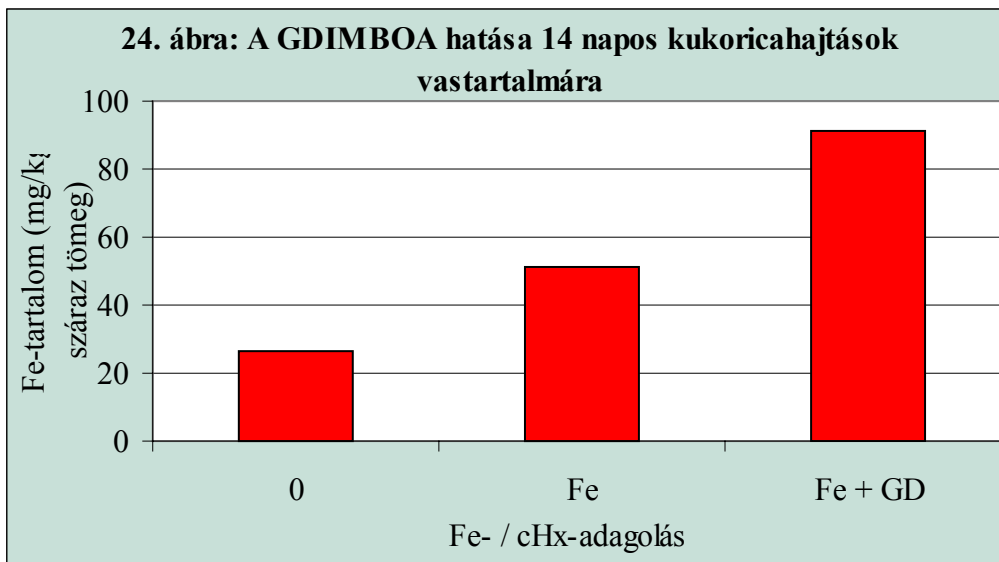
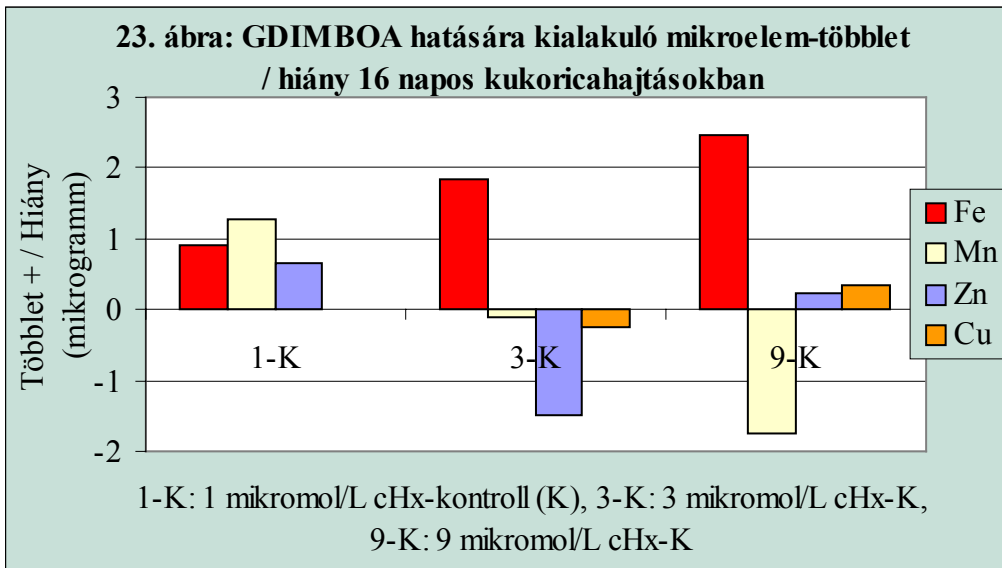
12. táblázat

Különböző koncentrációjú GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricahajtások egyedi elemtartalmának változására (többség, vagy hiány μg -ban)

Többség / Hiány	1×10^{-6} mol/L cHx - Kontroll	3×10^{-6} mol/L cHx - Kontroll	9×10^{-6} mol/L cHx - Kontroll
Fe	0,923	1,837	2,468
Mn	1,291	-0,098	-1,760
Zn	0,662	-1,48	0,218
Cu	-0,006	-0,248	0,337

Összehasonlítva a 11. és 12. táblázatok adatait, megfigyelhető, hogy a hajtás tömeg eltérések miatt a cHx-ak elemek felvételét elősegítő hatása a vas és a mangán kivételével nem ugyanazon cHx-koncentrációknál jelentkezik, mint azt a mg/kg elemtartalmat (koncentrációt) bemutató táblázatban láthatjuk. Az egyedi Zn mennyiségét az $1 \times$ és 9×10^{-6} mol/L cHx-adagolás is növelte, bár mg/kg értékben megadott Zn-tartalom (koncentráció) cHx-adagolás hatására nem növekedett. Az egyedi Cu mennyiségét csak a 9×10^{-6} mol/L cHx-adagolás fokozta, bár a Cu mg/kg értékben megadott mennyiségét (koncentrációját) az 1×10^{-6} mol/L cHx-adagolás is növelte.

A folyamatos hidroxámsav-adagolás hatására az alkalmazott koncentrációk mellett az egyes elemek egyedi mennyisége jelentősen növekedett. A jelentős növekedés részben a folyamatos hidroxámsavas kezelés eredménye ($1-3-9 \times 10^{-6}$ mol/L, 3 liter tápoldatban, kétszer ismételve).



Más esetekben kukoricánövényeket neveltem vasmentes tápoldaton 8 napos korukig. A 8. és a 11. napon a következő kezelést alkalmaztam: vasmentes kontroll, 5×10^{-6} mol/L FeCl_3 , valamint 5×10^{-6} mol/L $\text{FeCl}_3 + 5 \times 10^{-6}$ mol/L GDIMBOA. A 14. napos növények vastartalmát és száraz tömegét a 13. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 24. és 25. ábrák tartalmazzák (Ábrákat lásd a 60. oldalon.).

13. táblázat

A GDIMBOA hatása a 14 napos kukoricahajtások vastartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Vastartalom/hajtás tömeg	Kontroll	5×10^{-6} mol/L FeCl_3	5×10^{-6} mol/L FeCl_3 + 5×10^{-6} mol/L GDIMBOA
Vastartalom	26,2	51,0	91,0
Hajtás tömeg	48,0	51,6	47,5

A GDIMBOA-adagolása növelte a kukoricahajtások vastartalmát. A különbségek a klorofilltartalomban is megmutatkoztak. A GDIMBOA és ferri-klorid együttes adagolása 30,2%-al növelte a klorofilltartalmat a legfiatalabb levelekben a ferri-klorid kizárólagos adagolásához képest. A klorofilltartalmat ARNON (1949) módszerével határoztam meg.

A hidroxámsav-adagolás hatására a hajtások száraz tömege 7,9%-al csökkent.

4.1.5. A bxbx kukoricamutáns jellemzői, mikroelem-felvétele

A bxbx kukoricamutáns nem termel cHx-akat, ezért alkalmas kísérleti növény a cHx-ak szerepének tisztázására a mikroelem-felvétel és tolerancia kérdéseiben.

Miután a szóban forgó mutáns tápoldatos nevelésre alkalmasnak bizonyult, megvizsgáltam mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztását, vajon nem nagyobb-e azon fajtákénál, melyek termelnek cHx-akat. Feltételezésem az volt, hogy a cHx-ak hiányát emelkedett fitosziderofor-kiválasztással kompenzálja. ZHANG *et al.* (1989) által módosított TAKAGI (1976) eljárás alapján összehasonlítottam a cHx-akat termelő „Norma SC” és a bxbx kukoricafajták mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztását. Előzetes feltételezésemmel ellentétben azt tapasztaltam, hogy a mutáns mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztása mindössze 16,3%-a a „Norma SC” fajtáénak. Ez az

eredmény azonban megvilágítja, hogy miért tapasztaltam a mutáns szabadföldi nevelése során mérsékelt növekedést: alacsonyabb, és keskenyebb levélzetű, mint más, cHx-akat termelő fajták ugyanazon területen. A mutáns átlagos magassága szabadföldön, teljes virágzásban 159,3 cm, leveleinek átlagos szélessége 3,8 cm, növényenkénti levélszáma 8,9 db volt. Ez valószínűleg a mérsékelt fitosziderofor-kiválasztásnak, annak következményeként a csökkent mikroelem-felvételnek is tulajdonítható.

Ilyen előzmények után vizsgáltam meg a GDIMBOA-adagolás hatását a mutáns hajtásainak mikroelem-tartalmára. A kísérletek egyik típusában 11 napos korukig vasmentes tápoldaton előnevelt növényeket két csoportra osztottam. Az egyik csoport növényeit 6 óra időtartamra 5×10^{-5} mol/L koncentrációjú FeCl_3 oldatra helyeztem, a másik csoport növényeit 6 h időtartamra, olyan oldatra, amelyben GDIMBOA-Fe (III) 5×10^{-5} mol/L koncentrációjú komplexe volt. A kezelés után a növények gyökereit desztillált vízben egy órát áztattam, majd többször alaposan öblítettem. Ez után visszakerültek vasmentes tápoldatra. Egy és négy nap múlva a hajtásokat izoláltam, megszáritottam, majd vastartalmukat meghatároztam. Az eredményeket az 14. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 26. és 27. ábrák mutatják.

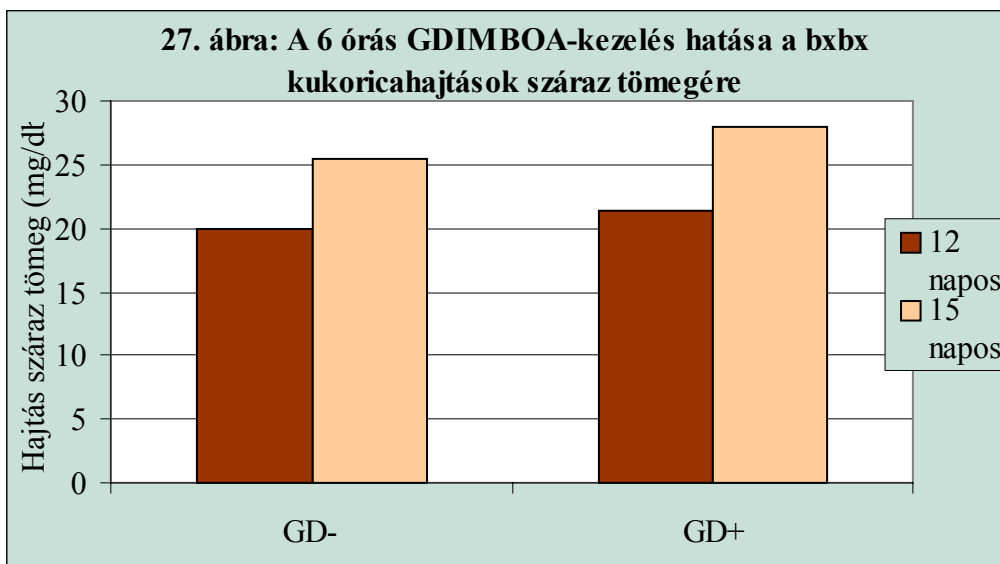
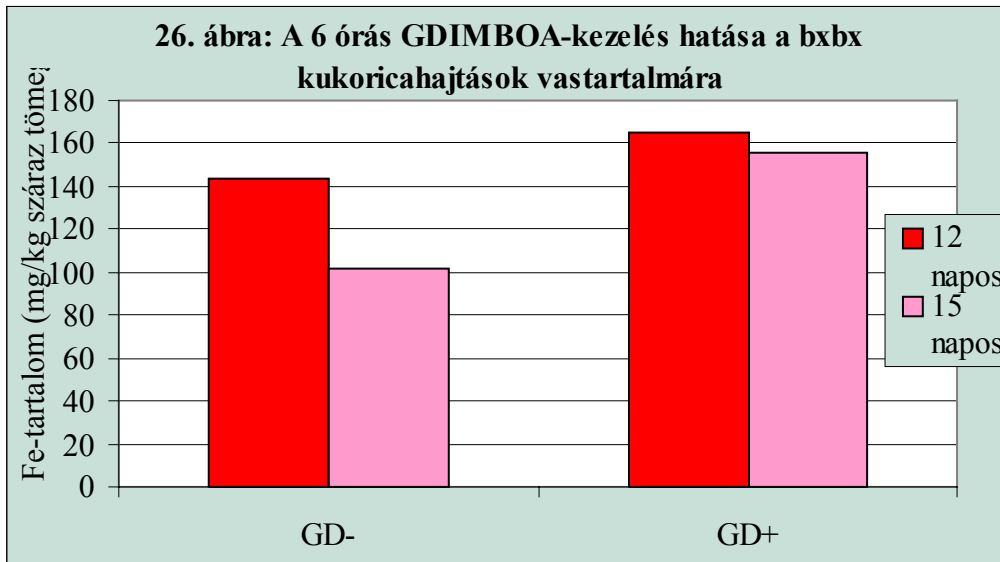
14. táblázat

A 6 órás GDIMBOA-kezelés hatása a bxbx kukorica hajtások vastartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

A mintavétel időpontja	Vastartalom		Hajtás tömeg	
	-GD	+GD	-GD	+GD
1 nappal a kezelés után (12 napos)	101,5	156,0	19,9	21,3
4 nappal a kezelés után (15 napos)	144,0	165,0	25,4	27,9

A bxbx mutánsban a vastartalom határozott idejű (6 h) GDIMBOA-kezelés hatására mindkét időpontban mérve emelkedett, tehát a GDIMBOA elősegítette a vasfelvételt. A különbségek szembetűnőbbek négy nappal a kezelés után, ami azt mutatja, hogy a vasnak hajtásba történő transzlokálásához időre van szükség.

A hidroxámsav-adagolás hatására mindkét időpontban mérve növekedett a hajtás száraz tömege: 1 nappal a kezelés után 7,0%-al, 4 nappal a kezelés után 9,8%-al.



A kezelés után egy nappal a hajtásokban és a gyökerekben meghatároztuk a cHx-glükozidok mennyiségét. A GDIMBOA-val kezelt bxbx kukoricánövények gyökerében, kis mennyiségben GDIMBOA-t mutattunk ki, ami azt mutatja, hogy a növény felveszi a GDIMBOA-t, így megvan a lehetősége annak, hogy vasfelvétel legalábbis részben GDIMBOA-Fe (III)-komplex formájában történjen.

Más kísérletekben 11 napos korukig mikroelemektől mentesen előnevelt növényeket két csoportra osztottam. Az egyik csoport a CSEH *et al.* (1982) által közölt mikroelemeken (Cu, Zn, Mn, Mo, B) kívül 10^{-6} mol/L koncentrációban FeCl_3 -ot, valamint 10^{-5} mol/L koncentrációban GDIMBOA-t kapott. A másik csoport növényei GDIMBOA-t nem kaptak. A növények négy napig ezeken az oldatokon nőttek (folyamatos kezelés). Ez után a hajtásokat izoláltam, szárítottam, tömegüket mértem, valamint meghatároztuk a mikroelem-tartalmukat. Az adatokat a 15. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 28. 29. és 30. ábrák tartalmazzák.

