

ADATOK A KUKORICA FUZÁRIUM-REZISZTENCIA BIOKÉMIÁJÁHOZ*

A 6-METHOXYBENZOXAZOLINON SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A KUKORICA
FUZÁRIUM-REZISZTENCIÁJÁNAK KIALAKÍTÁSÁBAN ÜVEGHÁZI
ÉS SZABADFÖLDI NÖVÉNYEKNÉL

KIZMUS LAJOS

MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár

A fuzárium-rezisztenciával foglalkozó kutatások fő törekvése az volt, hogy izolálni tudjanak valamilyen anyagot illetve anyagokat, amely, illetve amelyek gátolják a betegséget okozó gombák növekedését, melyet célszerűen táptalajon tanulmányoztak.

SCHWARZE (1958) összefoglaló munkájában megállapítja, hogy igen nagy azoknak az antibiotikusan ható preparátumoknak a száma, amelyeket növényi anyagokból izoláltak, de viszonylag kevés esetben sikerült tisztázni, hogy e preparátumok mely anyagai felelősek az antibiotikus aktivitásért. Régóta ismeretes, hogy ilyen anyagként fenolok és kinonok jöhetnek számításba, de újabban egyéb anyagcsoportok szerepe is előtérbe került. JOHANN és DICKSON (1954) felhívja a figyelmet egy kukoricából izolálható éteroldható anyagra, mely táptalajon gátolja a *Diplodia zeae* növekedését. A későbbi kutatások aztán kiderítették, hogy ugyanez az éteroldható anyag más mikroorganizmusok növekedésére is gátlólag hat.

Ennek felismerésében úttörő munkát végeztek finn kutatók. 1955-ben a Nobel-díjas VIRTANEN és HIETALA (1955, 1955a) beszámolnak egy anyagról, melyet rozs csíranövényből tudtak izolálni éteres extraktcióval, és amely gátolta több gomba- és baktériumfaj mellett a *Fusarium nivale* növekedését is táptalajon. Ez az anyag a szerveskémiai analízis szerint 2(3)—benzoxazolinon. Feltételezték, hogy ennek az anyagnak a mennyisége határozná meg az egyes rozsfajták fuzáriummal szembeni ellenállóságának mértékét. Ezt az 1955-ben tett megállapítását a későbbiek során nem erősítette meg.

A rozsban talált anti-fuzárium anyag felfedezését követte több más növény vizsgálata ugyan ilyen szempontok szerint. VIRTANEN, HIETALA és WAHLROOS (1956) közli, hogy kukoricában és búzában is sikerült kimutatniuk egy anti-fungál faktort, amely a rozsból izolált BOA-hoz hasonlóan gátolta a *Fusarium nivale*, a *Diplodia zeae* és néhány más mikroorganizmus növekedését táptalajon. A részletes kémiai analízis kimutatta, hogy csupán egy methoxy csoporttal tartalmaz többet ez a kukoricából és búzából izolált vegyület.

* Az előadás elhangzott a Növénynemesítési Tanácskozáson 1968. április 19-én.

Ez a methoxy csoport pedig az oxazolinon struktúra benzolgyűrűjének 6-os szénatomjához kapcsolódik. Az anyag a 6-methoxybenzoxazolinon. Szintézisének megoldása a struktúra döntő bizonyítéka [HIETALA és WAHLROOS (1956)].

A fuzáriumfertőzés tanulmányozásával egy időben amerikai kutatók foglalkoztak az európai kukoricamoly (*Phyrausta nubilalis* Hubn.) ellenanyagának kutatásával. LOOMIS, BECK és STAUFFER (1957) cikke számol be arról, hogy találtak egy éteroldható anyagot, amely táptalajon gátolta a kukoricamoly lárvák növekedését. Erről az anyagról kiderült, hogy nemcsak a kukoricamoly növekedését gátolja, hanem a *Penicillium chrysogenum*-ét is. A kémiai analízis megállapította, hogy ez az anyag azonos a finn kutatók által izolált 6-methoxybenzoxazolinonnal, melynek szintézisét SMISSMAN (1957) és kutatócsoportja is megoldotta.

A 6-methoxybenzoxazolinon további jelentőségére utal RUPERT és GROGAN (1957) megállapítása, mely szerint a methoxybenzoxazolinon prekursora, egy glukozid-típusú vegyület fontos szerepet játszik a simazin- és atrazin tűrésben.

Összevetve ezt az előző kísérletek tapasztalataival, megállapíthatjuk, hogy e vegyületnek különösen érdekes szerepe lehet a növény ellenállóképességének kialakításában.

HIETALA és VIRTANEN (1958) beszámolnak a 2(3)—benzoxazolinonnak, a rozs antifungál faktorának kvantitatív meghatározásáról, mely lényegében három lépésből áll: 1. az anyag extrahálása éteres kirázással, 2. tisztítása cellulózpor oszlop kromatográfiás eljárással, 3. a tisztított preparátum benzoxazolinon-tartalmának spektrofotometriás meghatározása a benzoxazolinon 275 m μ -nál mutatott abszorpciós maximumának mérése alapján. Ez a metódika elvileg alkalmazható a 6-methoxybenzoxazolinon mérésére is.

