

Biljni specijalizirani metaboliti kao indikatori promjena u okolišu

Bonevska, Tihana

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:298303>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

BILJNI SPECIJALIZIRANI METABOLITI KAO INDIKATORI PROMJENA U OKOLIŠU

**PLANT SPECIALIZED METABOLITES AS INDICATORS OF ENVIRONMENTAL
CHANGES**

SEMINARSKI RAD

Tihana Bonevska

Preddiplomski studij Znanosti o okolišu

(Undergraduate Study of Environmental Sciences)

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Šola

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. SPECIJALIZIRANI BILJNI METABOLITI	1
2.1. METABOLITI KOJI SADRŽE DUŠIK	3
2.2. METABOLITI BEZ DUŠIKA	5
2.2.1. FLAVONOIDI	5
2.2.2. FENOLNE KISELINE.....	7
2.2.3. KAROTENOIDI	8
3. PRIMJERI PRILAGODBE SPECIJALIZIRANOG METABOLIZMA KUPUSNJAČA PROMJENAMA U OKOLIŠU	10
3.1. KUPUS (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>)	11
3.2. KELJ (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabauda</i>).....	12
3.3. KELJ PUPČAR (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>)	12
3.4. BROKULA (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>).....	12
3.5. CVJETAČA (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>).....	14
3.6. KORABICA (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gongylodes</i>)	14
3.7. ROTKVICA (<i>Raphanus sativus</i>).....	15
3.8. REPA (<i>Brassica rapa</i> var. <i>rapa</i>)	16
4. ZAKLJUČAK	17
5. LITERATURA	18
6. SAŽETAK	23
7. SUMMARY	23

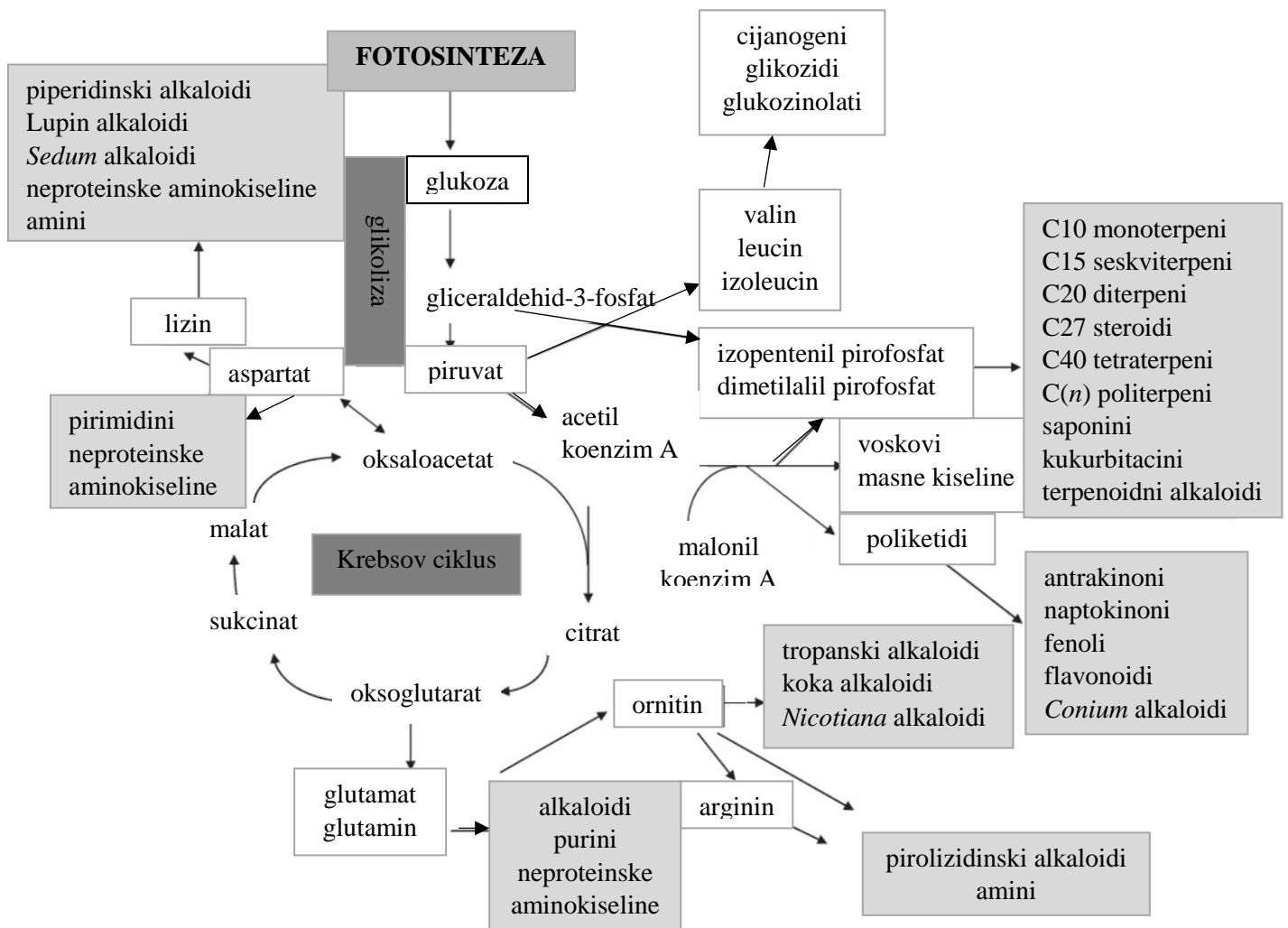
1. UVOD

Biljni metabolizam možemo definirati kao isprepletenu mrežu fizikalnih i kemijskih promjena u vidu fotosinteze, respiracije i sinteze organskih spojeva. Prvu kariku u lancu različitih biosintetskih puteva čini fotosinteza. Tim procesom nastaju ugljikohidrati koji su osnova u biosintezi nukleinskih kiselina, aminokiselina, organskih kiselina, proteina i lipida. S obzirom na uloge koje metaboliti u biljci obavljaju, dijelimo ih na primarne i specijalizirane. Primarni metaboliti, uz regulaciju rasta biljaka i njenog razvitka, služe i kao prekursori za sintezu mnogobrojnih specijaliziranih metabolita koji nisu neophodni za rast i razvoj biljke, ali joj omogućuju prilagođavanje na nove uvjete u okolišu (Pott i sur., 2019).

Okolišni uvjeti na Zemlji su promjenjivi, što biljku može dovesti u stanje stresa. Kako bi opstale, u pojedinim situacijama biljke mijenjaju sadržaj svojih specijaliziranih metabolita kako bi preživjele. Takvi procesi prilagodbe odvijaju se i u biljaka koje čine veliki dio svakodnevne prehrane ljudi i životinja kao što su npr. vrste iz globalno rasprostranjene porodice kupusnjača (Brassicaceae). S obzirom na varijacije temperature, količine padalina, insolacije i sastava tla, sadržaj specijaliziranih metabolita razlikuje se unutar iste vrste (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013), stoga su ovi spojevi direktan dokaz prilagodbe biljaka na različite uvjete u okolišu.