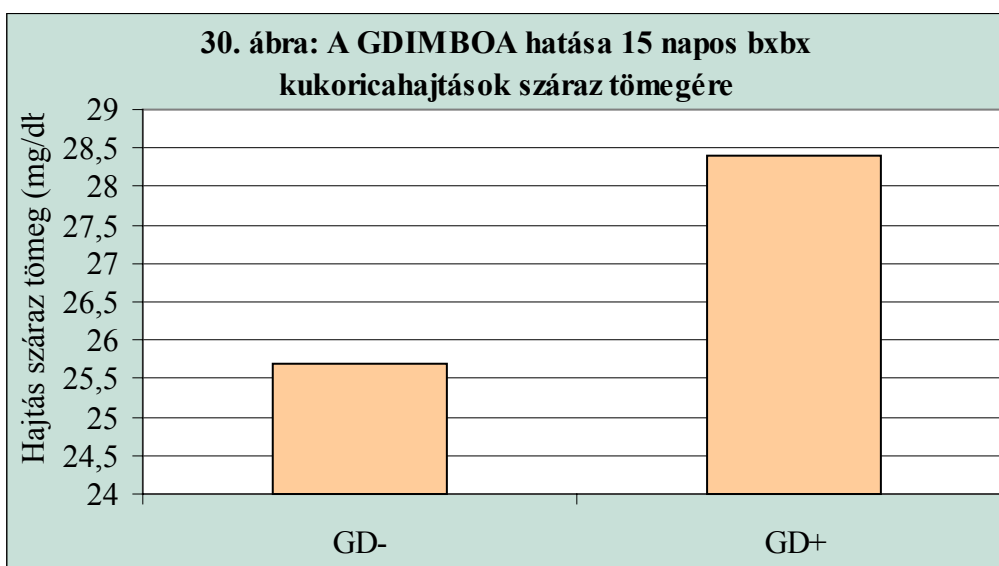
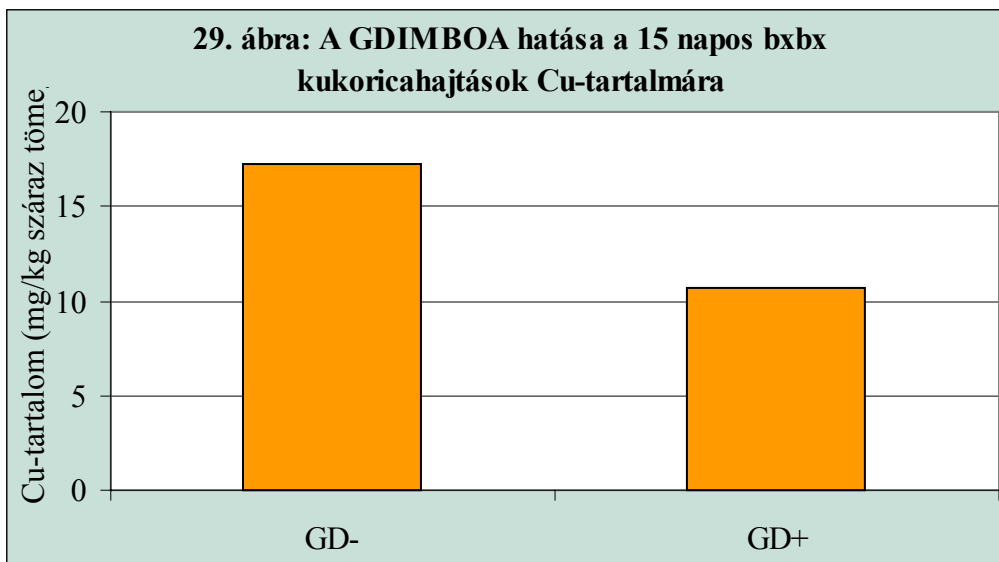
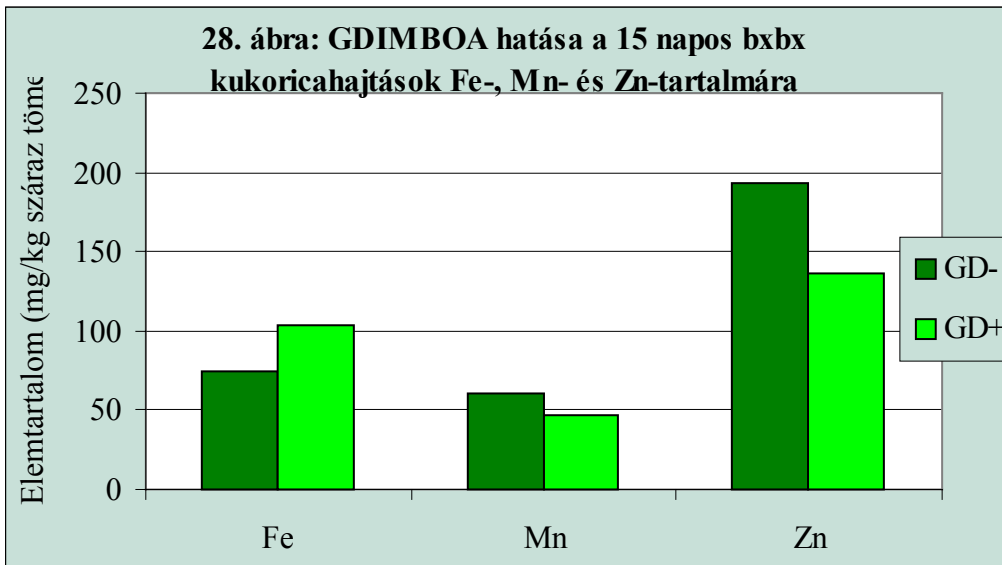
15. táblázat

A GDIMBOA hatása a 15 napos bxbx kukoricahajtások mikroelem-tartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Mikroelemek/Hajtás tömeg	- GDIMBOA	+ GDIMBOA
Fe	74,0	104,0
Mn	61,0	46,7
Zn	192,7	136,3
Cu	17,3	10,7
Hajtás tömeg	25,7	28,4

A GDIMBOA fokozta a hajtások vastartalmát, a Cu-, Mn- és Zn-tartalom viszont csökkent. A GDIMBOA-adagolás 10,5%-al növelte a hajtások száraz tömegét.

A GDIMBOA tehát mind folyamatos, mind határozott idejű kezelésekre hatására fokozta a mutáns hajtásainak vastartalmát. A bxbx mutánsnak, a cHx-akat termelő fajtához képest eltérő viselkedését támasztja alá ez a tény is, mely szerint a cHx-akat termelő fajtával szemben a hidroxamát adagolása csak a vastartalmat növelte a hajtásokban.



E kísérletek eredményei azért is fontosak, mert a mutáns nem szintetizál cHx-akat, tehát a cHx-adagolást a "saját" cHx-a nem befolyásolja, mint cHx-akat szintetizáló kukoricafajta esetén.

4.1.6. A mikroelem-felvétellel kapcsolatos kísérletek értékelése

Az uborka mikroelem-felvételét határozott idejű hidroxámsav-adagolás mellett a két gyakori ciklikus hidroxámsav: a GDIBOA és a GDIMBOA eltérően befolyásolja: a GDIBOA a cink felvételét savas, míg a vas felvételét semleges pH-n segíti elő, a GDIMBOA a cink felvételét semlegeshez közeli pH-n, a vas felvételét savas pH-n fokozza. A réz felvételét a GDIBOA semlegeshez közeli, a GDIMBOA savas pH-n fokozza. A mangán felvételét mindkét hidroxamát-glükozid savas és semlegeshez közeli pH-n is növeli.

Az uborka vas-, réz- és mangánfelvételét folyamatos kezelésben a GDIMBOA adagolása koncentrációtól függően fokozza. Mivel a tápoldat pH-ja savas, ez az eredmény összefüggést mutat a határozott idejű kezeléseket alkalmazó kísérletek eredményeivel.

Ciklikus hidroxámsavakat termelő kukoricafajta vas-, réz- és cinkfelvételét 9×10^{-6} mol/L mennyiségű GDIMBOA folyamatos kezelésben növelte. A vasfelvétel mértéke alacsonyabb hidroxamát koncentráció alkalmazása esetén is emelkedett. 1×10^{-6} mol/L mennyiségű GDIMBOA-adagolás a mangán- és réztartalmat is fokozta.

Kizárólagos vasadagolás mellett a GDIMBOA hozzáadása szintén fokozta a ciklikus hidroxámsavakat termelő kukoricafajta vastartalmát.

A ciklikus hidroxámsavakat nem termelő bxbx kukoricamutáns vasfelvételét a határozott idejű hidroxamát-adagolás jelentősen fokozta. A gyökerekben az adagolt hidroxámsavat is ki lehetett mutatni, mely azt a feltételezést támasztja alá, hogy a felvétel komplex formában történhet. A GDIMBOA-adagolás folyamatos kezelés esetén is növelte bxbx mutáns vastartalmát, az egyéb mikroelemek szintjének növekedését azonban a hidroxámsavmentes mutánsnál, ellentétben a hidroxámsavat termelő fajtával, nem tapasztaltam. E tény újabb különbségre mutat rá a hidroxámsavakat termelő és nem termelő fajták között.

A folyamatosan hidroxámsavat kapott kísérletekben az uborka- és a ciklikus hidroxámsavakat termelő kukoricánövények egyedi elemtartalma a ciklikus hidroxámsav-adagolás mértékénél nagyobb mértékben is növekedett. Feltételezhető,

hogy a cHx-ak azon kívül, hogy komplexet képeznek számos mikroelemmel, és ezzel mikroelem-forrást biztosítanak, a mikroelem-felvételt egyéb, eddig nem ismert módon is elősegíthetik, mely lehetővé teszi az adagolásnál nagyobb mértékű mikroelem-tartalomnövekedést.

A ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételben betöltött szerepét 1991 óta vizsgálják Tanszékünk kutatói. Vasfelvételben betöltött szerepükre számos kísérleti adat szolgál (PETHŐ, 1992, d; 1993, b; PETHŐ *et al.* 1997; LÉVAI, 1998; PETHŐ, 2000). Bizonyítást nyert, hogy a ciklikus hidroxámsavak vaskomplexei megfelelő vasforrások kukorica, rizs, zab számára. A komplex adagolása a vasklorózt mérsékli, a hidroxamátok a tesztnövényekben kimutathatók. ⁵⁹Fe izotóp segítségével kimutatták, hogy a GDIBOA adagolása fokozza a rozsnövények vastartalmát a hidroxámsavtól mentes kezelésekhez képest. Arra, hogy a ciklikus hidroxámsavak a vas mellett egyéb mikroelemek felvételét is elősegítik PETHŐ és KOVÁCS (1996) mutatott rá először. Igazolták, hogy a GDIBOA folyamatos adagolásban, 1-3 µmol/L mennyiségben a vastartalom növelésén kívül fokozza az uborkanövények mangán- és réztartalmát is. A jelen dolgozat eredményei a fent említett tényekkel összhangban vannak.

Talajban a növény gyökere által kiválasztott komplexképző vegyületeknek igen lényeges szerepe van a mikroelem-felvételben. A komplexképzésre alkalmas mikroelemekkel kapcsolódva megakadályozzák azok lekötődését, oldhatatlan vegyületek kialakulását. Így a komplexből a növények, de egyéb élőlények is képesek fedezni mikroelem-szükségletüket akár a fémkomplex felvételével, akár a komplex felbomlása után a szabad fémionból, vagy saját komplexképző általi kelátcserével. Ezzel a növények által termelt komplexképzőknek szerepe van a mikroelemeknek biológiai rendszerekben való megtartásában is (LOCH - NOSTICZIUS, 1992).

A mikroelem-felvétellel kapcsolatos kísérletekben a 3×10^{-5} - 10^{-4} mol/L ciklikus hidroxámsav-adagolás az uborkanövények hajtásainak száraz tömegét, a csak mikroelemeket kapott kezelésekhez képest a pH-tól függően nem változtatta, vagy 3,9-11,9%-al csökkentette. Ezen belül a pH növekedésével a gátló hatás erősödött. Az $1-3 \times 10^{-6}$ mol/L hidroxámsav-adagolásnak gátló hatása nem volt, sőt a növekedés 2-3%-os serkentése is tapasztalható (eredeti tápoldat pH~3,7). Arra, hogy a hidroxamátoknak kis koncentrációban növekedésserkentő hatásuk lehet, már PETHŐ és KOVÁCS (1996) is rámutatott. Kimutatták, hogy a GDIBOA folyamatos adagolásban, 1-3 µmol/liter mennyiségben fokozza az uborkanövények száraz tömegét.

A hidroxamátokat termelő kukoricánövények hajtásainak száraz tömege folyamatos GDIMBOA-adagolás hatására 2-3%-al növekedett, vagy 2-8%-al csökkent a ciklikus hidroxámsav-adagolás mértékétől függően. 1×10^{-6} mol/L koncentrációban a GDIMBOA növelte a hajtás száraz tömeget, $3-9 \times 10^{-6}$ mol/L koncentrációkban csökkentette. Alacsonyabb koncentrációban tehát a ciklikus hidroxámsavak nem csak az uborka, hanem a hidroxámsavakat termelő kukorica növekedését is serkentik. A hidroxámsavakat nem termelő bxbx kukoricamutáns növekedését az alkalmazott, az előbbiekhöz képest nagyobb mértékű ciklikus hidroxámsav-adagolás ($1-5 \times 10^{-5}$ mol/L) is növelte.

A ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételt elősegítő szerepe minden kétséget kizáróan bizonyítható a növény elemtartalmának növekedésével, akár izotópok segítségével, akár egyéb módon mérjük az elemtartalom növekedését. E vizsgálati módszerek azonban nem bizonyítják, hogy a mikroelem hidroxamát-komplex formában került-e felvételre. A komplex formában történő felvételt nem bizonyítja a hidroxamátok szintjének növekedése, vagy e vegyületek megjelenése sem a növényben. Azt, hogy a ciklikus hidroxámsavak juttatják át a membránokon a mikroelemeket, és azok nem külön-külön jutnak be, egy, a membránban lokalizált hidroxamát-specifikus kötő/szállító fehérje kimutatása bizonyítaná minden kétséget kizáróan.

A ciklikus hidroxámsavak nagy valószínűséggel nem csak a mikroelemek felvételét segítik elő, hanem a növényen belüli szállításban is szerepük lehet, másképp mi lenne a magyarázata, hogy előfordulásuk a szállítószövetekben többszöröse, mint egyéb szövetekben (ARGANDONA-CORCUERA, 1985; ARGANDONA *et al.* 1987), valamint, hogy a vasadagolás növelésével mennyiségük a növényben és kiválasztásuk is fokozódik (PETHŐ 1992 c; 1992 d).

4.2. Mikroelem-tolerancia

4.2.1. A GDIBOA-glükozid szerepe az uborka nikkeltoleranciájában

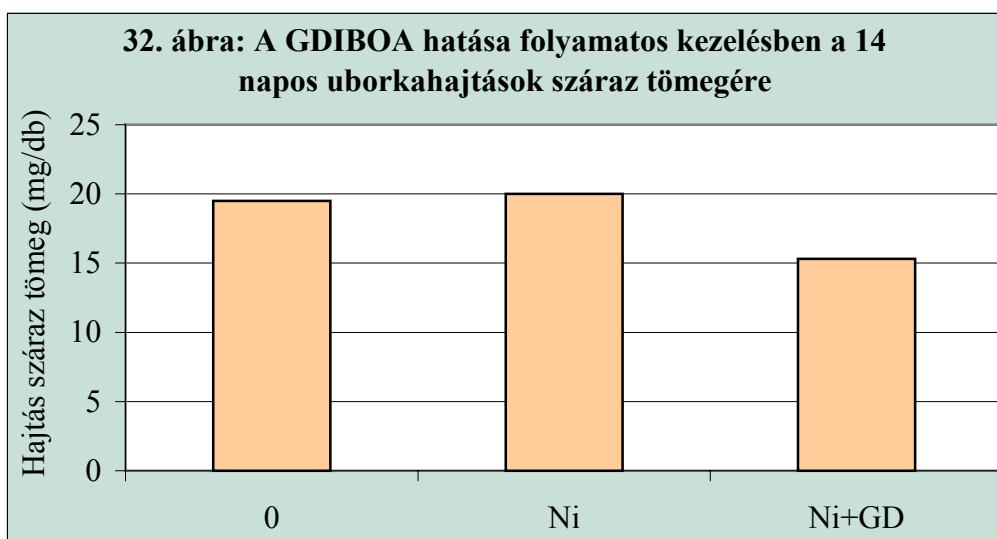
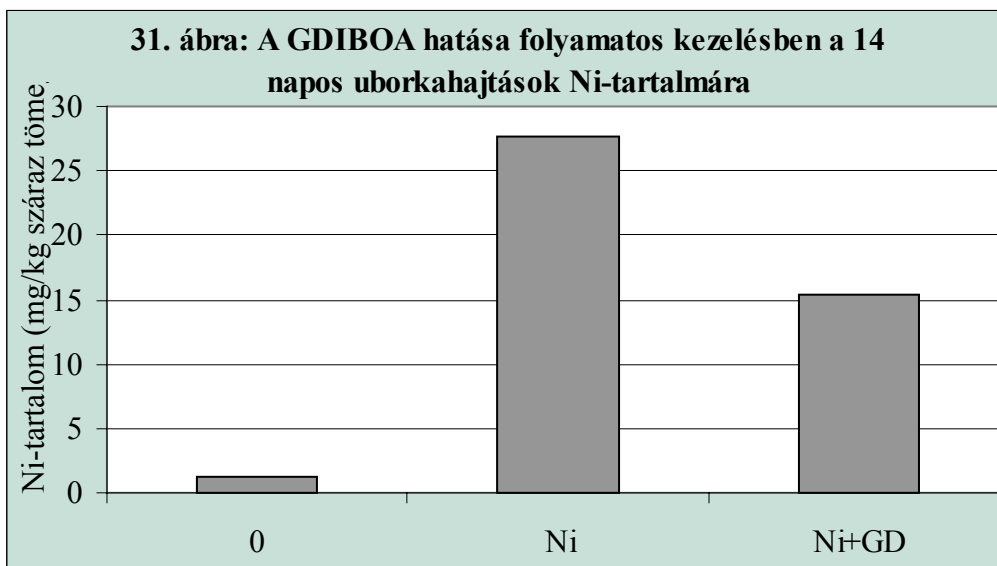
A nikkelt antropogén eredetű talajszennyeződésként kerülhet nagyobb mennyiségben felvételre. Potenciálisan toxikus elemnek tekintjük. Miután DABED *et al.* (1983) szerint a ciklikus hidroxámsavak nikkellel is komplexeket képeznek, célszerűnek láttam megvizsgálni, hogy a GDIBOA hogyan befolyásolja az uborka - egy hidroxamátot, sőt fitoszideroforokat sem termelő növény - nikkelfelvételét tápoldatból.