A további vizsgálatok során WAHLROOS és VIRTANEN (1958) a benzoxazolinon és 6-methoxybenzoxazolinon antifungál hatását tanulmányozta. E kísérletek során arra a megállapításra jutottak, hogy a *Fusarium nivale* képes bizonyos mennyiségű benzoxazolinont, ill. 6-methoxybenzoxazolinont elbontani, miután a *Fusarium nivale* megfelelő bontó enzimejei aktiválódtak.

A finn kutatók további vizsgálatai arra irányultak, hogy megtalálják a benzoxazolinon prekursorait. Ezen fáradozásuk sikeréről VIRTANEN és HIETALA (1959) számolnak be. Megállapították, hogy a benzoxazolinon prekursorának egy glukozid típusú vegyületet lehet tekinteni, melynek enzimés lebomlása során egyrészt jól kimutatható glukoz, másrészt egy aglukon termék keletkezik, melyből melegítés hatására hangyasav keletkezése közben kialakul a benzoxazolinon. Az enzimatis folyamat létét igazolja az a tény is, hogy ha a növényeket közvetlenül a levágás után forró vízbe helyezték, mely az enzimeket elpusztította, a prekuzort sikerült izolálni. Hogy milyen enzim végzi ezt a lebontást, arról még nincs tudomásunk.

A kísérletek során az is kiderült, hogy a legerősebb antifungál hatása a 6-methoxybenzoxazolinonnak, ill. benzoxazolinonnak van, ezt erősen megközelíti az aglukon, míg a glukozid hatása igen alacsony értéket ad. WHITNEY és MORTIMORE (1959) *Virtanen*-módszerével izolál amerikai kukoricafajtákból methoxybenzoxazolinont. Megállapították, hogy fiatal növények szárában különösen nagy mennyiségben található, feltehetőleg ez az oka annak, hogy fiatal növények szárába nehezen hatol be a *Fusarium nivale*. Ugyancsak WHITNEY és MORTIMORE (1962) voltak azok, akik arra a következtetésre jutottak, hogy rezisztens és fogékony törzsek elkülönítésére nem lehet egyszerűen használni az éteres extraktokkal végzett gombanövekedést gátló vizsgálatok eredményeit. Azt is megállapították, hogy a gátlás mértéke változott a tenyészidő folyamán. Ugyanebben a munkájukban mutatnak rá arra is, hogy a terméketlen növények, melyek a megporzás megakadályozásával nyerhetők, soha nem betegszenek meg fuzáriumos fertőzésben. Ez a megállapítás érdekes lehet, ha meggondoljuk, hogy ezeknek a növényeknek a szénhidrát raktározásában zavar támad, nyilván magasabb lesz az egész növényben a cukorszint, és ez feltehetően kapcsolatban van a 6-methoxybenzoxazolinon glukozid prekursorának képződésével. A fertőzéssel kapcsolatos cukorszint változásokat a francia MOLOT (1962) észrevette és arra a megállapításra jutott, hogy a cukorszint csökkenése a szárban kapcsolatban van a fuzáriumfertőzéssel.

BE MILLER és PAPPELIS (1964) foglalkozott a kukoricában található glukozid tartalom és a szövetsűrűség között fennálló kapcsolattal. Kimutatták, hogy a nagy sűrűségű szövetek, melyek fuzárium-rezisztensek, nagyobb mennyiségű glukozidot tartalmaznak.

A mi vizsgálataink 1967 júliusában kezdődtek. Kísérleteinkhez több vonalat és ezek hibridjeit használtuk, szántóföldi viszonyok között nevelve őket. A vonalak között volt fogékony (C5), rezisztens (O14) és néhány bizonytalan (N6, K150 és a hibridek).

Kezdetben kézi refraktométerezést használtuk, ezzel a módszerrel nem sikerült összefüggést találni a lé szárazanyaga és a megfigyelt szántóföldi rezisztencia foka között. Így a mi figyelmünk is a későbbiek során a 6-methoxybenzoxazolinon felé terelődött. Az első lépés ezen az úton az volt, hogy a tenyészidő végefelé vett, erősen száraz növéyminták 6-methoxybenzoxazolinon-tartalmát próbáltuk meghatározni *Virtanen* módszerével, cellulózpor oszlop kromatográfiával. A nagyon alacsony 6-methoxybenzoxazolinon-tartalomból nem lehetett érdemleges különbségeket megállapítani.

Terveink között szerepel néhány rezisztens, ill. fogékony vonal részletes összehasonlító vizsgálata, mely kiterjedne a tenyészidő alatti 6-methoxybenzoxazolinon-tartalom alakulására és megoszlására az egyes növényi részek között és még néhány más kérdésre is. Köztük a cikorszint vitatott jelentőségének vizsgálatára is, mely kapcsolódik a methoxybenzoxazolinon-tartalom problematikájához.

Különös nehézséget okoz az eszköz- és munkaigényes laboratóriumi módszerek olyan irányú adaptálása, mely megfelel a növénynemesítésben kívánatos nagyszámú vizsgálat követelményeinek.