2. SPECIJALIZIRANI BILJNI METABOLITI

Specijalizirani, ili sekundarni biljni metaboliti, kemijski su spojevi koji mogu nastati biosintetskim putevima u citoplazmi, kloroplastima, endoplazmatskom retikulumu, vezikulama ili u mitohondrijima. Zahvaljujući ovim spojevima, čiji su geni rezultat mnogobrojnih duplikacija, biljke uspješno nastanjuju kopno još od paleozoika. Za razliku od primarnih metabolita, koji su odgovorni za osnovne funkcije biljnog organizma, deseci tisuća do sada proučenih specijaliziranih metabolita omogućili su daljnju biokemijsku evoluciju u vidu prilagodbi na okoliš, od obrane biljaka od herbivora ili parazita izlučivanjem određenih odbojnih supstanci, do toga da sintetiziraju različite pigmente koji im daju boju za privlačenje raznih oprašivača (Kusano i sur., 2019). S obzirom na kemijsku strukturu, dijelimo ih na metabolite koji sadrže dušik, poput alkaloida, amina, cijanogenih glikozida i glukozinolata, te na metabolite bez dušika – razni terpeni i fenolni spojevi (Slika 1) (Wink, 2010).



Slika 1. Glavni biosintetski putevi i skupine biljnih specijaliziranih metabolita. Preuzeto i prilagođeno prema Wink (2010).

2.1. METABOLITI KOJI SADRŽE DUŠIK

Jedni od najistraživanijih metabolita koji sadrže dušik su glukozinolati. Oni predstavljaju skupinu glikozida u kojima je prisutan sumpor. Spadaju u grupu najpoznatijih specijaliziranih metabolita kupusnjača, a s obzirom na strukturu aminokiselina dijelimo ih na alifatske (nastali iz metionina, izoleucina, leucina i valina), indolne (nastali iz triptofana) i aromatske (nastali iz fenilalanina i tirozina) (Slika 2). Njihovo prisustvo dolazi do izražaja kada je tkivo biljke oštećeno vanjskim utjecajem. Naime, uslijed oštećenja tkiva mirozinaze (tioglukozid glukohidrolaze) dolaze u doticaj s glukozinolatima, što rezultira njihovom hidrolizom i nastaju izotiocijanati, tiocijanati, nitrili, askorbigeni, indoli i epitoalkani, čije koncentracije opet ovise o pH vrijednosti tla, temperaturi i samoj vrsti biljke (Radojčić Redovniković i sur., 2016). U biljnom carstvu možemo naići na oko 120 tipova različitih glukozinolata, a reprezentativna je porodica *Brassicaceae* s 96 tipova, od kojih su neki vezani uz određenu vrstu ili čak i spol (Tablica 1). Dominantni glukozinolat u toj porodici je glukobrasicin.

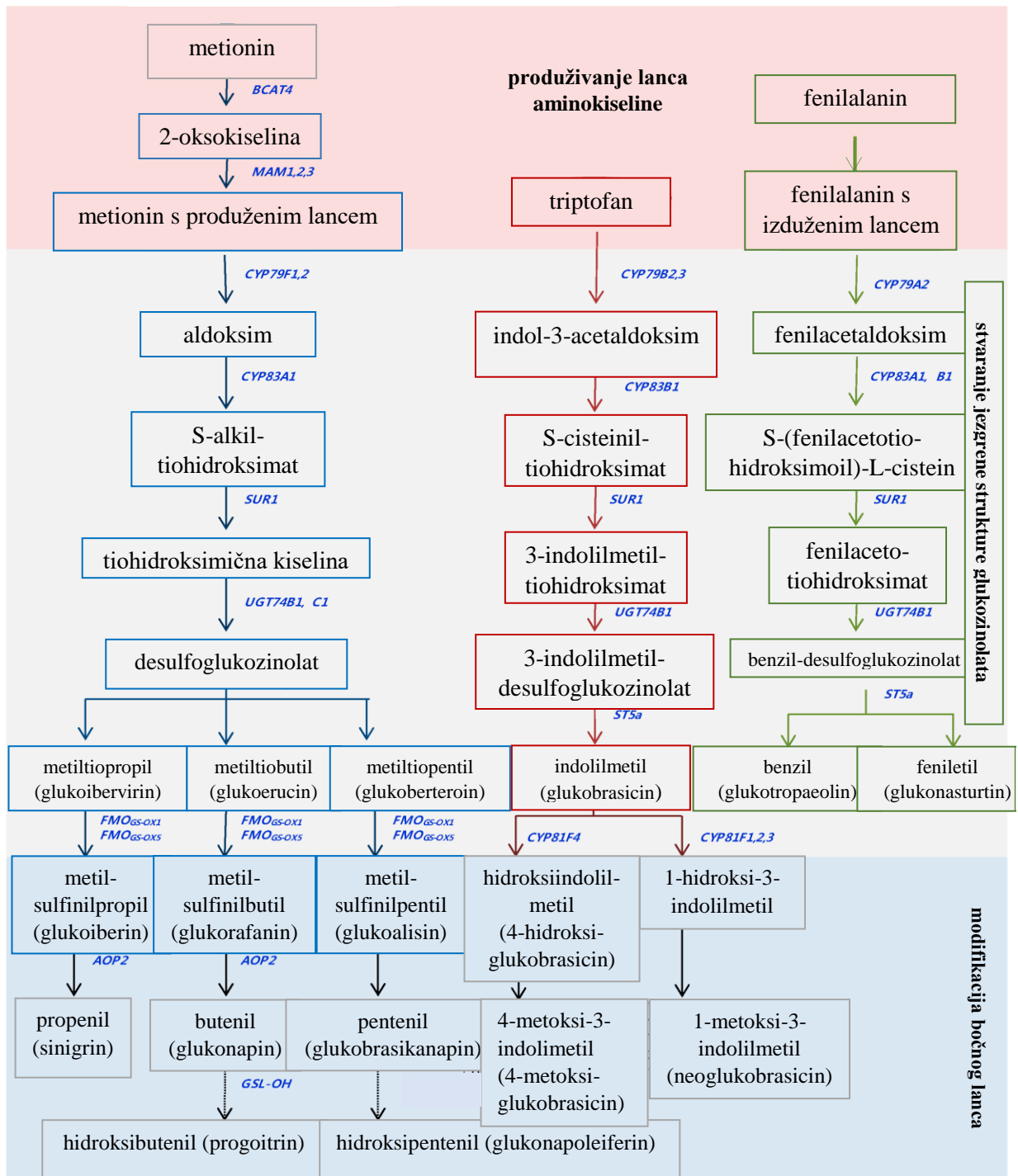
Tablica 1. Prikaz najzastupljenijih glukozinolata u nekim vrstama kupusnjača (Cartea i Velasco, 2007; Kołodziejski i sur., 2019; Bhandari i sur., 2015). GIB – glucoiberin, PRO – progoitrin, SIN – sinigrin, GAL – glucoalizin, GRA – glukorafanin, GNA – glukonapin, GBN – glukobrasikanapin, GIV – glucoiberin, GER – glucoerucin, GNL – glukonapoleiferin, GBS – glukobrasicin, NGBS – neoglucobrasicin, 4HGBS – 4-hidroksiglucobrasicin, 4MGBS – 4-metoksiglucobrasicin, GST – glukonasturtin