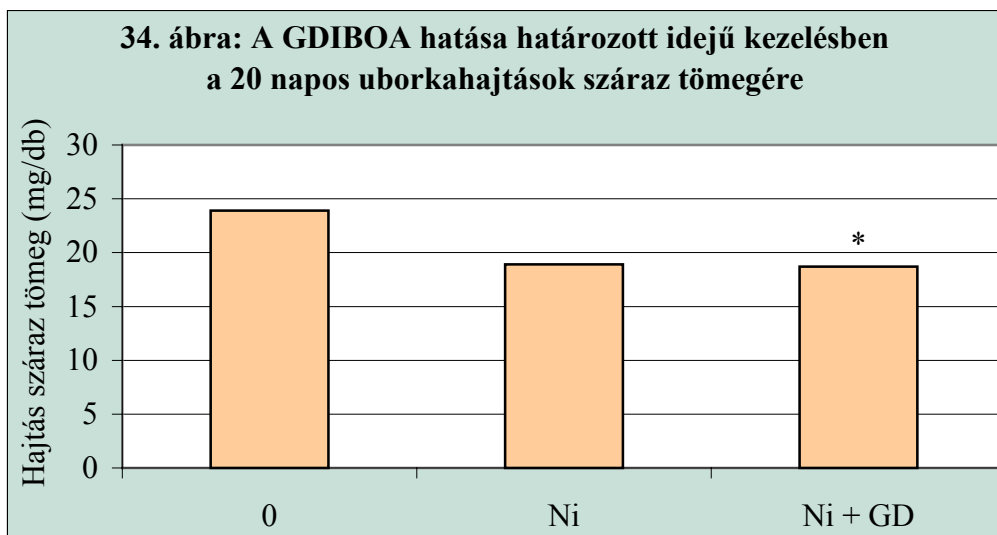
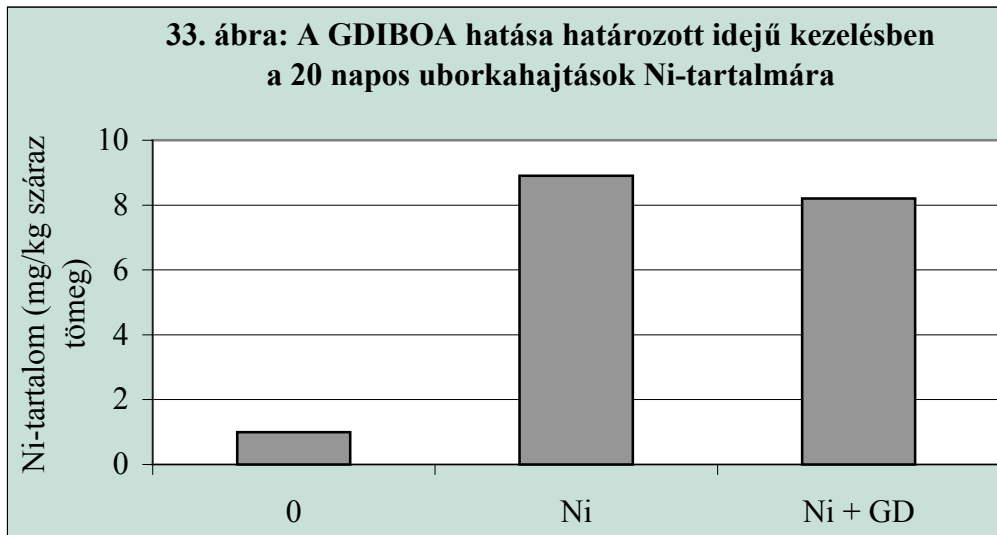
Uborkanövényeket neveltem 10 napos korig nikkelt nem tartalmazó tápoldaton. Ez után a növényeket 3 csoportra osztottam. Az egyik csoport továbbra sem kapott nikkelt, a másik két csoport NiSO_4 formájában nikkelt kapott. Ez utóbbi két növénycsoportból az egyik csoport növényei a nikkeltkezelés mellett GDIBOA-t is kaptak a nikkellel azonos mennyiségben. A kísérletek egy részében a növények folyamatosan a kezelési oldaton voltak, más kísérletekben a kezelés határozott időtartamú volt (2 és 4 óra), mely után három nappal vettük meg a mintákat. A hajtások nikkeltartalmát és száraz tömegét a 16. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 31.-32.-33.-34.-35. és 36. ábrák tartalmazzák.

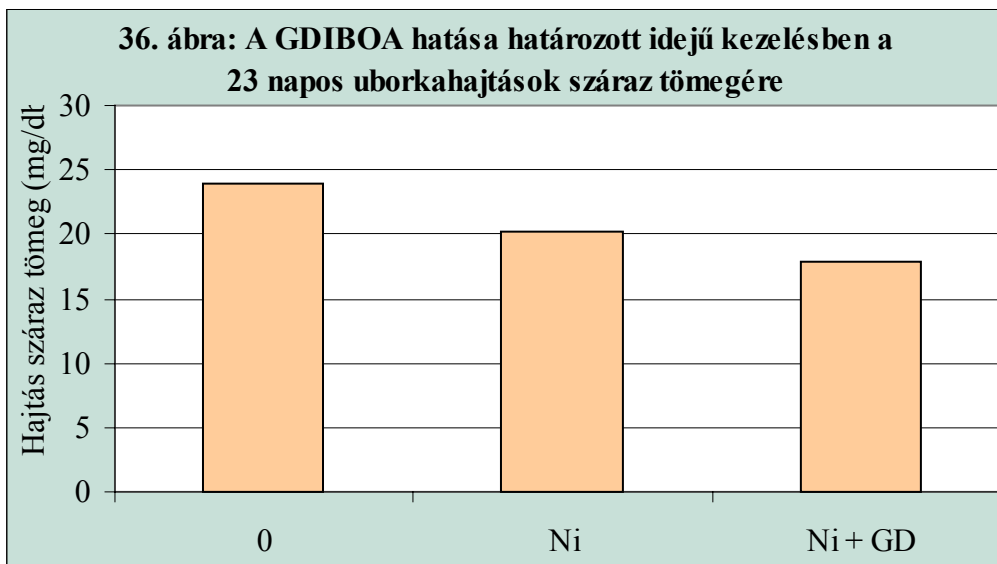
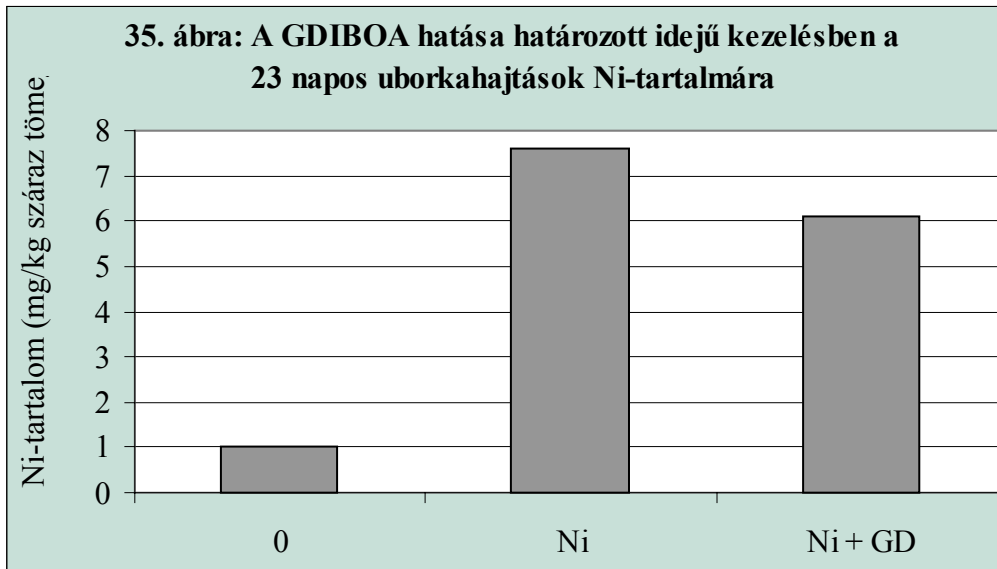
A GDIBOA-adagolás mindegyik kezelési típus esetében csökkentette a hajtások nikkeltartalmát.

A kizárólagos nikkeltadagoláshoz képest a hidroxámsav és nikkelt együttes adagolása folyamatos kezelésben 23,5%-al, határozott idejű 2 órás kezelésben 1,1%-al, 4 órás kezelésben 11,9%-al csökkentette a hajtás száraz tömeget.

A cHx-ak valamennyi egyéb kísérleti típusban, amelyben, Ni-t adagoltam, csökkentették a Ni mennyiségét az uborka- és kukoricahajtásokban is (Lásd még: 7. 8. 9. és 21. táblázatok).







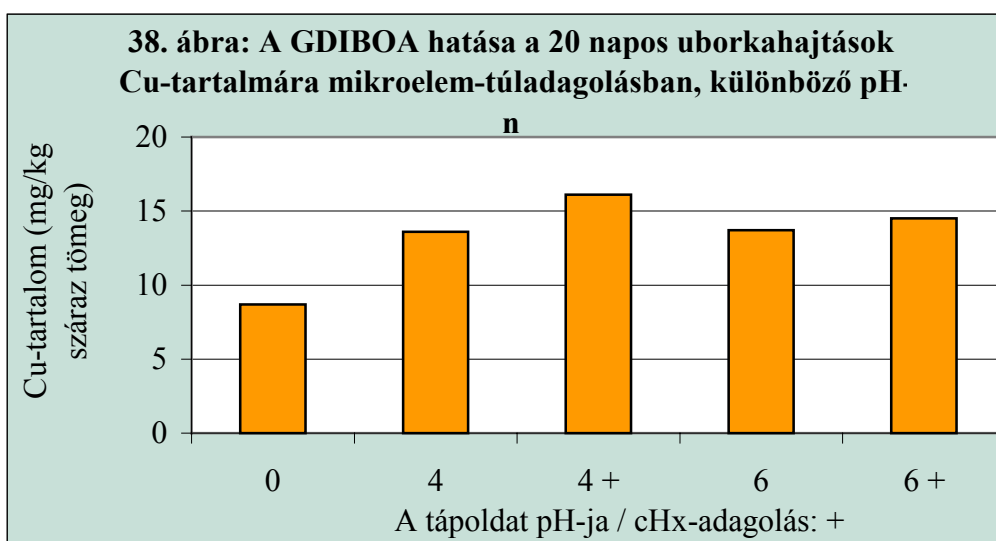
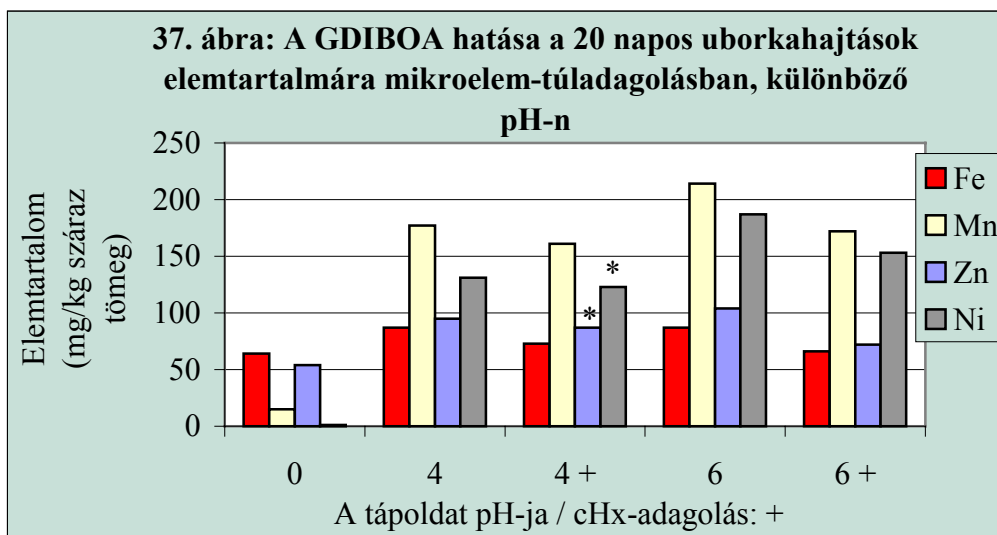
16. táblázat

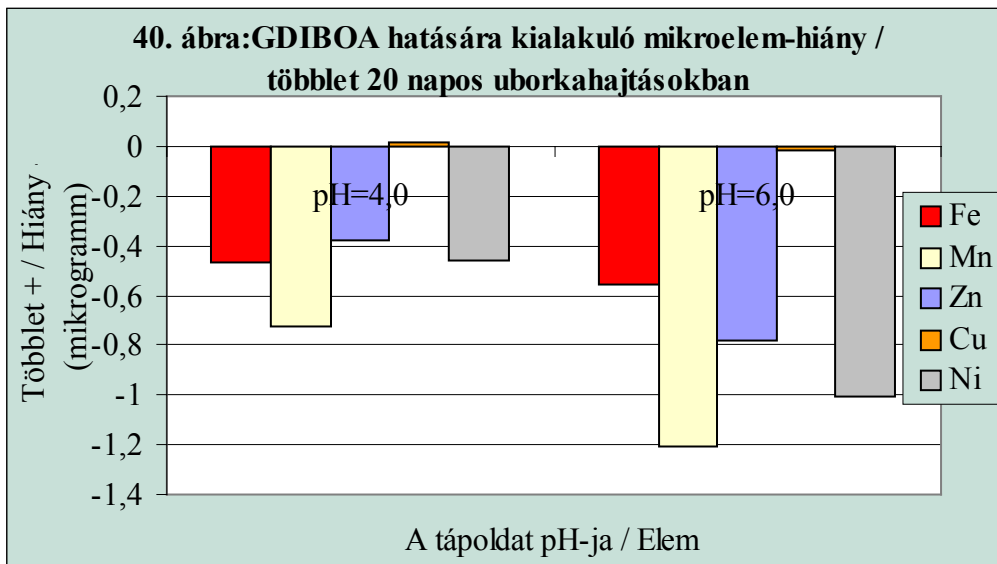
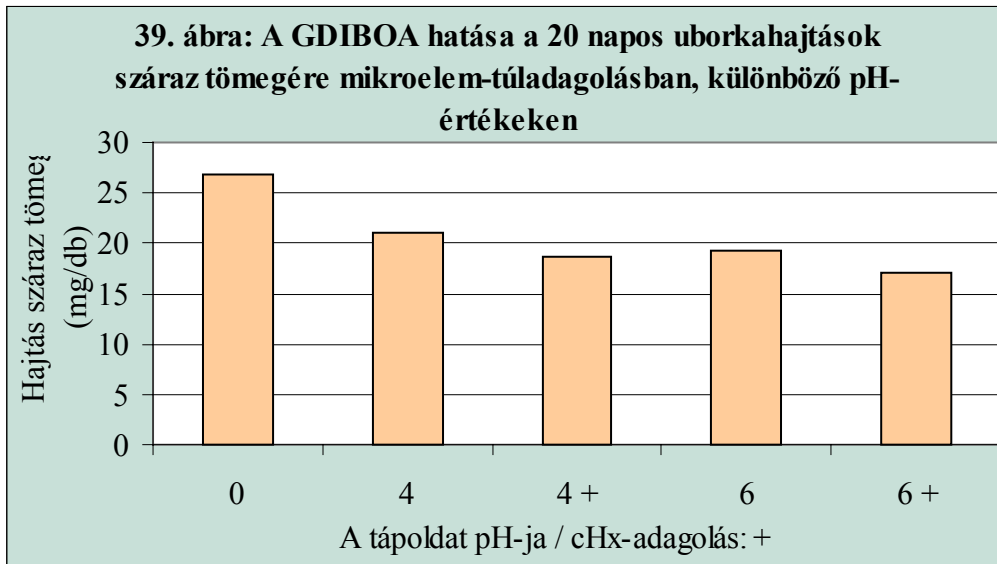
GDIBOA kezelés hatása az uborkanövények nikkeltartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Kezelés	Kontroll	$0,3 \times 10^{-6}$ mol/L NiSO ₄	$0,3 \times 10^{-6}$ mol/L NiSO ₄ + $0,3 \times 10^{-6}$ mol/L GDIBOA
Ni (14 napos hajtások, folyamatos kezelés)	1,3	27,6	15,4
Hajtás tömeg (mg/db)	19,5	20,0	15,3
Kezelés	Kontroll	10^{-6} mol/L NiSO ₄	10^{-6} mol/L NiSO ₄ + 10^{-6} mol/liter GDIBOA
Ni (20napos hajtások, 2 órás kezelés)	1,0	8,9	8,2*
Hajtás tömeg (mg/db)	23,9	18,9	18,7*
Ni (23 napos hajtások, 4 órás kezelés)	1,0	7,6	6,1
Hajtás tömeg (mg/db)	23,9	20,2	17,8

4.2.2. A DIBOA-glükozid szerepe az uborka mikroelem-toleranciájában emelt szintű mikroelem-adagolás mellett

Uborkanövényeket neveltem 14 napos korukig mikroelemektől mentes tápoldaton. Ez után a növényeket 5 csoportra osztottam. Egy csoport továbbra sem kapott mikroelemeket (kontroll), két-két csoport tápoldatának pH-ját 4,0 és 6,0 értékre állítottam be. Mindkét pH-n a növények egyik csoportja 3×10^{-5} mol/L GDIBOA-kezelést kapott 2 x 8 óra időtartamig, a 14. és 17. napon. A kontroll csoporton kívül minden növénycsoport mikroelemkezelést kapott 2 x 8 óra időtartamig a 14. és 17. napon, melyben a mikroelemek adagja az eredeti (CSEH *et al.* 1982) ajánláshoz képest a vegyületek tízszeres mennyiségeit tartalmazta, valamint 10^{-5} mol/L mennyiségű NiSO₄-al is kiegészítettem, így a jelentős mikroelemtöbblettel rendelkező tápoldattal a növények gyökerei hosszú ideig érintkezhettek. A hajtások elemtartalmát és száraz tömegét a 17. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 37.-38. és 39. ábrák tartalmazzák.