Összefoglalás

A Fuzárium-rezisztenciával foglalkozó kutatások fő törekvése az volt, hogy izolálni tudjanak valamilyen anyagot, mely gátolja a Fuzárium sp. növekedését.

SCHWARZ szerint sok antibiotikusan ható preparátum készíthető. JOHANN és DICKSON egy antibiotikusan ható éteroldható anyagra hívja fel a figyelmet már 1945-ben. VIRTANEN és HIETALA 1955-ben számolnak be egy roszból izolálható éteroldható anyagról, mely gátolta bizonyos mikroorganizmusok növekedését táptalajon. Nem sokkal később VIRTANEN, HIETALA és WAHLROOS kukoricából és búzából is izolál egy ehhez nagyon hasonló anyagot. A kémiai analízis szerint rozsbán 2(3)—benzoxazolinon, (BOA), kukoricában és búzában 6-methoxybenzoxazolinon (MBOA) okozza az antibiotikus aktivitást. Amint az más kutatók munkáiból kiderül, feltehetőleg ugyanez az anyag, ill. ennek prekuzora felelős a kukoricamoly rezisztenciáért és a kukorica herbicid-tűréséért.

Az MBOA kialakulásának első lépése enzimátikus folyamat. Ennek során a glukozyd prekuzorból előbb aglukon, majd ebből egy kémiai folyamattal MBOA képződik. A glukozyd prekuzort is sikerült izolálni.

A mi kísérleteink 1967 nyarán kezdődtek, így sok eredménnyel még nem rendelkezünk, azonban a probléma aktualitása arra késztetett bennünket, hogy irodalmi vonatkozásairól már most beszámoljunk. Jelenleg azon fáradozunk, hogy egy hazai fogékony és egy ellenálló vonal összehasonlító analízisét elvégezzük, melynek során megvizsgáljuk az MBOA-tartalom változását, a cukorszint és a glukozidaszint kapcsolatát.

IRODALOM

- HIETALA, P. K., and WAHLROOS Ö. (1956a): The syntesis of 6-methoxybenzoxazolinone. *Acta Chem. Scand.* 1196—1197.
- HIETALA, P. K. and VIRTANEN, A. I. (1958): The quantitativ determination of 2(3)-benzoxazolinone from rye seedlings. *Acta Chem. Scand.* 12, 119—123.
- JOHANN, H., and DICKSON, A. D. (1954): A soluble substance in corn stalks that retards growth of *Diplodia zeae* in culture. *J. Agr. Research* 71, 89—110.
- LOOMIS, R. S., BECK, S. D. and STAUFFER, J. F. (1957): The european corn borer *Pyrausta nubilalis* (Hbn) and its principal host plant. V. A chemical study of host plant resistance. *Plant Physiology* 32, 379—385.
- BE MILLER, J. N. and PAPPELIS, A. J. (1964): Relationship of glucoside content to corn stalk rot resistance. *Phytopathology* 54, 888.
- MOLOT, P. M., SIMONE, J. (1962): Influence de divers facteurs sur la resistance du mais aux parasites cryptogamiques. *Ann. Epiph.* 13, 77—93.
- RUPERT, D. PALMER and GROGAN, C. O. (1957): Tolerance of corn lines to atrazin in relation te content of benzoxazinone derivative 2-glucoside.

- SMISSMANN, LA PIDUS, BECK (1957): Corn plant resistance factor. *Journal of Organic Chemistry* **22**, 220.
- SCHWARZE, P. (1958): Phenole und Chinone die biogene Bildung von Benzolkernen bei höheren Pflanzen. *Handbuch der Pflanzenphysiologie* X. 507—542.
- VIRTANEN, A. I., and HIETALA, P. (1955): 2(3)-benzoxazolinone, an antifusarium factor in rye seedlings. *Acta Chem. Scand.* **9**, 1543—1544.
- VIRTANEN, A. I. and HIETALA, P. (1955a): An anti fungi factor in rye seedlings. *Suomen Kemistilehti B* **29** 165—166.
- VIRTANEN, A. I., HIETALA, P. K. and WAHLROOS, Ö. (1956): Additional note on an anti-fungal factor in maize and wheat plants. *Suomen Kemistilehti B* **29** 171.
- VIRTANEN, A. I. and HIETALA, P. K. (1959): On the structures of the precursors of benzoxazolinone in rye seedling. *Suomen Kemistilehti B* **32** 138.
- WAHLROOS, Ö. and VIRTANEN, A. (1958): On the antifungal effect of benzoxazolinone, respectively, on *Fusarium nivale*. *Acta Chem. Scand.* **12**, 124—128.
- WHITNEY, N. J. and MORTIMORE, C. G. (1959): An antifungal substans in the corn plant and its effect on two stalkrotting fungi. *Nature* **138**, 341.
- WHITNEY, N. J. and MORTIMORE, C. G. (1962): Evaluation of a bio-assay of ether extracts from corn (*Zea mays* L.) as a means of screening inbreds for resistance to root and stalk rot. *Canadian Journal of Plant Science* **43**, 302—307.