Glukozinolati		Vrste kupusnjača							
		kupus	kelj	kelj pupčar	brokula	cvjetača	korabica	repa	rotkvica
Alifatski glukozinolati	GIB	+	+	+	+	+	+	+	-
	PRO	+	+	+	+	+	+	+	-
	SIN	+	+	+	+	+	+	-	-
	GAL	+	-	+	+	-	+	-	+
	GRA	+	+	+	+	+	+	-	+
	GNA	+	+	+	+	-	+	+	+
	GBN	+	+	+	+	-	-	+	+
	GIV	+	+	+	-	+	+	-	-
	GER	+	-	-	+	-	-	+	+
	GNL	-	-	+	+	-	-	+	+
Indolni glukozinolati	GBS	+	+	+	+	+	+	+	+
	NGBS	+	+	+	+	+	+	+	+
	4HGBS	+	-	+	+	-	+	+	+
	4MGBS	+	+	+	+	-	+	+	+
Aromatski glukozinolati	GST	+	+	-	+	-	-	+	-

alifatski glukozinolati

indolni glukozinolati

aromatski glukozinolati



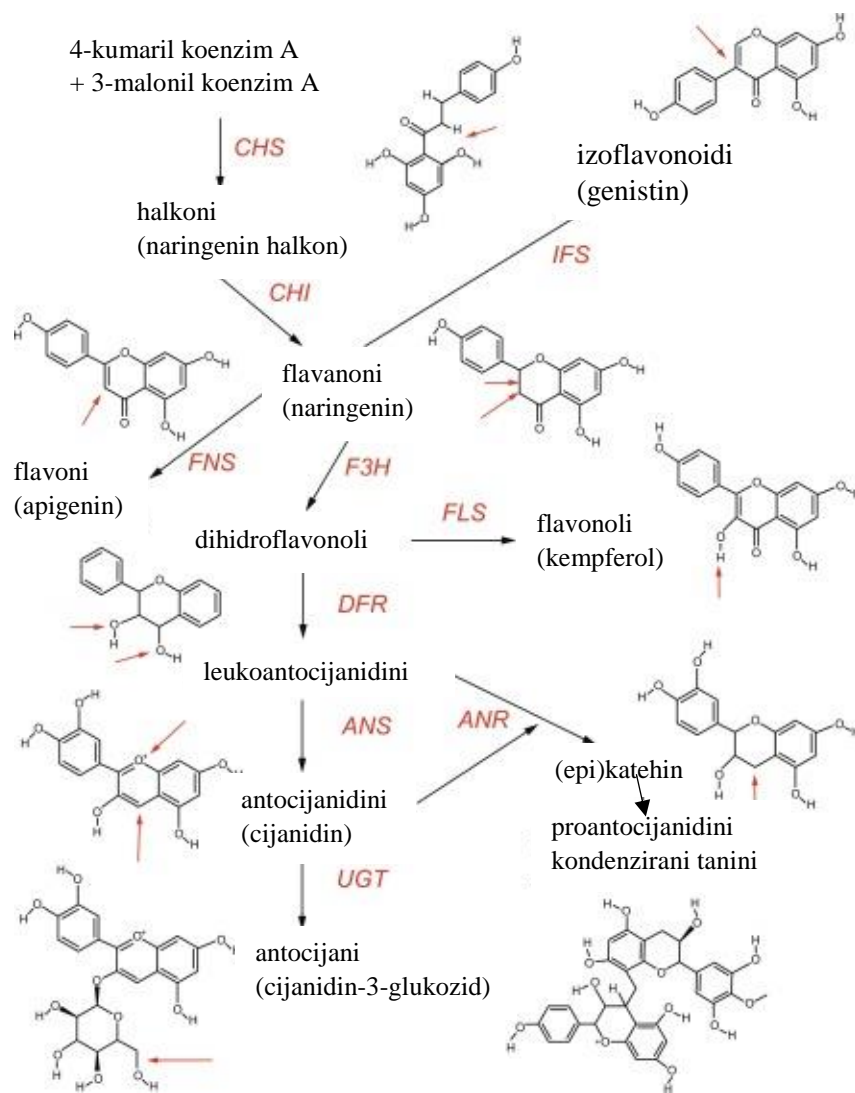
Slika 2. Biosintetski put glukozinolata. Preuzeto i prilagođeno prema Seo i Kim (2017). *BCAT4* – metionin-aminotransferaza; *MAM1,2,3* – metiltioalkilmalat-sintaza 1,2,3; *CYP79F1* – dihomometionin-N-hidroksilaza; *CYP79F2* – heksahomometionin-N-hidroksilaza; *CYP83A1* – citokrom *P450 83 A1*; *SUR1* – sulfonilurea receptor 1; *UGT74B1, C1* – tiohidroksimat-S-transferaza *B1, C1*; *ST5a,b,c* – sulfotransferaza a,b,c; *FMO GS-OX* – flavin-monooksigenaza glukozinolat-S-oksigenaza; *AOP2* – 2-oksoglutarat dioksigenaza; *GSL-OH* – 2-oksokiselina dioksigenaza; *CYP79B2,3* – triptofan-N-monooksigenaza; *CYP83B1* – citokrom *P450 83B1*; *CYP79A2* – fenilalanin-N-monooksigenaza; *CYP81F1,2,3,4* – citokrom *P450 81F1,2,3,4*.

U skupinu metabolita koji sadrže dušik spadaju i amini. Biogeni slobodni amini koji se nalaze u biljkama su alifatski monoamini, alifatski di- i poliamini i aromatski amini, poput putrescina, spermidina, spermina i triptamina. Mogu nastati dekarboksilacijom ili transaminacijom aldehida te su prekursori za nekoliko alkaloida i kataboliziraju pomoću diaminskih i poliaminskih oksidaza. Oni sudjeluju u mitozu i diferencijaciji biljnih stanica, sintezi nukleinskih kiselina, u održavanju ravnoteže kada nastupi stanje stresa zbog promjene pH tla, temperature i količine vode (Bouchereau i sur., 2000). Cijanogeni glukozidi su također dio skupine metabolita koji sadrže dušik. To su bioaktivni specijalizirani metaboliti dobiveni iz aminokiselina koji u sebi imaju α -hidroksinitrilni aglikon s vezanom glukozom. Imaju bitnu ulogu u rastu i razvoju biljaka, kao i u obrani protiv biotičkog i abiotičkog stresa. Dobivaju se iz aromatskih i alifatskih aminokiselina, kao i iz nekolicine neproteinskih aminokiselina. Najpoznatiji su durin dobiven iz tirozina, linamarin iz valina i lotaustralin iz izoleucina (Sun i sur., 2017). Alkaloidi su organski spojevi s heterocikličkim prstenom i barem jednim vezanim dušikom. Najčešće sintetiziraju iz lizina, tirozina i triptofana, a neke vrste i iz terpena i ornitina. Njihov obrambeni mehanizam protiv biotičkih čimbenika je u obliku otrovnih supstanci koje mogu biti smrtonosne u velikim dozama. Najpoznatiji alkaloidi u svijetu su kokain, nikotin i kafein, dok su u porodici *Brassicaceae* prisutni tropanski alkaloidi poput tropina, pseudotropina i kohlearina. (Brock i sur., 2006).