17. táblázat

A GDIBOA hatása a 20 napos uborkahajtások mikroelem-tartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Kezelés					
Elem / Hajtás tömeg	Kontroll	4	4 + GD	6	6 + GD
Fe	64,0	87,0	73,0	87,0	66,0
Mn	14,9	177,0	161,0	214,0	172,0
Zn	54,0	95,0	87,0*	104,0	72,0
Cu	8,7	13,6	16,1	13,7	14,5
Ni	1,2	131,0	123,0*	187,0	153,0
Hajtás tömeg	26,9	21,0	18,6	19,3	17,0

Megjegyzés: A számok a különböző pH-t, a GD a GDIBOA-adagolást jelöli.

A GDIBOA-adagolás mindkét pH-értéken, a réz kivételével valamennyi vizsgált elem koncentrációját csökkentette.

A hidroxámsav-adagolás mindkét pH értéken csökkentette a hajtás tömegét: pH=4,0 értéknél 11,4%-al, pH=6,0 értéknél 11,9%-al. A tápoldat pH-jának növekedésével a gátló hatás erősödött.

A hajtások egyedi elemtartalmának elemenkénti változását a 18. táblázat szemlélteti, az egyedi elemtartalomban a kezelések hatására bekövetkezett eltérést grafikusán 40. ábra mutatja be (Utóbbit lásd a 75. oldalon.).

18. táblázat

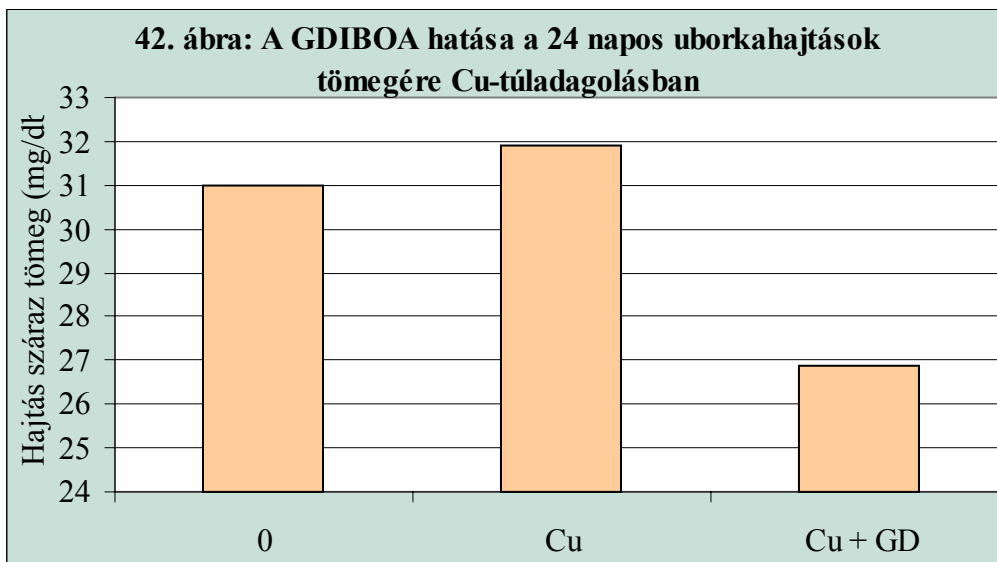
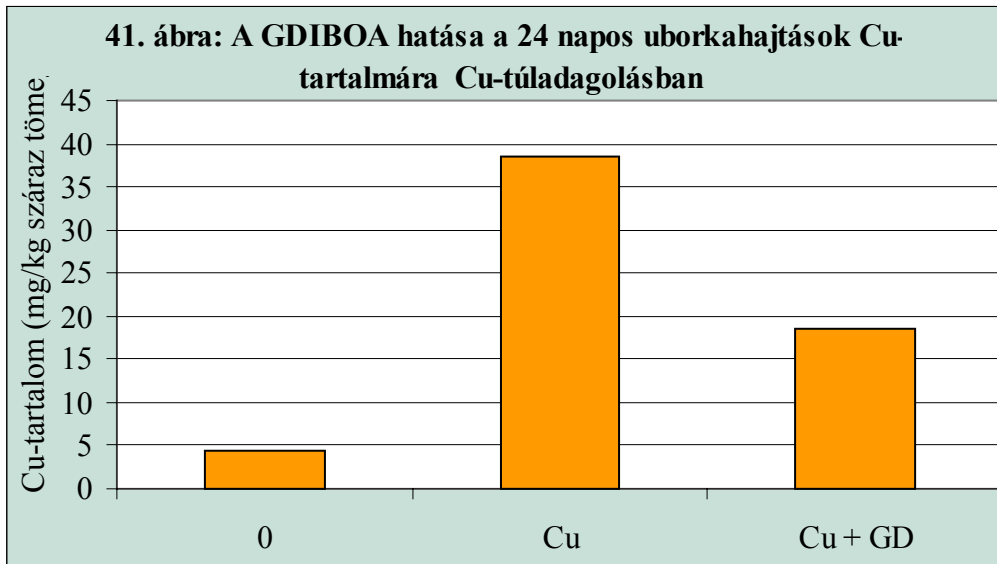
A GDIBOA kezelés hatása a 20 napos uborkahajtások elemtartalmának csökkenésére különböző pH-n (Kivont elemtartalom µg-ban)

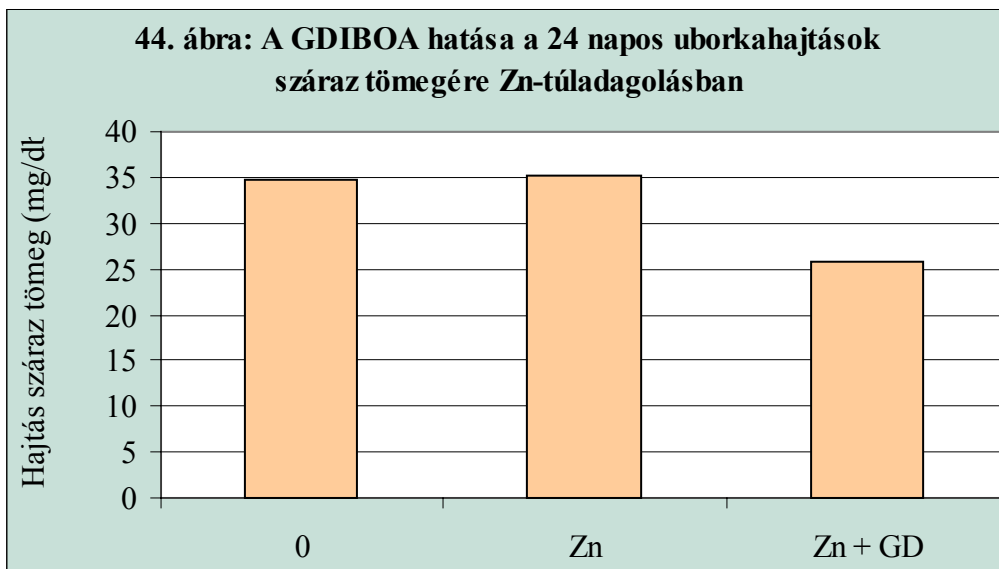
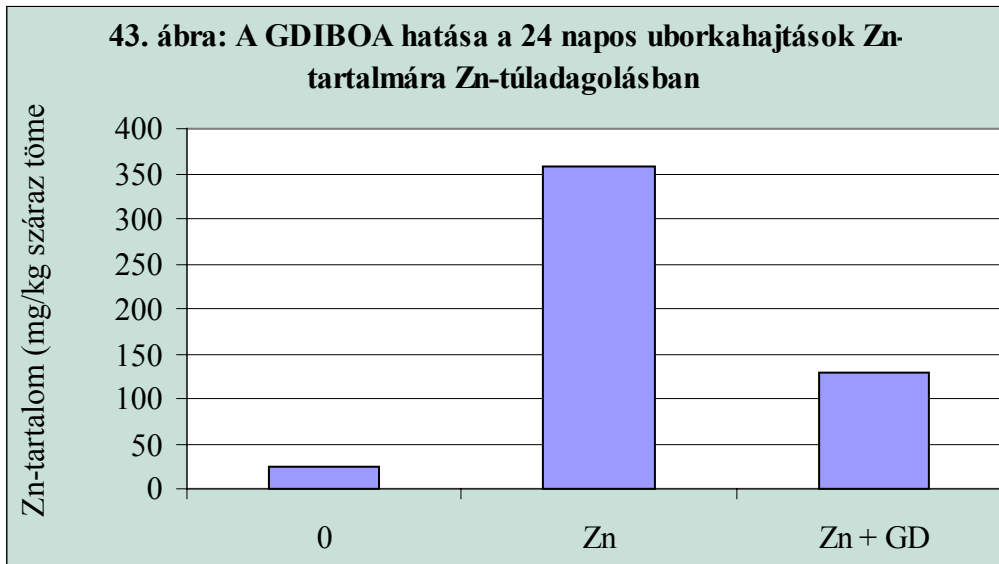
Kivont elem	pH=4,0	pH=6,0
Fe	-0,496	-0,557
Mn	-0,722	-1,206
Zn	-0,377	-0,783
Cu	0,014	-0,018
Ni	-0,463	-1,008

A táblázat adatait úgy lépeztem, hogy az adott pH-n a hidroxámsavtól mentes kezelés egyedi elemtartalmából az adott elem esetében, kivontam az adott pH-n hidroxámsavat kapott kezelés egyedi elemtartalmát.

A GDIBOA-adagolás a 20 napos uborkahajtások összes elemtartalmát csökkentette, kivéve a Cu-tartalmat pH=4,0 értéknél, melyet az e helyen lévő pozitív szám jelez. A cHx-kezelés hatására bekövetkező tömegcsökkenés miatt tehát a Cu egyedi mennyisége pH=6,0-nál növekedett. A kivont elemek egyedi mennyisége mindkét pH-értéknél nagyságrendileg megfelel az adagolt hidroxámsav összes mennyiségének (3×10^{-5} mol/L 3 liter tápoldatban).

Más esetekben uborkanövényeket 19 napos korukig réz-, vagy cinkhiányos tápoldaton neveltem, melyet 4×10^{-6} mol/L Fe(III)-EDTA-val egészítettem ki. Ez után a növények egy-egy csoportját továbbra is réz-, illetve cinkhiányban neveltem (kontroll), a többi növény közül az addig rézhiányos növények rézet, a cinkhiányos növények cinket kaptak szulfát formájában a 19. és 22. napon, valamint ez utóbbi növénycsoportból mind a rézhiányos, mind a cinkhiányos növények egy-egy csoportja az adagolt réz-, illetve cink-szulfáttal azonos mennyiségű GDIBOA-t kapott. Az adagolt réz-, illetve cink mennyisége az eredeti (CSEH *et al.* 1982) ajánláshoz képest 62,5-szeres, illetve 26,3-szeres volt. A 24 napos növények elemtartalmát és hajtásaik száraz tömegét a 19. és 20. táblázatok, az adatok grafikus megjelenítését a 41. 42. 43. és 44. ábrája szemléltetik.





19. táblázat

GDIBOA hatása a 24 napos, rézhiányosan előnevelt uborkanövények hajtásainak réztartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Kezelés	Kontroll	5×10^{-6} mol/L CuSO_4	5×10^{-6} mol/L CuSO_4 + 5×10^{-6} mol/L GDIBOA
Réztartalom	4,4	38,5	18,5
Hajtás tömeg	31,0	31,9	26,9

20. táblázat

A GDIBOA hatása a 24 napos cinkhiányosan előnevelt uborkanövények hajtásainak cinktartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Kezelés	Kontroll	5×10^{-6} mol/L ZnSO_4	5×10^{-6} mol/L ZnSO_4 + 5×10^{-6} mol/L GDIBOA
Cinktartalom	24,4	357,2	128,8
Hajtás tömeg	34,8	35,2	25,7

A GDIBOA-adagolás jelentős cink-, illetve réztúladagolás esetén erőteljesen csökkentette a hajtások cink-, illetve réztartalmát, száraz tömegét. A hajtások tömegcsökkenése hidroxámasav-adagolás hatására réztúladagolásban 15,7%, cinktúladagolásban 27,0%.

4.2.3. A DIMBOA-glükozid szerepe a kukorica mikroelem-toleranciájában emelt szintű mikroelem-adagolás mellett

Kukoricánövényeket neveltem 7 napos korukig mikroelemektől mentes tápoldaton. A növényeket ez után 5 csoportra osztottam. Egy csoport továbbra sem kapott mikroelemeket (kontroll), a másik csoportból két-két csoport a vasat FeCl_3 , illetve Fe(III)-EDTA formájában kapta 10^{-6} mol/L mennyiségben. 10 napos kortól 16 napos korig a kontroll csoporton kívül minden növénycsoport a következő mikroelemoldatot kapta:

H ₃ BO ₃	5,00 x 10 ⁻⁵ mol/L
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1,00 x 10 ⁻⁶ mol/L
ZnSO ₄	1,00 x 10 ⁻⁶ mol/L
CuSO ₄ x 5H ₂ O	5,00 x 10 ⁻⁷ mol/L
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	5,00 x 10 ⁻⁷ mol/L
NiSO ₄ x 7H ₂ O	1,00 x 10 ⁻⁶ mol/L

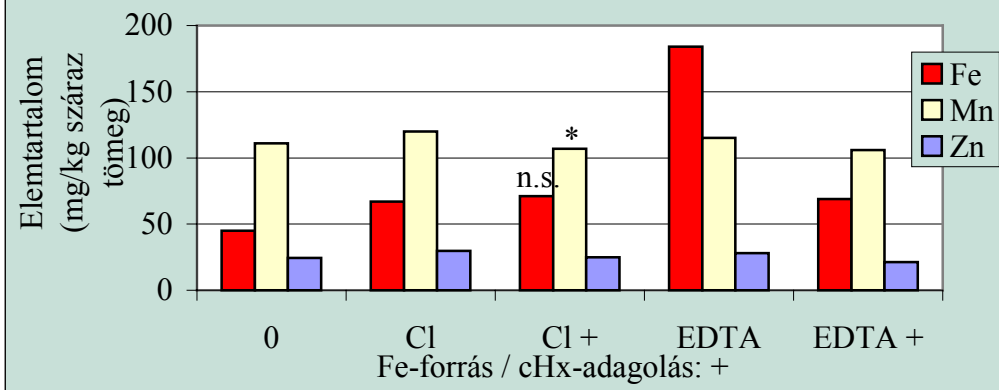
Az alkalmazott koncentrációk az eredeti (TREEBY *et al.* 1989) ajánláshoz képest két és félszeres - ötszörös mennyiségek, az adagolt vas mennyisége azonban megegyezik az irodalmi ajánlásokban megadott értékekkel. A tápoldat a fent megadott mennyiségben nikkelt is tartalmazott. A vasas kezelésekben a növények egyik csoportja GDIMBOA-t kapott 5x10⁻⁶ mol/L mennyiségben, mivel a kukoricában a GDIMBOA a domináns cHx-glükozid. A növények 16 napos korában értékeltém a kísérleteket. A hajtások elemtartalmát és száraz tömegét a 21. táblázat, az adatok grafikus megjelenítését a 45. 46. és 47. ábrák szemléltetik.

21. táblázat

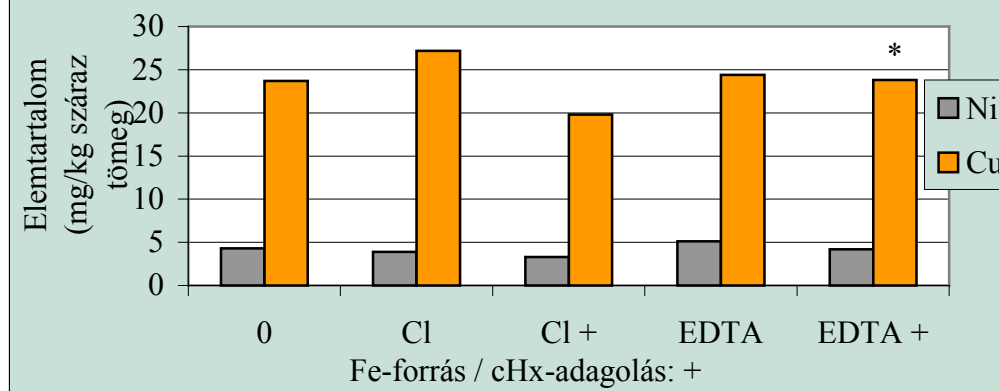
GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricánövények hajtásainak mikroelem-tartalmára (mg/kg száraz tömeg) és száraz tömegére (mg/db)

Elem / Hajtás tömeg	Kontroll	FeCl ₃	FeCl ₃ + GDIMBOA	Fe (III) EDTA	Fe (III) EDTA + GDIMBOA
Fe	45,0	67,0	71,0 n.s.	184,0	69,0
Mn	111,0	120,0	107,0*	115,0	106,0
Zn	24,5	29,8	25,0	28,0	21,3
Cu	23,7	27,2	19,8	24,4	23,8*
Ni	4,3	3,9	3,3*	5,1	4,2
Hajtás tömeg	57,5	47,6	51,1	52,5	50,1*

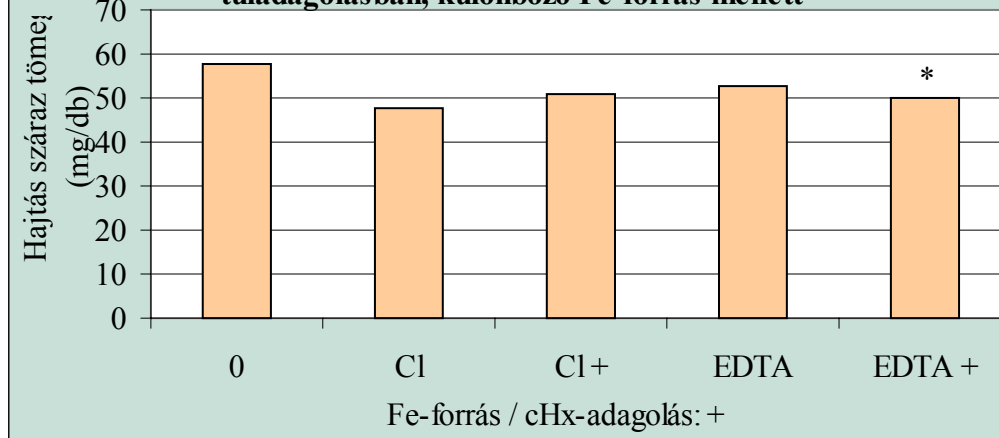
45. ábra: A GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricahajtások Fe-, Mn- és Zn-tartalmára mikroelem-túladagolásban, különböző Fe-forrás mellett



46. ábra: A GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricahajtások Ni- és Cu-tartalmára mikroelem-túladagolásban, különböző Fe-forrás mellett



47. ábra: A GDIMBOA hatása a 16 napos kukoricahajtások száraz tömegére mikroelem-túladagolásban, különböző Fe-forrás mellett



A hidroxámsav-adagolás FeCl₃-adagolás esetén 7,4%-al növelte, Fe(III)-EDTA-adagolás esetén 4,6%-al csökkentette a hajtás száraz tömeget.

A kétféle típusú vasadagolás mellett a GDIMBOA csökkentette a vizsgált elemek koncentrációját, kivéve FeCl₃-adagolás esetén a vastartalmat.

4.2.4. A mikroelem-toleranciával kapcsolatos kísérletek értékelése

A mikroelem-tolerancia a növény védekezése a mikroelemek nagy mértékű felszaporodása ellen azokon a helyeken, ahol azok zavart okozhatnak. Megoldása többféleképpen realizálódhat: a mikroelemek sejtfalban történő kötődése; sejtbe való bejutásuk gátlása; aktív kiválasztásuk a sejtből; kiválasztásuk a vakuólumba; komplexálásuk a citoplazmában (fitokelatinokkal, szerves savakkal, szervesetlen komplexek kialakulása útján); ektomikorrhiza gombák általi megkötésük; fokozott szállításuk a hajtásba; komplexálásuk a sejten kívül. Az egyes módok előfordulása, aránya az adott növényfajtól, fajtától függ (MARSCHNER, 1995).

A ciklikus hidroxámsavak valószínűleg a legvégül említett lehetőségnek megfelelően (komplexálás a sejten kívül) működnek közre a mikroelem-toleranciában.

Ugyanezt a mikroelem-tolerancia formát írja le DELHAIZE (in AE *et al.* 2001), aki a különböző búzafajták eltérő alumínium-toleranciáját vizsgálva tapasztalta, hogy a toleráns fajták fokozott alumínium-adagolás mellett fokozzák a gyökerek szerves sav- (malát, citrát, oxalát), peptid- és foszfát kiválasztását, míg a szenzitív fajtáknál ezen gyökérexudátumok mennyisége nem változik. A lekötődés és a komplexálás csökkenti a felvett mennyiséget, ezzel hozzájárul a tolerancia kialakításához.

Kísérleteimben a GDIBOA- és a GDIMBOA-adagolása határozott idejű, a GDIBOA-adagolása folyamatos kezelés mellett csökkentette az uborkahajtások nikkeltartalmát. A GDIMBOA folyamatos adagolásban csökkentette a kukoricahajtások nikkeltartalmát (Lásd még 7. 8. és 9. táblázatok is). Valószínű, hogy az olyan elemek felvételét, mint a Ni, melyekkel a ciklikus hidroxámsavak komplexet képeznek és a növények rendszerint csak humán eredetű szennyezésekkor találkoznak, a ciklikus hidroxámsavak már az elem igen alacsony (10^{-6} mol/L nagyságrendű) koncentrációja mellett is mérséklék, ezzel meggátolják, hogy a növényben toxikus szinten halmozódjanak fel.

Kísérleteimben a GDIBOA csökkentette az uborkahajtások vas-, mangán-, nikkelt-, cink-, és pH-tól függően réztartalmát ezen elemek túladagolása esetén.

Jelentős mértékű réz- illetve cinktúladagolás mellett a GDIBOA az átlagoshoz közeli értékre csökkentette az említett mikroelemek mennyiségét az uborkahajtásokban.

A GDIMBOA adagolása mikroelem-túladagolás mellett, a vasadagolás típusától függetlenül csökkentette a kukorica réz-, mangán-, nikkel-, és cinktartalmát. A vastartalom az egyéb mikroelemek túladagolása mellett csak Fe(III)-EDTA-adagolás esetén csökkent.

A ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételt gátló hatása tápoldatos körülmények között nagymértékben függ a ciklikus hidroxámsavak különböző fémionokhoz való eltérő affinitásától, valamint a fémionok egymáshoz viszonyított arányától a közegben.

A ciklikus hidroxámsavak mikroelemek felvételét gátló hatása a természetben átlagos körülmények között előforduló mikroelemekkel kapcsolatban akkor jelentkezik, amikor a mikroelemeket az átlagosnál nagyobb mennyiségben adagoljuk a tápoldatba. Feltételezhető, hogy mikroelem-túladagolás mellett a fém-komplex felvételét biztosító mechanizmus kapacitása egy adott mennyiségen felül kimerül. Ilyen esetekben, tápoldatban a növény szabad ionokból nagyobb mennyiséget vesz föl, mely az elemek toxikus szinten történő feldúsulásához vezethet a hidroxámsavmentes kezelések növényeiben.

A mikroelem-toleranciával kapcsolatos kísérletekben az uborkanövények hajtásainak száraz tömege folyamatos ciklikus hidroxámsav-adagolás mellett 15,7-27%-al csökkent a csak mikroelemeket kapott kezelésekhez képest. Határozott idejű kezelésekben a csökkenés mértéke 1,1-11,9%, ezen belül a rövidebb időtartamú kezelések gátló hatása kisebb mértékű. A kisebb száraz tömegben mért alacsonyabb mikroelem-koncentráció erősíti a ciklikus hidroxámsavak szerepét a mikroelem-toleranciában.

A kukoricanövények hajtásainak száraz tömege a vasadagolás formájától függően 7,4%-al növekedett (FeCl_3), vagy 4,6%-al csökkent [Fe(III)-EDTA] ciklikus hidroxámsav-adagolás hatására. A kísérleti adatok azt mutatják, hogy a ciklikus hidroxámsavak növekedést gátló hatása mikroelem-túladagolásban FeCl_3 -adagolás mellett csak magasabb koncentrációnál érvényesül, ugyanis 5×10^{-6} mol/L GDIMBOA még nem csökkenti a kukoricanövények növekedését. A mikroelem-felvétellel kapcsolatos kísérletekben FeCl_3 -adagolás mellett 3×10^{-6} mol/L GDIMBOA már növekedést gátló hatású volt.

A mikroelem-toleranciával kapcsolatos kísérletekben a ciklikus hidroxámsav-adagolás és a mikroelem-túladagolás tömegcsökkenést kiváltó hatása az adott kezelésekben összegződött.

4.3. Különböző fajok ciklikus hidroxámsav-kiválasztásának összehasonlítása

Kukorica (fajta: Norma SC), termesztett búza (fajta: Mv 16), és rozs (fajta: Kisvárdai) ciklikus hidroxámsav-kiválasztását vizsgáltam. A gyökérexudátumok gyűjtése 12 napos korban, 10^{-5} mol/L Fe (III)-EDTA adagolás mellett történt, mivel a Fe (III)-EDTA adagolás mértéke, a FeCl_3 -al ellentétben nem befolyásolja a hidroxamát-kiválasztást. A hidroxámsav-kiválasztást a délelőtti órákban vizsgáltam (8-12 h között=4 óra inkubációs idő), figyelembe véve a kiválasztás napi menetének alakulását, mely szerint a hidroxámsavak kiválasztása a megvilágítás hatására fokozatosan csökken (PETHŐ *et al.* 1997).

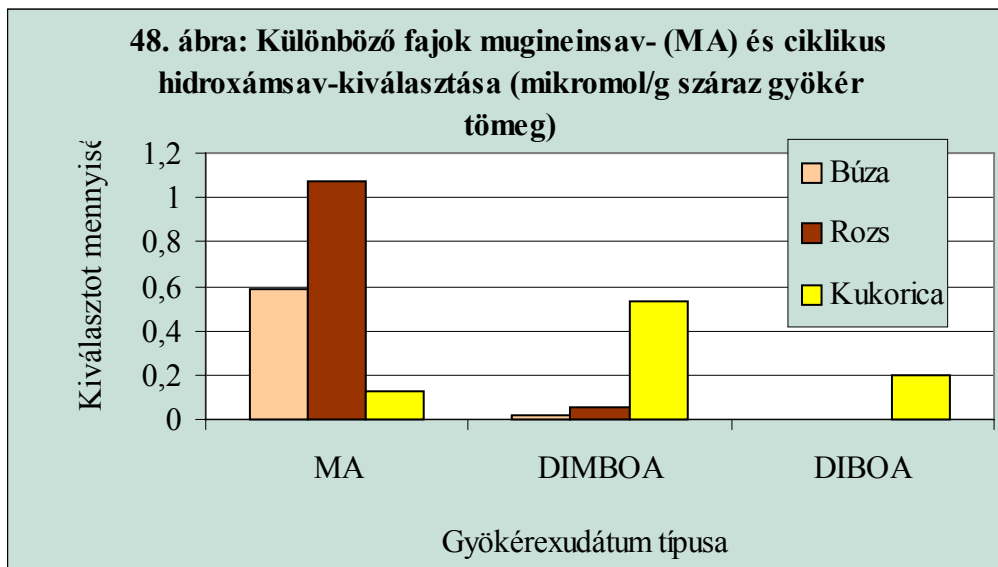
Egy korábbi kísérletben Tanszékünkön meghatározták az általunk jelen kísérletsorozatban vizsgált három faj, illetve fajta mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztását ZHANG *et al.* (1989) által módosított TAKAGI (1976) eljárással. E kísérlet adatai PETHŐ (2000) publikációjából, a szerző beleegyezésével állnak rendelkezésre. Az ezen adatokat tartalmazó oszlopot * jelöléssel láttam el. Az adatokat a 22. táblázat, azok grafikus megjelenítését a 48. ábra tartalmazza.

22. táblázat

Különböző fajok mugineinsav- és ciklikus hidroxámsav-kiválasztása ($\mu\text{mol/g}$ száraz gyökér tömeg/4 óra)

	Anyagkiválasztás			
	Mugineinsav*	DIMBOA	DIBOA	cHx/mugineinsav
Termesztett búza	0,590	0,020	Nyomokban	0,034
Rosz	1,070	0,050	Nyomokban	0,047
Kukorica	0,125	0,530	0,200	5,840

A búza és a rozs, szemben a kukoricával a DIBOA-glükozidot Fe(III)-EDTA adagolás mellett csak nyomokban választ ki. A kismértékű mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztású kukorica hidroxámsav-kiválasztása az előző két fajhoz képest növelt mértékű. A cHx/mugineinsav hányados a rozs és a termesztett búza esetében ezért igen alacsony, míg a kukoricánál magas érték.



Ezek a tények is alátámasztják a hidroxámsavak szerepét a kukorica mikroelem-felvételében. A megállapítások összhangban vannak PETHŐ (1994; 2000) által korábban publikált eredményekkel.

5. Következtetések, javaslatok

Az elért eredmények alapján a továbbiakban célszerűnek tartom az alábbi kérdések vizsgálatát:

- A kiválasztott ciklikus hidroxámsavak stabilitásának vizsgálata talajban.
- A cHx-akat termelő természetű fajok fajtáinak ciklikus hidroxámsav-tartalmának és kiválasztásának összehasonlítása.
- A ciklikus hidroxámsav-kiválasztás vizsgálata idősebb (több mint 16 napos) növények esetében.
- A *Poaceae* család feltérképezése a ciklikus hidroxámsavakat termelő fajok tekintetében.
- A ciklikus hidroxámsavakat termelő fajok, fajták N, P, K ellátottsága és ciklikus hidroxámsav-kiválasztása közötti kapcsolat feltárása.
- Mikroelem-tolerancia vizsgálata egyéb toxikus nehézfémekkel (pl: ólom, kadmium)
- A ciklikus hidroxámsav-tartalom és kiválasztás vizsgálata mikroelem-túladagolás mellett.
- Ciklikus hidroxámsavak és komplexeik membránokon történő átjutásának vizsgálata Pach-Klamp technikával.

Az elért eredmények gyakorlati hasznosítása:

Mivel a ciklikus hidroxámsavaknak mind a mikroelem-felvételben, mind a mikroelem-toleranciában szerepük van, a fajták ciklikus hidroxámsav-kiválasztásának összehasonlítása alapot képezhet a fajták mikroelemfelvevő-képességének, és toleranciájának összehasonlításában, a nagyobb hidroxámsav-kiválasztású fajták termesztése a mikroelem-felvétel hatékonyságát javíthatja, értékesebb élelmiszer és takarmány előállítását teheti lehetővé.

Mind az irodalmi áttekintésből, mind a saját eddigi eredményekből látható, hogy e terület további vizsgálata elméleti szempontból számos lehetőséget kínál és gyakorlati fontosságú következtetésekhez is vezethet.

6. Összefoglalás

1. Tápoldatos körülmények között, a ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételt elősegítő, vagy gátló hatása a közeg pH-jának, a potenciálisan komplexképzésre hajlamos ionok mennyiségének és arányának valamint az alkalmazott ciklikus hidroxámsav típusának függvénye.
2. Az uborka mikroelem-felvételét határozott idejű hidroxámsav adagolás mellett a két gyakori ciklikus hidroxámsav: a GDIBOA és a GDIMBOA eltérően befolyásolja: a GDIBOA a cinkfelvételt savas, míg a vasfelvételt semleges pH-n segíti elő, a GDIMBOA a cinkfelvételt semlegeshez közeli pH-n, a vasfelvételt savas pH-n fokozza. A rézfelvételt a GDIBOA semlegeshez közeli, a GDIMBOA savas pH-n fokozza. A mangánfelvételt mindkét hidroxamát-glükozid savas és semlegeshez közeli pH-n is növeli.
3. A folyamatos hidroxámsav-adagolás, az előírt mennyiségű és arányú mikroelem-ellátás mellett, fokozza a vas- és rézfelvételt mind uborka, mind ciklikus hidroxámsav-termelő kukoricanövények esetében.
4. Határozott idejű és folyamatos hidroxámsav-adagolás, kizárólagos vasadagolás mellett fokozza a ciklikus hidroxámsavakat termelő és nem termelő kukoricafajták hajtásainak vastartalmát. Megvan a lehetősége, hogy a vas – legalábbis részben – komplex formájában kerüljön felvételre, ugyanis a vas-ciklikus hidroxámsav komplexének adagolása után a ciklikus hidroxámsavat a hidroxámsavakat nem termelő fajta gyökerében ki lehetett mutatni.
5. A folyamatos hidroxámsav-adagolást tartalmazó kísérletekben az uborka- és a ciklikus hidroxámsavakat termelő kukoricanövények összes elemtartalma a ciklikus hidroxámsav-adagolás mértékénél nagyobb mértékben is növekedett. Feltételezhető, hogy a ciklikus hidroxámsavak komplexképző hatásán kívül a mikroelem-felvételt egyéb, eddig nem ismert módon is elősegítetik, mely lehetővé teszi az adagolásnál nagyobb mértékű mikroelem-tartalomnövekedést.
6. A ciklikus hidroxámsavak az eddig ismert fitoszideroforok (mugineinsavak) mellett alternatív fitosziderofor funkcióját támasztja alá az eredmény, mely szerint Fe(III)-EDTA adagolás mellett, az alacsony mugineinsav típusú fitosziderofor-kiválasztású kukorica hidroxámsav-kiválasztása számottevő, a magas mugineinsav típusú

fitosziderofor-kiválasztású rozs és búza hidroxámsav-kiválasztása a kukoricához képest alacsony.