2.2. METABOLITI BEZ DUŠIKA

2.2.1. FLAVONOIDI

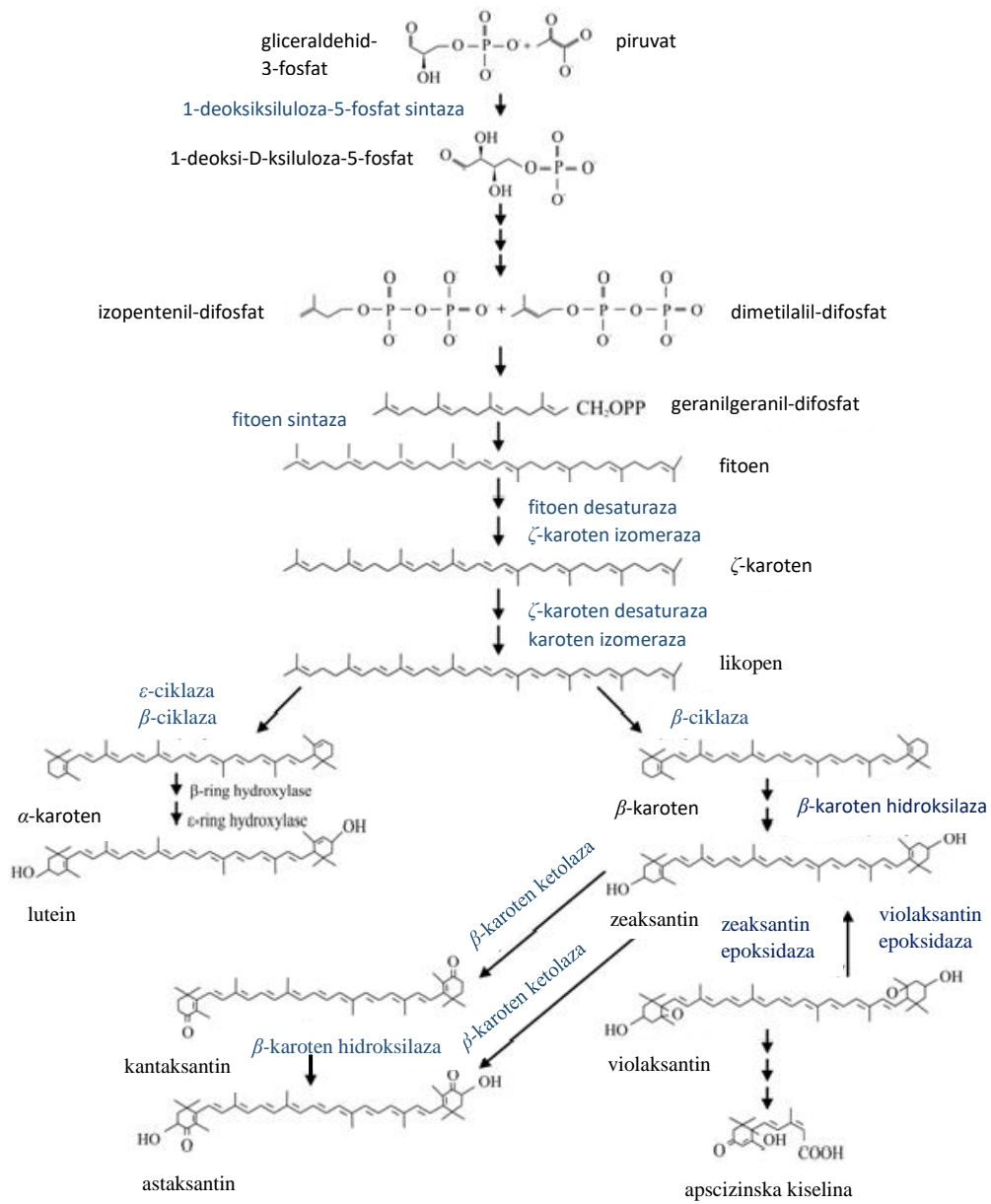
Flavonoidi su polifenolni spojevi koji imaju važnu ulogu u zaštiti biljaka od biotičkog i abiotičkog stresa temeljem raznih mehanizama, npr. djeluju kao signalne molekule, fitoaleksini, u obliku UV-filtera, te imaju značajnu ulogu u aklimatizaciji biljaka pri raznim temperaturnim amplitudama i u sušnim/kišnim razdobljima. Također su vrlo bitni u biosintetskom putu biljnog hormona pod nazivom auksin (Samanta i sur., 2011). Flavonoidi mogu postojati u obliku aglikona, glikozida i metiliranih derivata. Prema molekularnoj strukturi ih možemo podijeliti u šest glavnih grupa koje čine flavonoli (kvercetin, kempferol), flavoni (luteolin, apigenin), flavanoni (hespertin, tangeritin), flavanoli (epikatehin, katehin), izoflavoni (genistin) te razni antocijani (Slika 3) (Lakhanpal i Kumar, 2007). Oni se međusobno razlikuju kroz modifikacije skeletne strukture kao posljedica hidrogenacije, hidroksilacije, dimerizacije, *O*-metilacije hidroksilnih skupina te glikolizacije istih (*O*-glikozidi) (Kazazić, 2004).



Slika 3. Biosintetski put flavonoida. Preuzeto i prilagođeno prema Gutzeit i Ludwig-Müller (2014). *CHS* – halkan-sintaza; *CHI* – halkan-izomeraza; *IFS* – izoflavon-sintaza; *FNS* – flavon-sintaza; *F3H* – flavanon-3-hidroksilaza; *FLS* – flavonol-sintaza; *DFR* – dihidrokempferol-4-reduktaza; *ANS* – antocijanidin-sintaza; *ANR* – antocijanidin-reduktaza; *UGT* – uridin-5'-difosfo-glukuronozil-transferaza.

2.2.3. KAROTENOIDI

Karotenoidi (karoteni i ksantofili) su izrazito pigmentirani antioksidansi topivi u vodi, a spadaju u skupinu terpena (Theis i Lerda, 2003). Pojavljuju se u obliku žutih, narančastih i crvenih pigmenata. Da bi došlo do njihove sinteze, prvi korak je stvaranje fitoena pomoću fitoen sintaze i intermedijera u mevalonatnom putu geranilgeranil-difosfata. Nakon toga fitoen i ζ -karoten desaturaze stvaraju likopen. Karotenoidi se granaju nakon ciklizacije likopena. Za katalizaciju sinteze β -karotena s dva β -prstena je odgovorna β -ciklaza, a ϵ -ciklaza ubrzava sintezu α -karotena. Nakon nekoliko hidroksilacija α -karoten prelazi u lutein, dok se hidroksilacijom β -karotena dobiva zeaksantin. Violaksantin nastaje enzimatskim reakcijama iz anteraksantina uz pomoć epoksidaze (Slika 5). Neki karotenoidi, poput β -karotena koji je provitamin A, su prekursori u sintezi vitamina. U biljkama služe privlačenju oprašivača i kao pigmenti koji štite biljku od intenzivnog UV zračenja. Analogno fenolnim skupinama, akumulacija karotenoida je također uvjetovana okolišnim faktorima, vrstom tkiva i razvojnim stadijem same biljke (Yu i sur., 2008). U kupusnjačama su dominantni karotenoidi lutein i β -karoten (Podsędek, 2007).



Slika 5. Biosintetski put karotenoida. Preuzeto i prilagođeno prema: <https://lipidlibrary.aocs.org/chemistry/physics/plant-lipid/carotenoid-biosynthesis-and-regulation-in-plants>.

3. PRIMJERI PRILAGODBE SPECIJALIZIRANOG METABOLIZMA KUPUSNJAČA PROMJENAMA U OKOLIŠU

Porodica kupusnjača je najveća i ekonomski najznačajnija skupina eudikotiledona. Ona broji oko 3200 kozmopolitskih vrsta razvrstanih u približno 350 rodova, s najvećom raznolikošću u sjevernom umjerenom području i na Sredozemlju. Na teritoriju Republike Hrvatske nalazi se čak 273 vrsta, uključujući i 73 podvrste. Od toga ih je 26 subendema i endema, poput velebitske degenije (*Degenia velebitica*), palagruškog kupusa (*Brassica botterii* Vis.) i drugih. Kupusnjače su uglavnom zeljaste biljke, a ovisno o rodu, mogu biti jednogodišnje, dvogodišnje ili čak i trajnice. Četiri latice izgledom podsjećaju na križ, prema kojem nose i stariji latinski naziv *Cruciferae*, odnosno krstašice (Nikolić, 2013).