7. A mikroelem-felvétellel kapcsolatos kísérletekben folyamatos hidroxámsav-adagolás mellett a hidroxámsavak az uborka- és a ciklikus hidroxámsavakat termelő kukoricanövények növekedését mikromolnyi (10^{-6} mol/L) mennyiségben serkentették. A hidroxámsavakat nem termelő bxbx mutáns növekedését a hidroxamátok 50×10^{-6} mol/L mennyiségben is növelték. Határozott idejű kezelésekből, az említettekénél nagyobb adagban alkalmazva a hidroxamátokat, az uborka növekedését gátolják. A növekedésgátlás mértéke a kezelés időtartamának és a tápoldat pH-jának függvénye. A kezelési idő és a tápoldat pH növekedésével a növekedésgátlás fokozódik.
8. Uborkanövények vas-, mangán-, cink-, réz- és nikkelfelvételét nagy adagú mikroelem-adagolás mellett a ciklikus hidroxámsavak gátolják.
9. Kukoricanövények réz-, cink-, mangán-, és nikkeltartalma csökkent fokozott, hosszabb idejű mikroelem-adagolás mellett ciklikus hidroxámsav-adagolás hatására.
10. Azon elemek felvételét, mint pl. a nikkelt, melyek átlagos körülmények között nem fordulnak elő a környezetben, tápelemnek nem tekinthetők és a ciklikus hidroxámsavakkal komplexet képeznek, a ciklikus hidroxámsavak gátolják.
11. A mikroelem-toleranciával kapcsolatos kísérletekben a ciklikus hidroxámsavak az uborka növekedését gátolták. Ez kísérlettől függően az alkalmazott magas hidroxámsav koncentrációknak, az alkalmazás folyamatosságának, vagy a mikroelem-túladagolás és a hidroxámsav-adagolás kombinálódó hatásának tulajdonítható. A kukorica növekedését a hidroxamát-adagolás mikroelem-túladagolás mellett a vasforrás típusától függően befolyásolta. FeCl_3 -adagolás mellett, a mikroelem-túladagolás és a hidroxámsavak mikromolnyi mennyiségű adagolása (5×10^{-6} mol/L) fokozta a hajtások száraz tömegét.
12. A ciklikus hidroxámsavak mikroelem-felvételt gátló hatása elsősorban mikroelem-túladagoláskor jelentkezik. A képződő komplexek gátolják a nagy adagú, gyors felvételt, mellyel megakadályozzák a feleslegben jelen lévő mikroelem(ek) toxikus szinten történő felhalmozódását a növényben. A kiválasztott ciklikus hidroxámsavak tehát elősegítik, hogy a növény tolerálja a magasabb mikroelem-koncentrációt, vagyis védő funkciót látnak el.

Új és újszerű tudományos eredmények

1. Kimutattam, hogy a ciklikus hidroxámsavak vas-, mangán-, cink és rézfelvételét elősegítő hatása az alkalmazott ciklikus hidroxámsav típusától, a fémionok mennyiségétől és arányától, valamint a tápoldat pH-jától függ.
2. Ciklikus hidroxámsavakat nem termelő kukoricamutáns segítségével megerősítettem a ciklikus hidroxámsavak vasfelvételben betöltött szerepét, valamint azt a feltételezést, hogy a vasfelvétel hidroxámsav-komplex formájában történhet.
3. Megerősítettem, hogy a ciklikus hidroxámsavak mikromolnyi (10^{-6} mol/L) mennyiségben adagolva serkentik mind az egy-, mind a kétszikű növények (kukorica és uborka) növekedését.
4. Megerősítettem, hogy mikromolnyi koncentrációnál nagyságrendileg nagyobb koncentrációban alkalmazva a ciklikus hidroxámsavaknak általában növekedést gátló hatása van. Kimutattam, hogy a növekedést gátló hatás a tápoldat pH-jának növelésével erősödik.
5. Kimutattam, hogy a ciklikus hidroxámsavaknak szerepe van a mikroelem-toleranciában. E szerepük két esetben kerül előtérbe. Amennyiben a potenciálisan komplex képzésére alkalmas mikroelemeket a szakirodalomban megadott értékekhez képest túladagoljuk, vagy amikor a természetes körülmények között elő nem forduló, de a ciklikus hidroxámsavakkal komplexet képező mikroelemet adagolunk.
6. Fe(III)-EDTA adagolás mellett kimutattam, hogy a kukorica, kismértékű mugineinsav típusú fitosziderofor kiválasztását jelentős ciklikus hidroxámsav kiválasztással kompenzálja. A jelentős mértékű mugineinsav típusú fitosziderofor kiválasztással rendelkező természetett búza és rozs ciklikus hidroxámsav kiválasztása pedig a kukoricáéhoz képest alacsony.

7. Köszönetnyilvánítás:

Ez úton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőmnek, Dr. Pethő Menyhért egyetemi tanár úrnak, hogy lehetővé tette számomra az e témában való elmélyedést, valamint értékes tanácsait és lelkiismeretes munkáját, melyekkel dolgozatom elkészítését elősegítette.

Köszönettel tartozom Dr. Balogné Dr. Nyakas Antónia tanszékvezető egyetemi docensnek, hogy kutatásaimhoz a megfelelő tanszéki feltételeket biztosította.

Szintén köszönetemet fejezem ki Dr. Kovács Béla egyetemi docens és Dr. Posta József egyetemi tanár segítségéért a minták elemtartalmának mérésével kapcsolatban.

Köszönetemet fejezem ki édesapámnak, Dr. Makleit Sándor emeritus professzornak, a dolgozat elkészítésével kapcsolatos szerteágazó segítségéért is.

Köszönöm Oláhné Tóth Ibolya laboránsnak a kísérletek elvégzésével kapcsolatos segítségét.

Saját publikációk, előadások, poszterek:

- MAKLEIT, P.: 1999 A ciklikus hidroxámsav-glükozidok szerepe a tápanyagfelvételben. DATE Tiszántúli Tudományos Napok Közleményei. 191.
- MAKLEIT, P.: 2000 Különböző fajok ciklikus hidroxámsav-kiválasztásának összehasonlítása. VI. Ifjúsági Tudományos Napok Közleményei CD. 2.3.
- MAKLEIT, P. – PETHŐ, M.: 1999 A ciklikus hidroxámsav-glikozidok szerepe a mikroelemek felvételében. DATE Tudományos Közleményei. 34. 33.
- MAKLEIT, P.: 2000 The role of cyclic hydroxamic acids in ion uptake. Plant Physiology and Biochemistry. 38. 154.
- MAKLEIT, P. – PETHŐ, M.- KOVÁCS, B.: 1999-2000 A ciklikus hidroxámsavak szerepe a mikroelem-toleranciában. Botanikai Közlemények. 86-87. 115.
- MAKLEIT, P.: 2002 A ciklikus hidroxámsavak szerepe a mezőgazdasági növények életében. Agrártudományi Közlemények. (Közlésre elfogadva)

Poszterek, előadások:

- V. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely. 1999. március (poszter). Téma: Hidroxámsav-glükozidok alkalmazása tápoldatos kísérletekben.
- Tiszántúli Mezőgazdasági Tudományos Napok, Debrecen. 1999. október (poszter). Téma: Hidroxámsav-glükozidok szerepe a tápanyagfelvételben.
- VI. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely. 2000. március (előadás). Téma: Különböző fajok ciklikus hidroxámsav-kiválasztásának összehasonlítása.
- Tavaszi szél. Doktoranduszok és Fiatal Kutatók 4. Országos Találkozója, Gödöllő. 2000. április (poszter). Téma: A ciklikus hidroxámsavak szerepe a mikroelemek felvételében.
12. FESPP Nemzetközi Kongresszus, Budapest. 2000. augusztus (poszter). Téma: A ciklikus hidroxámsavak szerepe az ionfelvételben, mikroelem-toleranciában.

7. IRODALOM:

- AE, N. – ARIHARA, J. – OKADA, K. – SRINIVASAN, A.: 2001. Plant Nutrient Acquisition. Springer, Heidelberg. Part II. Proceeding 6.: DELHAIZE: The role of root exudates in aluminium tolerance.
- ÅHMAN, I. – JOHANSSON, M.: 1994 The effect of light on DIMBOA-glucoside concentration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annales of Applied Biology*. 124. 569-574.
- ANAI, T. – AIZAWA, H. – OHTAKE, N. – KOSEMURA, S. – YAMAMURA, S. – HASEGAWA, K.: 1996 A new auxin-inhibiting substance, 4-Cl-6,7-dimethoxy-2-benzoxazolinone, from light-growth maize shoots. *Phytochemistry*. 42. 273-275.
- ARGANDONA, V. H. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1980 Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. *Phytochemistry*. 19. 1665-1668.
- ARGANDONA, V. H. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1981 a. Effect of content and distribution of hydroxamic acids in wheat on infestation by the aphid *Sizaphis graminum*. *Phytochemistry* 20. 673-676.
- ARGANDONA, V. H. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1981 b. Effect of content and distribution of hydroxamic acids in wheat on infestation by the aphid *Sizaphis graminum*. *Phytochemistry*. 40. 673-676.
- ARGANDONA, V. H. – PENA, G. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1982 Effect of cysteine on stability and toxicity to aphids of cyclic hydroxamic acid from *Gramineae*. *Phytochemistry*. 21. 1573-1574.
- ARGANDONA, V. H. – CORCUERA, L. J.: 1985 Distribution of hydroxamic acids in *Zea mays* tissues. *Phytochemistry*. 24. 177-178.
- ARGANDONA, V. H. – ZUNIGA, G. E. – CORCUERA, L. J.: 1987 Distribution of gramine and cyclic hydroxamic acids in barley and wheat leaves. *Phytochemistry*. 26. 1917-1918.
- ARMOUR, C. A. – RYAN, D. E.: 1957 N-acyl substituted phenylhydroxylamines: the effect of radical change on analytical behaviour. *Canadian Journal of Chemistry*. 35. 1454-1460.
- ARNON, D. I.: 1949 Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24. 1-15.

- ATKINSON, J. – MORAND, P. – ARNASON, J. T.: 1991 Analogues of the cyclic hydroxamic acid 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3-one: decomposition to benzoxazolinones and reaction with β -mercaptoethanol. *Journal of Organic Chemistry*. 56. 1788-1800.
- AWAD, F. – RÖMHELD, V.: 1997 a. Mobilization and absorption of heavy metals from contaminated calcareous soil by plant-borne chelators. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts 90.
- AWAD, F. – RÖMHELD, V.: 1997 b. Significance of graminaceous species for acquisition of heavy metals from contaminated calcareous soil. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts 91.
- BAILEY, B. A. – LARSON, R. L.: 1989 Hydroxamic acid glycosyltransferases from maize seedlings. *Plant Physiology*. 90. 1071-1076.
- BARNES, J. P. – PUTNAM, A. R. – BURKE, B. A. – AASEN, A. J.: 1987 Isolation and characterization of allelochemicals in rye herbage. *Phytochemistry*. 26. 1385-1390.
- BARRIA, B. N. – COPAJA, S. V. – NIEMEYER, H. M.: 1992 Occurrence of DIMBOA in wild *Hordeum* species and its relation to aphid resistance. *Phytochemistry*. 31. 89-91.
- BASS, V. C. – YOE, J. H.: 1966 Hydroxamic acids as colorimetric reagents. *Talanta*. 13. 735-744.
- BAUMELER, A. – HESSE, M. – WERNER, C.: 2000 Benzoxazinoids – cyclic hydroxamic acids, lactams and their corresponding glucosides in the genus *Aphelandra* (*Acanthaceae*). *Phytochemistry*. 53. 213-222.
- BECK, S. D. – KASKE, E. T. – SMISSMAN, E. E.: 1957 Quantitative estimation of resistance factor, 6-methoxybenzoxazolinone, in corn plant tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 5. 933-935.
- BECK, D. L. – DUNN, G. M. – ROUTLEY, D. G. – BOWMAN, J. S.: 1983 Biochemical basis of resistance in corn to the corn leaf aphid. *Crop Science*. 23. 995-998.
- BEMILLER, J. N. – PAPPELIS, A. J.: 1965 GDIMBOA in corn. I. Relation of watersoluble, 1-butanol soluble glucoside fraction content of pith cores and stalk rot resistance. *Phytopathology*. 55. 1237-1240.

- BERGER, P. J. – NEGUS, N. C. – SANDERS, E. H. – GARDNER, P. D.: 1981
Chemical triggering of reproduction in *Microtus montanus*. *Science*. 214. 69-70.
- BIGLER, L. – BAUMELER, A. – WERNER, C. – HESSE, M.: 1996 Detection of noncovalent complexes of hydroxamic-acid derivatives by means of electrospray mass spectrometry. *Helvetica Chimica Acta*. 79. 1701-1709.
- BRAVO, H. R. – NIEMEYER, H. M.: 1985 Decomposition in aprotic solvents of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazoline-3-one, a hydroxamic acid from cereals. *Tetrahedron*. 41. 4983-4986.
- BRAVO, H. R. – NIEMEYER, H. M.: 1986 a. A new product from the decomposition of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), a hydroxamic acid from cereals. *Heterocycles*. 24. 335-337.
- BRAVO, H. R. – NIEMEYER, H. M.: 1986 b. Interaction of DIMBOA with alcoholic solvents. *Heterocycles* 24, 2809-2812.
- BRAVO, H. R. – LAZO, W.: 1996 Antialgal and antifungal activity of natural hydroxamic acids and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44. 1569-1571.
- BRENDENBERG, J. B.-S. – HONKANEN, E. – VIRTANEN, A. I.: 1962 The kinetics and mechanism of the decomposition of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Acta Chemica Scandinavica*. 16. 135-141.
- BROWN, J. C. - TIFFIN, L. O.: 1965 Iron stress as related to the iron and citrate occurring in stem exudate. *Plant Physiology*. 40. 395-400.
- BROWN, D. A. – ROCHE, A. L. – PAKKANEN, T. A. - PAKKANEN, T. T. – SMOLANDER, K.: 1982 The X-ray crystal structure of bis (glycinohydroxamato) nickel(II). A novel co-ordination of nickel by a hydroxamic acid via the nitrogen atom of the NHOH group. *Journal of Chemical Society Chemical Communications*. 676-677.
- BROWN, D. A. – ROCHE, A. L.: 1983 Design of metal chelates with biological activity. 3. Nickel(II)-complexes of alkyl and amino hydroxamic acids. *Inorganic Chemistry*. 22, 2199-2202.
- CAKMAK, I. – ERENOGLU, B. – GÜLÜT, K. Y. – DERICI, R. – RÖMHELD, V.: 1997 High light intensity enhanced release of phytosiderophores in wheat and barley under iron and zinc deficiency. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. *Symposium Abstracts* 11.

- CAMBIER, V. – HANCE, T. – DE HOFFMANN, E.: 1999 a. Non-injured maize contains several 1,4-benzoxazin-3-one related compounds but only as glucoconjugates. *Phytochemical Analysis* 10, 119-126.
- CAMBIER, V. – HANCE, T. – DE HOFFMANN, E.: 1999 b. Variation of DIMBOA and related compounds content in relation to the age and plant organ in maize. *Phytochemistry*. 53. 223-229.
- CHASE, W. R. – NAIR, M. G. – PUTNAM, A. R.: 1991 2,2'-oxo-1,1'-azobenzene: selective toxicity of rye (*Secale cereale* L.) allelochemicals to weed and crop species: II. *Journal of Chemical Ecology*. 17. 9-19.
- CHATTERJEE, B. – BASA, S. C.: 1969 Extractives of *Acanthaceae*: blepharin, a novel glucoside from *Blepharis indica* Pers. *Chemistry and Industry*. 328-330.
- CHATTERJEE, B.: 1978 Donor properties of hydroxamic acids. *Coordination Chemistry Reviews*. 26. 281-303.
- CHEN, C. M. – CHEN, M. T.: 1976 6-methoxybenzoxazolinone and triterpenoids from roots of *Scoparia dulcis*. *Phytochemistry*. 12. 207-209.
- COPAJA, S. V. – BRAVO, H. R. – NIEMEYER, H. M.: 1986 N-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-glyoxylohydroxamic acid, a reactive intermediate in reactions of 2,4-dihydroxy-7 methoxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Journal of Organic Chemistry*. 51. 3542-3545.
- COPAJA, S. V. – NIEMEYER, H. M. – WRATTEN, S. D.: 1991 Hydroxamic acid levels in Chilean and British wheat seedlings. *Annals of Applied Biology*. 118. 223-227.
- CORCUERA, L. J. – WOODWARD, M. D. – HELGESON, J. P. – KELMAN, A. – UPPER, C. D.: 1978 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an inhibitor from *Zea mays* with differential activity against soft rotting *Erwinia* species. *Plant Physiology*. 61. 791-795.
- CORCUERA, L. J. – ARGANDONA, V. H. – NIEMEYER, H. M.: *Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids*, Kehl, H(ed.) S. Karger Verlag, Basel 1982. 111-118.
- CORCUERA, L. J. – QUEIROLO, C. B. – ARGANDONA, V. H.: 1985 Effects of 2- β -D-glucosyl-4-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one on *Schizaphis graminum* (Rondani) (Insecta, Aphididae) feeding on artificial diets. *Experientia*. 41. 514-516.

- CSEH, E. – BUJTÁS, K. – BÚZÁS, I. – SZEKENI, SZ.-NÉ – MEISEL, T.-NÉ – MÁDY, GY. – LAKATOS, B.: 1982 A vasfelvétel hatékonyságának vizsgálata. *Agrokémia és Talajtan*. 31. 311-327.
- DABED, R. G. – TORAL, M. I. - CORCUERA, L. J. - NIEMEYER, H. M.: 1983 Complexes of bivalent cations with a hydroxamic acid from maize extracts. *Polyhedron*. 2. 106-107.
- ELNAGHY, M. A. – LINKO, P.: 1962 The role of 4-O-glucosyl-2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one in resistance of wheat to stem rust. *Physiologia Plantarum*. 15. 764-770.
- ELNAGHY, M. A. – SHAW, M.: 1966 Correlation between resistance to stem rust and the concentration of a glucoside in wheat. *Nature*. 210. 417-418.
- ERENOGLU, B. – EKER, S. – CAKMAK, I. – DERICI, R. – RÖMHELD, V.: 1997 Effect of iron and zinc deficiency on release of phytosiderophores in barley cultivars differing in zinc efficiency. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts. 86.
- FARKAS, E. – KOZMA, E. – PETHŐ, M. – HERLIHY, K. M. – MICERA, G.: 1998 Equilibrium studies on copper (II)- and iron (III)-monohydroxamates. *Polyhedron*. 17. 3331-3342.
- FIELDER, D. A. – COLLINS, F. W. – BLACKWELL, B. A. – BENSIMON, C. – APSIMON, J. W.: 1994 Isolation and characterisation of 4-acetyl-benzoxazolin-2-one (4-ABOA), a new benzoxazolinone from *Zea mays*. *Tetrahedron Letters*. 35. 521-524.
- FREY, M. – KLIEM, R. – SAEDLER, H. – GRIES, A.: 1995 Expression of cytochrome P450 gene family in maize. *Molecular Generative Genetics*. 246. 100-109.
- FREY, M. – CHOMET, P. – GLAWISCHNIG, E. – STETTNER, C. – GRÜN, S. – WINKLMAIR, A. – EISENREICH, W. – BACHER, A. – MEELEY, L. B. – BRIGGS, S. P. – SIMCOX, K. – GIERL, A.: 1997 Analysis of chemical plant defence mechanism in grasses. *Science*. 277. 698-701.
- FRIEBE, A. – SCHULZ, M. – KÜCK, P. – SCHNABL, H.: 1995 Phytotoxins from shoot extracts and root exudates of *Agropyron repens* seedlings. *Phytochemistry*. 38. 1157-1159.
- FUSHIYA, S. – SATO, Y. – NOZONE, S.: 1980 Avenic acid, a new amino acid possessing an iron chelating activity. *Tetrahedron Letters*. 21. 3071-3072.

- GAHAGAN, H. E. – MUMMA, R. O.: 1967 The isolation of 2-(2-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3one) β -D-glucopyranoside from *Zea mays*. *Phytochemistry*. 6. 1441-1448.
- GIGOVICH, A. – SANDSTRÖM, J. – NIEMEYER, H. M. – PETTERSON, J.: 1994 Presence of a hydroxamic acid glucoside in wheat phloem sap, and its consequences for performance of *Rhopalosiphum padi* (L.). *Journal of Chemical Ecology*. 20.1923-1930.
- GLAWISCHNIG, E. – GRUN, S. – FREY, M. – GRIEL, A.: 1999 Cytochrom P450 monooxygenases of DIMBOA biosynthesis: Specificity and conservation among grasses. *Phytochemistry*. 50. 925-930.
- GONZÁLEZ, L. F. – ROJAS, M. C.: 1999 Role of wall peroxidases in oat growth inhibition by DIMBOA. *Phytochemistry*. 50. 931-937.
- GRIES, D. – KLATT, S. – RUNGE, M.: 1997 Cu-deficiency induced phytosiderophore release in the calcicole native grass *Hordelymus europaeus*. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts. 83.
- GUTIERREZ, C. – GUERRO, A. – CASATANERA, P. – TORRES, J. V.: 1982 A high-performance liquid chromatographic method for quantitation of DIMBOA and MBOA in maize plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 30. 1258-1260.
- HAMILTON, R. H. – MORELAND, D. E.: 1962 Simazine: degradation by corn seedlings. *Science*. 373-374.
- HAMILTON, R. H.: 1964 Tolerance of several grass species to 2-chloro-s-triazine herbicides in relation to degradation and content of benzoxazinone derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 12. 14-17.
- HARTENSTEIN, H. – LIPMANN, T. – SICKER, D.: 1992 An efficient procedure for the isolation of pure 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one (DIMBOA) from maize. *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2. 75-76.
- HARTENSTEIN, H. – KLEIN, J. – SICKER, D.: 1993 Efficient isolation procedure for (2R)- β -D-glucopyranosyloxy-4-hydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one from maize. *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2. 151-153.
- HARTENSTEIN, H. – SICKER, D.: 1994 α -hydroxylation of cyclic hydroxamic acids by peroxide oxidation: a novel approach to allelochemicals from *Gramineae*. *Tetrahedron Letters*. 35. 4335-4338.

- HASHIMOTO, Y. – OHTA, T. – SHUDO, K. – OKAMOTA, T.: 1979 a. Reactions of 4-acetoxy-2H-1,4-benzoxazin-3-ones with some nucleophiles. *Tetrahedron Letters*. 18. 1611-1614.
- HASHIMOTO, Y. – SHUDO, K. – OKAMOTO, T.: 1979 b. Mutagenicities of 4-hydroxy-1,4-benzoxazinones naturally occurring in maize plants and of related compounds. *Mutation Research*. 66. 191-194.
- HASHIMOTO, Y. – ISHIZAKI, T. – SHUDO, K.: 1991 A multi-centered electrophile formed from a unique bioactive cyclic hydroxamic acid, 4-hydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-on. *Tetrahedron*. 47. 1837-1860.
- HASHIMOTO, Y. – SHUDO, K.: 1996 Chemistry of biologically active benzoxazinoids. *Phytochemistry*. 43. 551-559.
- HEDIN, P. A. – DAVIS, F. M. – WILLIAMS, W. P.: 1993 2-hydroxy-4,7-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one (N-O-Me-DIMBOA), a possible toxic factor in corn to the south-western corn borer. *Journal of Chemical Ecology*. 19. 531-542.
- HIETALA, P. K. – VIRTANEN, A. I.: 1960 Precursors of benzoxazolinone in rye plants. II. Precursor I. the glucoside. *Acta Chemica Scandinavica*. 14. 502-504.
- HIRIART, M. V. – CORCUERA, L. J. – ANDRADE, C. – CRIVELLI, I.: 1985 Copper (II) complexes of a hydroxamic acid from maize. *Phytochemistry*. 24. 1919-1922.
- HOFMAN, J. – HOFMANOVÁ, O.: 1969 a. 1,4-benzoxazine derivatives in plants. Sephadex fractionation and identification of a new glucoside. *European Journal of Biochemistry*. 8. 109-112.
- HOFMAN, J. – HOFMANOVÁ, O.: 1969 b. 1,4-benzoxazine derivatives in plants. A new glucosidic derivative from *Zea mays*. *Tetrahedron Letters*. 57. 5001-5002
- HOFMAN, J. – HOFMANOVÁ, O.: 1970 1,4-benzoxazine derivatives in plants. A new type of glucoside from *Zea mays*. *Tetrahedron Letters*. 37. 3213-3214.
- HOFMAN, J. – HOFMANOVÁ, O.: 1971 1,4-benzoxazine derivatives in plants: absence of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one from uninjured *Zea mays* plants. *Phytochemistry*. 10. 1441-1444.
- HOFMAN, J. – MASODJIKOVÁ: 1973 1,4-benzoxazine glucosides from *Zea mays*. *Phytochemistry*. 12. 207-208.
- HONKANEN, E. – VIRTANEN, A. I.: 1960 The synthesis of precursor II of benzoxazolinone formed in rye plants, and the enzymic hydrolysis of precursor I, the glucoside. *Acta Chemica Scandinavica*. 14. 504-507.

- HOPKINS, B. G. – JOLLEY, V. D. – BROWN, J. C.: 1992 Plant utilization of iron solubilized by oat phytosiderophore. *Journal of Plant Nutrition*. 15. 1599-1612.
- HOPKINS, B. G. – WHITNEY, D. A. – LAMOND, R. E. – JOLLEY, V. D.: 1997 Phytosiderophore release by sorghum, wheat and corn in response to zinc deficiency. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts. 85.
- HÖRDT, W. – RÖMHELD, V.: 1997 Microbial siderophores in field soils: possible contribution to Fe-nutrition of crop plants and seasonal variation of hydroxamate concentration. Stuttgart. International symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts. 23.
- HUANG, X. – CHAN, C-C.: 1984 Synthesis of 3-oxo-3,4-dihydro-2H-1,4-benzoxazines and 1,4-benzothiazines under phase-transfer catalysis. *Synthesis*. 851-852.
- IOANNOU, Y. M. – DAUTERMAN, W. C. – TUCKER, W. P.: 1980 Degradation of diazinon by 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one in maize. *Phytochemistry*. 19. 1607-1611.
- ISHIZAKI, T. – HASHIMOTO, Y. – SHUDO, K. – OKAMOTO, T.: 1983 Reaction of 4-acetoxy-1,4-benzoxazin-3-one with amino acid derivatives. *Heterocycles*. 20. 1481-1485.
- JERNOW, J. L. – ROSEN, R.: 1975 US Patent 3, 862,180
- KLUN, J. A. - TIPTON, C. L. – ROBINSON, J. F. – OSTREM, D. L. – BEROZA, M.: 1970 Isolation and identification of 6,7-dimethoxy-2-benzoxazolinone from dried tissues of *Zea mays* (L.) and evidence of its cyclic hydroxamic acid precursor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18. 663-665.
- KUMAR, P. – MORELAND, D. E. – CHILTON, W. S.: 1994 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an intermediate in the biosynthesis of cyclic hydroxamic acids in maize. *Phytochemistry*. 36. 893-898.
- KUMAR, P. – CHILTON, W. S.: 1994 Incorporation of anthranilate-d₄ into DIMBOA in maize. *Tetrahedron Letters*. 35. 3247-3250.
- LAL, J. B.: 1936 Constituents of the seeds of *Blepharis edulis* Pers. *Journal of Indian Chemical Society*. 13. 109-111.
- LARSEN, E. – CHRISTENSEN, L. P.: 2000 Simple method for large scale isolation of the cyclic arylhydroxamic acid DIMBOA from maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48. 2556-2558.

- LEIGHTON, V. – NIEMEYER, H. M. – JONSSON, L. M. V.: 1994 Substrate specificity of a glucosyltransferase and an N-hydroxylase involved in the biosynthesis of cyclic hydroxamic acids in *Gramineae*. *Phytochemistry*. 36. 887-892.
- LESZCZYNSKI, B. – DIXON, A. F. G.: 1990 Resistance of cereals to aphids: interaction between hydroxamic acids and the aphid *Sitobion avenae* (*Homoptera: Aphididae*). *Annals of Applied Biology*. 117. 21-30.
- LE-VAN, N. – WRATTEN, S. J.: 1984 Compound 30,4, an unusual chlorinated 1,4-benzoxazin-3-one derivative from corn (*Zea mays*). *Tetrahedron Letters*. 25. 145-148.
- LÉVAI, L.: 1998. A vas növényélettani szerepe és a fűfélék vasfelvétele. PhD értekezés. DATE
- LOCH, J. - NOSTICZIUS, Á.: 1992. Agrokémia és növényvédelmi kémia. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 64; 114.
- LONG, B. J. – DUNN, G. M. – ROUTLEY, D. G.: 1974 Rapid procedure for estimating cyclic hydroxamate (DIMBOA) concentration in maize. *Crop Science* 14, 601-603.
- LONG, B. J. – DUNN, G. M. – ROUTLEY, D. G.: 1975 Relationship of hydroxamic acid content in maize and resistance to northern corn leaf blight (*Helminthosporium turcicum*) *Crop Science*. 15. 333-335.
- LONG, B. J. – DUNN, G. M. – OWMAN, J. J. – ROUTLEY, D. G.: 1977 Relationship of hydroxamic acid content in corn and resistance to the corn leaf aphid. *Crop Science*. 17. 55-59.
- LONG, B. J. – DUNN, G. M. – ROUTLEY, D. G.: 1978 Relationship of hydroxamate concentration in maize and field reaction to *Helminthosporium turcicum*. *Crop Science*. 18. 573-575.
- LOOMIS, R. S. – BECK, S. D. – STAUFFER, J. F.: 1957 The European corn borer *Pyrausta nubilalis* (Hubn.) and its principal host plant. A chemical study of host plant resistance. *Plant Physiology*. 32. 379-385.
- LYONS, P. C. – HIPSARKIND, J. D. – WOOD, K. V. – NICHOLSON, R. L.: 1988 Separation and quantification of cyclic hydroxamic acids and related compounds by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 36. 57-60.