S obzirom da se radi o eurivalentnim vrstama, vrlo je zanimljiv sastav njihovih specijaliziranih metabolita, pomoću kojih možemo pratiti odgovor biljke na razne okolišne uvjete i njenu prilagodbu s obzirom na sesilni način života. Stres uzrokovan određenim sub- i supraoptimalnim okolišnim uvjetima (takozvani abiotički stres) dovodi do povećanja koncentracije reaktivnih oblika kisika (*reactive oxygen species*, ROS), poput iona kisika, radikala i peroksida. U normalnim uvjetima imaju ulogu u staničnoj signalizaciji, dok u stanju povišene koncentracije negativno utječu na biljku. Da bi se smanjila toksična količina ROS-ova, biljka kao odgovor na stres povećava koncentraciju neenzimatskih antioksidansa poput askorbata, tokoferola, alkaloida, glutationa i flavonoida (Khan i sur., 2012). Općenito, loši uvjeti dovode do slabog sazrijevanja sjemenki, zakržljalih mladica i listova, inhibicije rasta korijena, smanjene biomase, a može rezultirati i ugibanjem biljke (Toscano i sur., 2019).

3.1. KUPUS (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

Sinapinska kiselina zauzima veliki postotak u sveukupnom sadržaju fenolnih kiselina kupusa, kao i visoke koncentracije ferulične i kumarinske kiseline. Zahvaljujući njima, dobro podnosi veći salinitet tla na način da količina kumarinske i ferulične kiseline raste s porastom količine soli. Uz povišenje udjela fenolnih kiselina, dolazi i do značajnog porasta koncentracije glukozinolata u kupusu kada se javi solni stres. Potonji su značajno većih koncentracija pri višim temperaturama ako se usporede koncentracije pri 20 i 30°C (Linić i sur., 2019). Koncentracije ukupnih i alifatskih glukozinolata su povišene pri sniženim (12°C) i povišenim (32°C) temperaturama u odnosu na optimalnih 22°C. Količina indolnih glukozinolata u korijenju kupusa se linearno povećava s porastom temperature, pa tako pri 32°C može biti veća i više nego dvostruko u odnosu na koncentraciju pri optimalnoj temperaturi (Charron i Sams, 2004).

U izrazito sušnom razdoblju dolazi do povećanja udjela glukozinolata, točnije glucoiberina, progoitrina, sinigrina, glukorafanina, glukonapina, glucoibervirina, glukonasturtina, 4-hidroksiglukobrasicina, glukobrasicina i 4-metoksiglukobrasicina u kupusu (Ciska i sur., 2000; Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013) jer dolazi do akumulacije aminokiselina koje se tada konvertiraju u glukozinolate zahvaljujući genu *CYP79* kojeg inducira prisustvo jasmonske kiseline u stresnim uvjetima (Rosa i sur., 1997).

UV-B zračenje, spektra između 280 i 320 nm valne duljine, reducira koncentraciju klorofila i karotenoida (Teramura, 1983), dok γ -zračenje povećava koncentraciju sinigrina u kupusu (Variyar i sur., 2014).

Čovjek također utječe na sadržaj bioaktivnih spojeva u biljkama, naime negativan antropogeni utjecaj poput povećane razine ugljikovog dioksida i ozona u zraku, ili teških metala u tlu, značajno mijenja sadržaj metabolita u biljkama (Neugart i sur., 2018). Pri povišenim koncentracijama ugljikovog dioksida (720 ppm) dolazi do značajnog smanjenja udjela indolnih glukozinolata u kupusu (Verkerk i sur., 2009). Kupusu odgovara niska koncentracija dušika i visoka koncentracija sumpora koji povećavaju količinu ukupnih glukozinolata, a posebice glukobrasicina (Verkerk i sur., 2009).

3.2. KELJ (*Brassica oleracea* var. *sabauda*)

Istraženo je kako povećani salinitet utječe na koncentraciju fotosintetskih pigmenata u kelju. Rađeni su eksperimenti pri koncentracijama od 100 i 200 mmol/L NaCl, a pokazalo se da povišenje saliniteta uzrokuje povećanje koncentracija klorofila *a* i *b*, dok visok salinitet negativno utječe na ksantofile i karotene jer im je koncentracija bila niža za više od 40% u usporedbi s kontrolnim biljkama (Sanoubar i sur., 2016).

Glavna skupina glukozinolata u kelju je alifatska, koja čini gotovo polovicu sveukupnog udjela glukozinolata, a glavni metabolit je sinigrin, dok je drugi po zastupljenosti glucoiberin (Castro i sur., 2004). U uvjetima više srednje mjesečne temperature i manje količine padalina koncentracije sinigrina, glucoiberina, progoitrina i neoglukobrasicina u kelju značajno su se smanjile, dok su koncentracije glukorafanina, glukonapina, glukonasturtina, glukobrasicina i 4-metoksiglukobrasicina porasle (Ciska i sur., 2000). Kada se temperatura zimi snizi ispod 0°C, dolazi do zaleđivanja biljke što negativno utječe na količinu ukupnih glukozinolata (Hongju i Schnitzler, 1999).

3.3. KELJ PUPČAR (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*)

Suša u kombinaciji s herbivorima koji napadaju korijen značajno povećava razinu glukozinolata u kelju pupčaru, njihova koncentracija poraste za više od 60%. (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013). Samo sušno razdoblje povećava koncentracije glucoiberina, progoitrina, glukorafanina, glukonapina, glukonasturtina, 4-hidroksiglukobrasicina, glukobrasicina, 4-metoksiglukobrasicina i neoglukobrasicina, dok se koncentracije sinigrina i glucoibervirina smanjuju u kelju pupčaru (Ciska i sur., 2000). Koncentracija stabilnog ugljikovog izotopa ¹³C u razdoblju bez kiša porasla je u kelju pupčaru što ukazuje na smanjenu fotosintetsku aktivnost zbog zatvaranja puči (Gutbrodt i sur., 2012).

3.4. BROKULA (*Brassica oleracea* var. *italica*)

Najznačajniji glukozinolat brokule je glukorafanin, koji zatim prelazi u stabilniji sulforapan (Matusheski i Jeffrey, 2001). Nizak salinitet tla (oko 40 mM) pogoduje porastu količine glukozinolata u brokuli, dok pri koncentracijama iznad 80 mM koncentracija glukozinolata više ne raste (Linić i sur., 2019).

Stres uzrokovan povišenim salinitetom vodi ka smanjenoj koncentraciji klorogenske i sinapinske kiseline, kao i njihovih derivata (Yang i sur., 2018). U biljaka koje su uzgajane u uvjetima jače svjetlosti, za razliku od onih koje su se nalazile u mraku, povećana je koncentracija glukozinolata (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013). Povišenje temperature rezultira povećanjem koncentracije alifatskih glukozinolata, dok istovremeno količina indolnih glukozinolata u brokuli opada. Razlog tomu je sinteza alifatskih glukozinolata iz metionina djelovanjem monooksigenaza koje su ovisne o svjetlu. Konverzija triptofana u indolne glukozinolate je katalizirana peroksidazama, koje su pod utjecajem temperature (Verkerk i sur., 2009), pa je stvaranje indolnih glukozinolata idealno pri temperaturama od 15°C i nižim, dok alifatski glukozinolati preferiraju više temperature (jer je prisutna i veća količina svjetlosti). Povišenje temperature sa 6°C na 13°C dovelo je do povećanja koncentracije karotenoida luteina u brokuli (Neugart i sur., 2018), dok su temperature iznad 15°C negativno utjecale na koncentraciju luteina i β -karotena (Björkman, 2011).