- LYTLE, C. M. – JOLLEY, V. D.: 1991 Iron deficiency stress response of various C-3 and C-4 crop genotypes: Strategy II mechanism evaluated. *Journal of Plant Nutrition*. 14. 341-362.
- MARSCHNER, H. – RÖMHELD, V. – KISSEL, M.: 1986 Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *Journal of Plant Nutrition*. 9. 695-713.
- MARSCHNER, H.: 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, Cambridge. p.: 346-347.
- MASSARDO, F. – ZUNIGA, G. E. – PÉREZ, L. M. – CORCUERA, L. J.: 1994 Effects of hydroxamic acids on electron transport and their cellular location in corn. *Phytochemistry*. 35. 873-876.
- MELANSON, D. – CHILTON, M.-D. – MASTERS-MOORE, M. D. – CHILTON, W. S.: 1997 Deletion in an indole synthase gene is responsible for the DIMBOA-deficient phenotype of *bxbx* maize. *Proceedings of the National Academic Sciences USA*. 94. 13345-13350.
- MINO, Y. – ISHIDA, T. – OTA, N. – INOUE, M. – NOMOTO, K. – TAKEMOTO, T. – TANAKA, H. – SUGIURA, Y.: 1983 Mugineic acid-iron (III) complex and its structurally analogous cobalt (III) complex: Characterization and implication for absorption and transport of iron in graminaceous plants. *Journal of the American Chemical Society*. 105. 4671-4676.
- MIZUKAMI, S. – NAGATA, K.: 1968 Metal complexes of hydroxamic acid analogs. *Coordination Chemistry Reviews*. 3. 267-278.
- NAGAO, T. – OTSUKA, H. – KOHDA, H. – SATO, T. – YAMASAKI, K.: 1985 Benzoxazinones from *Coix lacrima-jobi* var. Ma-Yuen. *Phytochemistry*. 24. 2959-2962.
- NAIR, M. G. – WHITENACK, C. J. – PUTNAM, A. R.: 1990 2,2'-oxo-1,1'-azobenzene. A microbially transformed allelochemical from 2,3-benzoxazolinone: I. *Journal of Chemical Ecology*. 16. 353-364.
- NAKAGAWA, E. – AMANO, T. – HIRAI, N. – IWAMURA, H.: 1995 Non-induced cyclic hydroxamic acids in wheat during juvenile stage of growth. *Phytochemistry*. 38. 1349-1354.
- NAKANO, N. I. – SMISSMAN, E. E. – SCHOWEN, R. L.: 1973 Nucleophilic and bifunctional catalysis. Mechanism, reactivity and transition-state structure in the hydrolysis of 2-chloro-4-isopropylamino-6-cyclopropylamino-s-triazine by N-

- hydroxysuccinimide and 1-hydroxy-2-piperidone. *Journal of Organic Chemistry*. 38., 4396-4404.
- NEILANDS, B. J.: 1967 Hydroxamic acids in Nature. *Science* 156, 1443-1447.
- NEILANDS, B. J.: 1981 Microbial iron compounds. *Annual Review of Biochemistry*. 50, 715-731.
- NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J. – PÉREZ, F. J.: 1982 Reaction of cyclic hydroxamic acid from *Gramineae* with thiols. *Phytochemistry*. 21. 2287-2289.
- NIEMEYER, H. M.: 1988 Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in *Gramineae*. *Phytochemistry*. 27. 3349-3358.
- NOMOTO, K. – YOSHIOKA, H. – ARIMA, M. – FUSHYA, S. – TAKAGI, S. – TAKEMOTO, T.: 1981 Structure of 2'-deoxymugineic acid, a novel amino acid possessing an iron-chelating activity. *Chimia*. 35., 249-250.
- ÖZDEN, S. - ÖZDEN, T. – ATILA, I. – KÜCÜKISLAMOĞLU, M. – OKATAN, A.: 1992 Isolation and identification via high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography of benzoxazolinone precursors from *Consolida orientalis* flowers. *Journal of Chromatography*. 609. 402-406.
- PATENT, HOFFMANN LA ROCHE US 3862180, 1975, Chem. Abstr.: 82, 170980.
- PEREZ, F. J.- NIEMEYER, H. M.: 1985 The reduction of DIMBOA by thiols. *Phytochemistry*. 24. 2963-2966.
- PEREZ, F. J. – ORMENO-NUNEZ, J.: 1991 Difference in hydroxamic acid content in roots and root exudates of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.): possible role in allelopathy. *Journal of Chemical Ecology*. 17. 1037-1043.
- PEREZ, F. J. – ORMENO-NUNEZ, J.: 1993 Weed growth interference from temperate cereals: The effect of a hydroxamic-acid-exuding rye (*Secale cereale* L.) cultivar. *Weed Research*. 33. 115-119.
- PESSI, A. – SCALORBI, D.: 1979 High-performance liquid chromatography of naturally occurring benzoxazolinones. *Journal of Chromatography*. 177. 162-165.
- PETHŐ, M. –DINYA, Z.: 1992 a. Occurrence and physiological role of benzoxazinones and their derivatives. I. Cytokinin activity of 6-methoxy-benzoxazolinone. *Acta Agronomica Hungarica*. 41. 39-48.
- PETHŐ, M.: 1992 b. Occurrence and physiological role of benzoxazinones and their derivatives. III. Possible role of 7-methoxy-benzoxazinone in the iron uptake of maize. *Acta Agronomica Hungarica*. 41. 57-64.

- PETHŐ, M.: 1992 c. Occurrence and physiological role of benzoxazinones and their derivatives. IV. Isolation of hydroxamic acids from wheat and rye root secretions. *Acta Agronomica Hungarica*. 41. 167-175.
- PETHŐ, M.: 1992 d. A ciklikus hidroxámsavak lehetséges szerepe a kukorica vasfelvételében. *Botanikai Közlemények*. 79. 75-80.
- PETHŐ, M.: 1993 A ciklikus hidroxámsavak előfordulása kakaslábfüfű fajokban. *Botanikai Közlemények*. 80. 191-197.
- PETHŐ, M.: 1993 a. Occurrence of cyclic hydroxamic acids in the tissues of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* L./P.B.) and their possible role in allelopathy. *Acta Agronomica Hungarica*. 42. 197-202.
- PETHŐ, M.: 1993 b. Possible role of cyclic hydroxamic acids in the iron uptake of grasses. *Acta Agronomica Hungarica*. 42. 203-214.
- PETHŐ, M.: 1994 A ciklikus hidroxámsavak szerepe a fűvek vasfelvételében. *Növénytermelés*. 43. 49-60.
- PETHŐ, M. – KOVÁCS, B.: 1996 A ciklikus hidroxámsavak szerepe a mikroelemek felvételében. *Botanikai Közlemények*. 83. 149-153.
- PETHŐ, M. – LÉVAI, L. – RÖMHELD, V.: 1997 A ciklikus hidroxámsavak lehetséges szerepe a kukorica vasfelvételében. *Növénytermelés*. 46. 139-144.
- PETHŐ, M.: 2000 A ciklikus hidroxámsavak lehetséges szerepe a pázsitfűvek alternatív vasfelvételi mechanizmusában. *Növénytermelés*. 49. 227-232.
- POWELL, P.E. – CLINE, G. R. – REID, C. P. P. – SZANISZLÓ, P.J.: 1980 Occurrence of hydroxamate siderophore iron chelators in soils. *Nature*. 287. 833-834.
- PRATT, K. – KUMAR, P. – CHILTON, W. S.: 1995 Cyclic hydroxamic acids in dicotyledonous plants. *Biochemical Systematics and Ecology*. 23. 781-785.
- QUEIROLO, C. B. – ANDREO, C. S. – VALLEJOS, R. H. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1981 Effects of hydroxamic acids isolated from *Gramineae* on adenosine 5'-triphosphate synthesis in chloroplasts. *Plant Physiology*. 68. 941-943.
- REID, L. M. – ARNASON, J. T. – NOZZOLILLO, C. – HAMILTON, R. I.: 1991 Laboratory and field resistance to European corn borer in maize germplasm. *Crop Science*. 31. 1496-1502.
- REIMANN, J. E. – BYERRUM, R. U.: 1964 Studies on the biosynthesis of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3-one. *Biochemistry*. 3. 847-851.

- ROJAS, C. M. – PÉREZ, F. – GONZÁLEZ, L.: 1997 Stimulatory effect of DIMBOA on NADH oxidation catalysed by horseradish peroxidase. *Phytochemistry*. 46. 11-15.
- ROTH, W. – KNÜSLI, E.: 1961 Beitrag zur Kenntnis der Resistenzphänomene einzelner Pflanzen gegenüber dem Phytotoxisenwirkstoff Simazin. *Experientia*. 17. 312-313.
- RÖMHELD, V. – MARSCHNER, H.: 1986 Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant Physiology*. 80. 175-180.
- RÖMHELD, V.: 1987 Different strategies for iron acquisition in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 70. 231-234.
- RÖMHELD, V.: 1991 The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: An ecological approach. *Plant and Soil*. 130. 127-134.
- SAHI, S. V. – ANDERSON, C. E. – CHILTON, W. S.: 1995 The corn wound metabolite DIMBOA causes cell death in tobacco and corn. *Plant Science*. 108. 31-40.
- SANDERS, E. H. – GARDNER, P. D. – BERGER, P. J. – NEGUS, N. C.: 1981 6-methoxybenzoxazolinone: a plant derivative that stimulates reproduction in *Microtus montanus*. *Science*. 214. 67-69.
- SCISM, A. J. – BEMILLER, J. N. – CASKEY, A. L.: 1974 Determination of 2,4-dihydroxy-1,4(2H)-benzoxazin-3-one glucosides in corn (*Zea mays* L.). *Analytical Biochemistry*. 58. 1-13.
- SENIOR, A. T. – GLENNON, J. D.: 1987 Use of acetohydroxamic acid in the direct spectrophotometric determination of iron (III) and iron (II) by flow injection analysis. *Analitica Chimica Acta*. 196. 333-336.
- SICKER, D. – PRATORIUS, B. – MANN, G. – MEYER, L.: 1989 A convenient synthesis of 2,4-dihydroxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one. *Synthesis*. 211-212.
- SIMCOX, K. D. – WEBER, D. F.: 1985 Location of the benzoxazineless (*bx*) locus in maize by monosomic and B-A translocational analyses. *Crop Science*. 25. 827-830.
- SMISSMAN, E. E. – CORBETT, M. D. – JENNY, N. A. – KRISTIANSEN, O.: 1972 Mechanism of the transformation of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones and 2-hydroxy-2-methyl-1,4-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one to 2-benzoxazolinone. *Journal of Organic Chemistry*. 37. 1700-1703.

- SUE, M. – ISHIHARA, A. – IWAMURA, H.: 2000 Purification and characterisation of β -glucosidase from rye (*Secale cereale* L.) seedlings. *Plant Science*. 155. 67-74.
- SUGIURA, Y. – TANAKA, H.: 1981 Structure, properties and transport mechanism of iron (III) complex of mugineic acid, a possible phytosiderophore. *Journal of American Chemical Society*. 103. 6979-6982.
- SUGIURA, Y. – NOMOTO, K.: 1984 Phytosiderophores. Structure and properties of mugineic acids and their metal complexes. *Structure and Bonding*. 58. 107-135.
- TAKAGI, S.: 1976 Naturally occurring iron-chelating compounds in oat and rice root washings. I. Activity measurement and preliminary characterization. *Soil Science Plant Nutrition* 22, 423-433.
- TAKAGI, S. – NOMOTO, K. – TAKEMOTO, T.: 1984 Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *Journal of Plant Nutrition*. 7. 469-477.
- TANG, C.-S. – CHANG, S. H. – HOO, D. – YANAGIHARA, K. H.: 1975 Gas chromatographic determination of 2(3)-benzoxazolinones from cereal plants. *Phytochemistry*. 14. 2077-2079.
- TAYS, K. - ATKINSON, J.: 1998 An improved synthesis of cyclic hydroxamic acids from *Gramineae*. *Synthetic Communications*. 28 (5). 903-912.
- TIPTON, C. L. – KLUN, J. A. – HUSTED, R. R. – PIERSON, M. D.: 1967 Cyclic hydroxamic acids and related compounds from maize. Isolation and characterization. *Biochemistry*. 6. 2866-2870.
- TIPTON, C. L. – BUELL, E. L.: 1970 Ferric iron complexes of hydroxamic acids from maize. *Phytochemistry*. 9. 1215-1217.
- TIPTON, C. L. – HUSTED, R. R. – TSAO, F. H.-C.: 1971 Catalysis of simazine hydrolysis by 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 19. 484-486.
- TIPTON, C. L. – WANG, M.-C. – TSAO, F. H.-C. – LIN TU, C. – HUSTED, R. R.: 1973 Biosynthesis of 1,4-benzoxazin-3-ones in *Zea mays*. *Phytochemistry*. 12. 342-352.
- TOLDINÉ TÓTH, É.: 1984 A DIMBOA-tartalom és a *Helminthosporium turcicum* rezisztencia összefüggése kukoricában. *Növénytermelés*. 33. 213-217.
- TREEBY, M. – MARSCHNER, H. – RÖMHELD, V.: 1989 Mobilization of iron and other micronutrient cations from a calcereous soil by plant borne, microbial and synthetic chelators. *Plant and Soil*. 114. 217-226.

- TSENG, C. T. – GUTHRIE, W. D. – RUSSEL, W. A. – ROBBINS, J. C. – COATS, J. R. – TOLLEFSON, J. J.: 1984 Evaluation of two procedures to select for resistance to the European corn borer in a synthetic cultivar of maize. *Crop Science*. 24. 1129-1133.
- VENIS, M. A. – WATSON, P.J.: 1978 Naturally occurring modifiers of auxin-receptor interaction in corn: identification of benzoxazolinones. *Planta*. 142. 103-107.
- VIRTANEN, A. I. – HIETALA, P. K.: 1955 2(3)-benzoxazolinone, an antifusarium factor in rye seedlings. *Acta Chemica Scandinavica*. 9. 1543-1544.
- VIRTANEN, A. I. – HIETALA, P. K. – WAHLROOS, O.: 1956 An antifungal factor in maize and wheat plants. *Suomen Kemistilehti*. B29. 143.
- VIRTANEN, A. I. – HIETALA, P. K.: 1960 Precursors of benzoxazolinone in rye plants. I. Precursor II, the aglucone. *Acta Chemica Scandinavica*. 14. 499-502.
- WAHLROOS, Ö. – VIRTANEN, A. I.: 1958 On the antifungal effect of benzoxazolinone and 6-methoxybenzoxazolinone, respectively, on *Fusarium nivale*. *Acta Chemica Scandinavica*. 12. 124-128.
- WAHLROOS, Ö. - VIRTANEN, A. I.: 1959 The precursors of 6-methoxybenzoxazolinone in maize and wheat plants, their isolation and some of their properties. *Acta Chemica Scandinavica*. 13. 1906-1908.
- WATTEAU, F. –BERTELIN, J.: 1994 Microbial dissolution of iron and aluminium from soil minerals: efficiency and specificity of hydroxamate siderophores compared to aliphatic acids. *European Journal of Soil Biology*. 30. 1-9.
- WHITNEY, N. J – MORTIMORE, C. G.: 1961 Effect of 6-methoxybenzoxazolinone on the growth of *Xanthomonas stewartii* Erw. (Smith) Dowson and its presence in sweet corn *Zea mays* var. *saccharata* Bailey). *Nature*. 189. 596-597-598.
- WOLF, R. B. – SPENCER, F. G. – PLATTNER, R. D.: 1985 Benzoxazolinone, 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one, and its glucoside from *Acanthus mollis* seeds inhibit velvetleaf germination and growth. *Journal of Natural Products*. 48. 59-63.
- WOODWARD, M. D. – CORCUERA, L. J. – HELGESON, J. P. – UPPER, C. D.: 1978 Decomposition of 2,4-dihydroxy-7-methoxy 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one in aqueous solutions. *Plant Physiology*. 61. 796-802.
- WOODWARD, M. D. – CORCUERA, L. J. – SCHNOES, H. K. – HELGESON, J. P. - UPPER, C. D.: 1979 a. Identification of 1,4-benzoxazin-3-ones by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *Plant Physiology*. 63. 9-13.

- WOODWARD, M. D. – CORCUERA, L. J. – HELGESON, J. P. – KELMAN, A. – UPPER, C. D.: 1979 b. Quantitation of 1,4-benzoxazin-3-ones in maize by gas-liquid chromatography. *Plant Physiology*. 63. 14-19.
- XIE, Y. S. – ARNASON, J. T. – PHILOGÉNE, B. J. R. – LAMBERT, J. D. H. – ATKINSON, J.: 1990 Role of DIMBOA in the resistance of maize to western corn rootworm, *Diabrotica virgifera* (LeConte). *Canadian Journal of Entomology*. 122. 1177-1186.
- XIE, Y. S. – ARNASON, J. T. – PHILOGÉNE, B. J. R. – ATKINSON, J. – MORAND, P.: 1991 a. Distribution and variation of hydroxamic acids and related compounds in maize (*Zea mays*) root system. *Canadian Journal of Botany*. 69. 677-681.
- XIE, Y. S. – ATKINSON, J. – ARNASON, J. T. – MORAND, P. – PHILOGÉNE, B. J. R.: 1991 b. Separation and quantification of 1,4-benzoxazin-3-ones and benzoxazolin-2-ones in maize root extract by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 543. 389-395.
- YEHUDA, Z. – CHEN, Y. – MARINO, P. G. – RÖMHELD, V.: 1997 Different diurnal pattern of phytosiderophore release in C-3 and C-4 grasses. Stuttgart. International Symposium on iron nutrition and interactions in plants. Symposium Abstracts. 132.
- ZHANG, F. S. – RÖMHELD, V. – MARSCHNER, H.: 1989 Effect of zinc deficiency in wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. *Soil Science Plant Nutrition*. 152. 205-210.
- ZHANG, F. S. – RÖMHELD, V. – MARSCHNER, H.: 1991 a. Diurnal rhythm of release of phytosiderophores and uptake rate of zinc in iron-deficient wheat. *Soil Science Plant Nutrition*. 37. 671-678.
- ZHANG, F. S. – RÖMHELD, V. – MARSCHNER, H.: 1991 b. Release of zinc mobilizing root exudates in different plant species as effected by zinc nutritional status. *Journal of Plant Nutrition*. 14. 675-686.
- ZHANG, X. – HAHIB, F. K. – ROSS, M. – BURGER, U. – LEWENSTEIN, A. – ROSE, K. – JATON, J-C.: 1995 Isolation and characterisation of a cyclic hydroxamic acid from a pollen extract, which inhibits cancerous cell growth in vitro. *Journal of Medical Chemistry*. 38. 735-738.
- ZUNIGA, G. E. – ARGANDONA, V. H. – NIEMEYER, H. M. – CORCUERA, L. J.: 1983 Hydroxamic acid content in wild and cultivated *Gramineae*. *Phytochemistry*. 22. 2665-2668.

- ZUNIGA, G. E. – COPAJA, S. – BRAVO, H. R. – ARGANDONA, V. H.: 1990
Hydroxamic acids accumulation by wheat callus. *Phytochemistry*. 29. 2139-2141.
- ZUNIGA, G. E. – MASSARDO, F.: 1991 Hydroxamic acid content in undifferentiated
and differentiated tissues of wheat. *Phytochemistry*. 30. 3281-3283.