UV-B zračenje pri 310 nm povećalo je koncentraciju flavonoida kempferola i kvercetina (Neugart i sur., 2018). Kempferol je najzastupljeniji flavonoid u brokuli, čija koncentracija bitno raste sa stresom koji uzrokuju suša i poplava. S obzirom da je abiotički stres reducirao rast biljke na način da je usporio fotosintezu, biljka svoju energiju preusmjerava na obrambene mehanizme, točnije na aktivaciju specifičnih biosintetskih puteva pa se tada produkti fotosinteze upotrebljavaju i za biosintezu kempferola. UV-B zračenje pri 310 nm je pokazalo pozitivan utjecaj i na količinu indolnih glukozinolata u brokuli (Neugart i sur., 2018).

Nedostatak vode pridonosi akumulaciji fenolnih spojeva, uključujući antocijane u brokuli. Umjerena nestašica vode uzrokovala je porast vitamina C, što upućuje na to da povišene razine ovog vitamina imaju važnu ulogu u obrani biljke od suše (Toscano i sur., 2019).

U izrazito sušnom razdoblju dolazi i do povećanja udjela glukozinolata u brokuli (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013). Veća dostupnost sumpora u pozitivnoj je korelaciji s glukozinolatima glukorafaninom i glukobrasicinom, dok selenij snižava ukupnu koncentraciju glukozinolata u brokuli (Neugart i sur., 2018).

Gama i delta tokoferoli zastupljeni su u višim koncentracijama u brokuli tijekom jeseni nego li tijekom proljeća, dok je obrnuta situacija s karotenoidima. Koncentracija β -karotena, zeaksantina i luteina povišena je u proljeće u odnosu na jesen (Vallejo i sur., 2003).

Kada se koncentracija ugljikovog dioksida udvostruči u usporedbi s normalnom količinom tog spoja u atmosferi, koncentracija glukozinolata glukoiberina i glukorafanina u brokuli značajno poraste, dok glukobrasicina značajno pada (Neugart i sur., 2018).

3.5. CVJETAČA (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)

Suša uzrokuje povišenje koncentracije karotenoida (Lo Scalzo i sur., 2013) i nekih glukozinolata, poput glukoiberina, progoitrina, sinigrina, glukorafanina, glukoibervirina, glucoerucina, 4-hidroksiglukobrasicina, glukobrasicina, 4-metoksiglukobrasicina i neoglukobrasicina, a snižava koncentraciju glukorafenina u cvjetači (Ciska i sur., 2000). Povećana razina dušika, koja najčešće potječe iz gnojiva, smanjuje razinu vitamina C (Podsędek, 2007), a povećava količinu karotenoida (Neugart i sur., 2018).

Salinitet tla dovodi do promjena u koncentracijama klorofila i karotenoida u cvjetači. Dok do koncentracije od 100 mM natrijevog klorida količina ukupnih klorofila i karotenoida gotovo linearno raste, s povećanjem koncentracije soli drastično se smanjuju koncentracije klorofila i karotenoida (Zhu, 2011).

3.6. KORABICA (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*)

Smanjena količina padalina tijekom vegetacijskog perioda povećava koncentraciju ukupnih glukozinolata (Verkerk i sur., 2009), dok u izrazito sušnom razdoblju dolazi do povećanja koncentracija glukoiberina, sinigrina, glukorafenina, glukonapina, glucoibervirina, glucoerucina, 4-hidroksiglukobrasicina, glukobrasicina, i neoglukobrasicina, a koncentracije progoitrina i glukorafanina u korabici padaju (Ciska i sur., 2000).

Ako se u tlu nađe selenij, dolazi do povećanja ukupne količine klorofila i karotenoida, dok pristup jodu snižava količinu ukupnih klorofila, a povećava koncentraciju antocijana u korabici (Gratacós-Cubarsí i sur., 2010). Listovi biljaka, čije korijenje dođe u doticaj s amonijakom, može povećati ukupnu koncentraciju klorofila i povećati proizvodnju epikutikularnog voska (Blanke i sur., 1996).

Povećan salinitet tla dovodi do snižavanja koncentracija klorofila *a* i *b* te negativno utječe na količinu karotenoida u listovima korabice. Ako se u tlu nađe urea, dušik kojeg sadrži nije direktno dostupan korabici, već se mora hidrolizirati u amonijak. S povećanjem količine uree se povećava i koncentracija ukupnih klorofila, kao i karotenoida (Osman i Salim, 2016).

3.7. ROTKVICA (*Raphanus sativus*)

Rotkvica je jedinstvena u porodici *Brassicaceae* po jednom alifatskom glukozinolatu – dehidroerucinu koji čini preko 80% sveukupnog udjela glukozinolata. Ukoliko se rotkvicu tretira jasmonskom kiselinom, taj spoj postat će biološki elicitor i aktivirati akumulaciju dehidroerucina (Baenas i sur., 2014).

Kombinacija metala bakra, cinka i olova s povišenim salinitetom dovodi do povišenja udjela klorofila *a* i *b*, a snižavanja količine ukupnih flavonoida (Neggaz, 2019), dok u prisustvu metala žive, kadmija i bakra snižava se koncentracija karotenoida u rotkvici (Neugart i sur., 2018). UV-B zračenje djeluje nepovoljno na klorofile na način da inhibira biosintezu klorofila *b*, dok istovremeno raste količina glikozidnih flavonoida (Teramura, 1983). Veća razina globalne radijacije uzrok je povećane koncentracije indolnih glukozinolata, dok značajnije promjene u alifatskim glukozinolatima nisu uočene. Neka istraživanja su čak pokazala da japanske i korejske rotkvice u sebi sadrže i do 80% više glukozinolata od onih uzgajanih u Europi i Americi (Neugart i sur., 2018).

Nedostatak padalina u vegetacijskom periodu uzrokuje smanjenje količine ukupnih glukozinolata u rotkvici (Verkerk i sur., 2009). Ukoliko dođe do suše, koncentracije progoitrina, glukoeerucina i 4-metoksiglukobrasicina rastu, dok koncentracije glukorafanina, glukorafenina, 4-hidroksiglukobrasicina, glukobrasicina i neoglukobrasicina padaju (Ciska i sur., 2000).

Pri povećanom stupnju saliniteta (100 mM natrijev klorid) rotkvica pokazuje tendenciju porasta količine glukozinolata i fenolnih kiselina (Linić i sur., 2019).

3.8. REPA (*Brassica rapa* var. *rapa*)

Najčešći glukozinolati u repi su alifatski glukozinolati, glukonapin (koji je odgovoran za gorak okus) i glukobrasikanapin. Povećani salinitet uzrokovao je smanjivanje udjela alifatskih glukozinolata, ali istovremeno povećanje udjela aromatskih glukozinolata (Linić i sur., 2019).

Temperature između 15°C i 27°C uzrokovale su smanjivanje koncentracije ukupnih glukozinolata (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013), dok je pri višim koncentracijama uočena pozitivna korelacija između *BrMYB* transkripcijskih faktora i akumulacije glukozinolata u repi (Justen i sur., 2013). Također, Aires i sur (2011) utvrdili su da je količina ukupnih flavonoida, fenolnih kiselina i vitamina C u repi ovisna o sezoni sadnje. Količina flavonoida fluktuirala je tijekom sezone proljeće-ljeto i u listovima i u korijenu, dok je količina vitamina C varirala samo u korijenu. Repa je biljka kratkog produktivnog ciklusa i takvim vrstama pogoduju umjerene temperature i zračenje kakve su tijekom sezone od kraja ljeta prema zimi. Ona tad akumulira puno veće koncentracije ukupnih flavonoida, fenolnih kiselina i vitamina od dijela godine gdje proljeće prelazi u ljeto (Aires i sur., 2011).

Tijekom umjereno sušnog razdoblja dolazi do povišenja koncentracije aromatskih i alifatskih glukozinolata u repi (Del Carmen Martínez-Ballesta i sur., 2013), kao i karotenoida (Neugart i sur., 2018). Ako uslijed pretjeranog gnojenja dođe do povećanja razine amonijaka i nitrata u tlu, koncentracija izoramnetina i kempferola u repi pada (Neugart i sur., 2018). Omjer dušika i sumpora prisutnih u tlu utječe i na koncentraciju glukozinolata – veći udio sumpora potiče akumulaciju alifatskih glukozinolata u repi (Ishida i sur., 2014).

Manja količina svjetlosti dovodi do smanjenja količine ukupnih glukozinolata u repi. Dok su pri valnim duljinama između 400 i 700 nm količine glukonapina i glukobrasikanapina u repi izrazito visoke, pri nižim valnim duljinama povećava se količina glukobrasicina. U uvjetima smanjene radijacije dolazi do smanjenja ukupne koncentracije flavonoida u repi (Neugart i sur., 2018). U jednoj studiji provedena je usporedba utjecaja dviju lokacija u Španjolskoj na količinu glukozinolata u repi. Na lokaciji koja je udaljenija od mora u odnosu na lokaciju koja se nalazi blizu obale, uočena je niža količina glukozinolata, posebice glukonapina, što se dovodi u vezu s kiselijim tlom. Također je navedeno da manjak dostupnog sumpora reducira količinu alifatskih glukozinolata, a povećana količina dušika ide u korist hidroksilacije – dodavanjem hidroksilne skupine glukonapinu nastaje progoitrin pa je u repi porasla koncentracija tog glukozinolata (Padilla i sur., 2007). Ako se salinitet tla povisi, koncentracija ukupnih glukozinolata će također porasti, kao i tijekom sušnog razdoblja (Variyar i sur., 2014).

4. ZAKLJUČAK

Koncentracije biljnih specijaliziranih metabolita variraju s obzirom na razvojni stadij, dio biljke na kojoj su provedeni eksperimenti (list, stabljika, korijen, cvijet), u koje doba dana je uzet primjerak iz prirode (s obzirom da su koncentracije metabolita sklone dnevnim varijacijama), kao i godišnje doba koje izrazito utječe na intenzitet i vrstu Sunčeve svjetlosti, UV zračenje, kao i na geografsku raspodjelu padalina. S obzirom na izrazito veliki broj dominantnih varijabli gdje je gotovo nemoguće izolirati jedan utjecaj od drugog, vrlo je teško izvesti uniformni zaključak, tim više što su funkcije nekih metabolita u određenim uvjetima, kao i promjene njihovih biosintetskih puteva, još uvijek nedovoljno istražene. Od ključne su važnosti istraživanja u kontroliranim uvjetima jer tek tada možemo vidjeti točnu korelaciju između metabolita i pojedinog stresnog okolišnog uvjeta.

5. LITERATURA

- Aires, A; Fernandes, C; Carvalho, R; Bennett, R N; Saavedra, M J; Rosa, EA S (2011) Seasonal effects on bioactive compounds and antioxidant capacity of six economically important *Brassica* vegetables. *Molecules*, 16, 6816-6832.
- Baenas N, García-Viguera C, Moreno DA (2014) Biotic elicitors effectively increase the glucosinolates content in *Brassicaceae* sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1881-1889.
- Bhandari, S R; Jo, J S; Lee, J G (2015) Comparison of glucosinolate profiles in different tissues of nine *Brassica* crops. *Molecules*, 20, 15827-15841.
- Björkman, M; Klingen, I; Birch, A N E; Bones, A M; Bruce, T J A; Johansen, T J; Meadow, R; Mølmann, J; Seljåsen, R; Smart, L E; Stewart, D (2011) Phytochemicals of *Brassicaceae* in plant protection and human health – Influences of climate, environment and agronomic practice, *Phytochemistry*, 72, 538-556.
- Blanke, M; Bacher, W; Pring, R; Baker, E (1996) Ammonium nutrition enhances chlorophyll and glaucousness in kohlrabi. *Annals of Botany*, 78, 599-604.
- Bouchereau, A; Guénot, P; Larher, F (2000) Analysis of amines in plant materials. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 747, 49–67.
- Brock, A; Herzfeld, T; Paschke, R; Koch, M; Dräger, B (2006). *Brassicaceae* contain nortropane alkaloids. *Phytochemistry*, 67, 2050–2057.
- Cartea, M; Velasco, P (2007) Glucosinolates in *Brassica* foods: Bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 213-229.
- Castro, A; Aires, A; Rosa, E; Bloem, E; Stulen, I; De Kok, L (2004) Distribution of glucosinolates in *Brassica oleracea* cultivars. *Phyton; annales rei botanicae*, 44, 133-143.
- Ciska, E; Martyniak-Przybyszewska, B; Kozłowska, H (2000) Content of glucosinolates in cruciferous vegetables grown at the same site for two years under different climatic conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48, 2862–2867.
- Charron, C; Sams, C (2004) Glucosinolate content and myrosinase activity in rapid-cycling *Brassica oleracea* grown in a controlled environment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129, 321-330.
- Cheyrier V, Comte G, Davies K M, Lattanzio V, Martens S (2013) Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1-20.

- Del Carmen Martínez-Ballesta, M, Moreno, D A; Carvajal, M (2013) The physiological importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in *Brassica*. *International journal of molecular sciences*, 14, 11607–11625.
- Gratacós-Cubarsí, M; Ribas-Agustí, A; García-Regueiro, J A; Castellari, M (2010) Simultaneous evaluation of intact glucosinolates and phenolic compounds by UPLC-DAD-MS/MS in *Brassica oleracea* L. var. *botrytis*. *Food Chemistry*, 121, 257-263.
- Gutbrodt, B, Dorn, S, Unsicker, S B (2012). Species-specific responses of herbivores to within-plant and environmentally mediated between-plant variability in plant chemistry. *Chemoecology*, 22, 101–111.
- Hongju, H; Schnitzler, W (1999) Studies for growth adaptation and identification of glucosinolates in various Chinese Brassicas, 7-115.
- Ishida, M; Hara, M; Fukino, N; Kakizaki, T; Morimitsu, Y (2014) Glucosinolate metabolism, functionality and breeding for the improvement of *Brassicaceae* vegetables. *Breeding Science*, 64, 48-59.
- Justen, V L; Fritz, V A (2013) Temperature-induced glucosinolate accumulation is associated with expression of *BrMYB* transcription factors, *HortScience horts*, 48, 47-52.
- Kazazić, S P (2004) Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 55, 279-290.
- Khan, M M; Ulrichs, C; Mewis, I (2011) Water stress alters aphid induced glucosinolate response in *Brassica oleracea* var. *italica* differently. *Chemoecology*, 21, 235-242.
- Khan, M M; Hanif, M A; Abraham, A S (2012) Variations in basil antioxidant contents in relation to deficit irrigation. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 2220–2223.
- Kusano, H; Li, H; Minami, H; Kato, Y; Tabata, H; Yazaki, K (2019) Evolutionary developments in plant specialized metabolism, exemplified by two transferase families. *Frontiers Plant Science*, 10, 1-6.
- Kołodziejwski, D; Piekarska, A; Hanschen, F S (2019) Relationship between conversion rate of glucosinolates to isothiocyanates/indoles and genotoxicity of individual parts of *Brassica* vegetables. *European Food Research and Technology*, 245, 383–400.
- Lakhanpal, P; Rai, D K (2007) Clinical knowledge, quercetin: A versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2, 22-37.
- Linić, I; Šamec, D; Gruz, J; Vujčić Bok, V; Strnad, M; Salopek-Sondi, B (2019) Involvement of phenolic acids in short-term adaptation to salinity stress is species-specific among *Brassicaceae*. *Plants*, 8, 1-19.

- Lo Scalzo, R; Picchi, V; Migliori, C A; Campanelli, G; Leteo, F; Ferrari, V; Di Ceasre, L F (2013) Variations in the phytochemical contents and antioxidant capacity of organically and conventionally grown Italian cauliflower (*Brassica oleracea L. subsp. botrytis*): Results from a three-year field study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10335-10344.
- Mandal, S M; Chakraborty, D; Dey, S (2010) Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant signaling & behavior*, 5, 359–368.
- Matusheski N V, Jeffery E H (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5743-5749.
- Neggaz N E (2019) Effet combiné de la salinité et de métaux lourds (Plomb, Cuivre, et Zinc) sur les paramètres chimiques, biochimiques et morpho-physiologiques chez le radis (*Raphanus sativus L.*), doktorska disertacija
- Neugart, S; Baldermann, S; Hanschen, F S; Klopsch, R; Wiesner-Reinhold, M; Schreiner, M (2018) The intrinsic quality of brassicaceous vegetables: How secondary plant metabolites are affected by genetic, environmental, and agronomic factors. *Scientia Horticulturae*, 233, 460-478.
- Nikolić T (2013) *Brassicaceae* Burnett - krstašice: Sistematska botanika - raznolikost i evolucija biljnog svijeta, 663-671.
- Osman, H; Salim, B (2016) Improving yield and quality of kohlrabi stems growing under NaCl salinity using foliar application of urea and seaweed extract. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 8, 149-160.
- Padilla, G; Cartea, M E; Velasco, P; de Haro, A; Ordás, A (2007) Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochemistry*, 68, 536-545.
- Podsędek, A (2007): Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- Pott, D M; Osorio, S; Vallarino, J G (2019). From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-19.
- Radojčić Redovniković, I; Cvjetko Bubalo, M; Panić, M; Radošević, K (2016): Biološki aktivni spojevi glukozinolati i polifenoli u cvatu, listu i stabljici brokule (*Brassica oleracea var. italica L.*). *Glasnik Zaštite Bilja*, 39, 24-29.
- Rosa, E A; Heaney, R K; Fenwick, G R; Portas, C A M (1997): Glucosinolates in crop plants. *Horticultural Reviews*, 19, 99-215.

- Samanta, A; Das, G; Das, S (2011) Roles of flavonoids in plants. *International Journal of pharmaceutical science and technology*, 6, 12-35.
- Sanoubar R, Cellini A, Veroni A M (2016) Salinity thresholds and genotypic variability of cabbage (*Brassica oleracea L.*) grown under saline stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 319-330
- Seo M S; Kim J S (2017) Understanding of *MYB* transcription factors involved in glucosinolate biosynthesis in *Brassicaceae*. *Molecules*, 22, 1-13.
- Sun, Z; Zhang, K; Chen, C; Wu, Y; Tang, Y; Georgiev, M I; Zhou, M (2017) Biosynthesis and regulation of cyanogenic glycoside production in forage plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 9–16.
- Teramura, A (1983) Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plants. *Physiologia Plantarum*, 58, 415-427.
- Theis, N; Lerda, M (2003) The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plants Sciences*, 64, 93-102.
- Toscano, S; Trivellini, A; Cocetta, G; Bulgari, R; Francini, A; Romano, D; Ferrante, A (2019) Effect of preharvest abiotic stresses on the accumulation of bioactive compounds in horticultural produce. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1-17.
- Vallejo, F; Tomás-Barberán, F A; González, A; García-Viguera C (2003) Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars grown under various climatic and fertilisation conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 307–313.
- Variyar, P S; Banerjee, A; Akkarakaran, J J; Suprasanna, P (2014) Role of glucosinolates in Plant Stress Tolerance. *Academic Press*, 1, 271-291
- Verkerk, R; Schreiner, M; Krumbein, A (2009) Glucosinolates in *Brassica* vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, 219-265.
- Wink, M (2010) Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. *Annual Plant Reviews*, 40, 1-19.
- Yang, L; Wen, K S; Ruan, X; Zhao, Y X; Wei, F; Wang, Q (2018) Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23, 1-26.
- Yu, B; Lydiate, D J; Young, L W; Schäfer, U A; Hannoufa, A J T R (2008) Enhancing the carotenoid content of *Brassica napus* seeds by downregulating lycopene epsilon cyclase. *Transgenic Research*, 17, 573–585.

Zhu, S (2011) Effects of NaCl stress on seed germination, early seedling growth and physiological characteristics of cauliflower (*Brassica oleracea L. var. botrytis L.*). *African Journal of Biotechnology*, 10, 17940-17947.

6. SAŽETAK

Porodica kupusnjača vrlo je raznolika skupina biljaka, s brojnim varijetetima unutar samih vrsta. Svaka jedinka prilagodila se okolišu u kojem živi uz pomoć posebnih kemijskih spojeva – specijaliziranih metabolita koji svojim fluktuacijama omogućavaju biljkama preživljavanje u stresnim uvjetima. Do sada, najbolje istraženi specijalizirani metaboliti porodice *Brassicaceae* su glukozinolati. U kupusu u uvjetima povećane koncentracije soli i za vrijeme suše povećava se količina glukozinolata. Povećani salinitet povećao je udio klorofila *a* i *b* u kelju, za razliku od ksantofila i karotena čiji udio se smanjio. Kelj pupčar u sušnom razdoblju ima povećane koncentracije nekoliko glukozinolata, kao i količinu ugljikovog izotopa ¹³C. U brokuli je za porast glukozinolata odgovorna povećana insolacija, nedostatak vode i dovoljan pristup dušiku, dok selenij snižava njihovu količinu. Vitamini C i E, karotenoidi te flavonoid kempferol dobri su indikatori promjena u okolišu u brokuli. Cvjetača u suhim razdobljima pokazuje povećanu koncentraciju glukozinolata i karotenoida. Rotkvici odgovara veća globalna radijacija i salinitet za proizvodnju indolnih glukozinolata. Repa dobro podnosi više temperature i suha razdoblja zahvaljujući većoj produkciji glukozinolata, dok ih smanjena insolacija snižava. Ovi podaci ukazuju na izuzetnu prilagodljivost kupusnjača promjenama u okolišu, kao i mogućnost manipulacije sadržajem njihovih bioaktivnih spojeva upotrebom određenih vanjskih čimbenika.

7. SUMMARY

The *Brassicaceae* family is a highly diverse group of plants with numerous varieties among its species. Each individual has adapted to the environment with the help of specific chemical compounds - plant specialized metabolites, whose fluctuations ensure the survival under adverse stress conditions. The most researched metabolites inherent to the *Brassicaceae* family are glucosinolates. During exposure to either elevated salt concentrations or drought, glucosinolates in white cabbage increase rapidly. Greater salinity affects positively the concentration of chlorophylls *a* and *b* in Savoy cabbage as opposed to decreased amount of xanthophylls and carotenes under those conditions. Brussel sprouts response to the drought by increasing the concentration of several glucosinolates as well as stable carbon isotope ¹³C. Greater insolation, decreased water level and nitrogen supplementation increased the concentration of glucosinolates in broccoli. Vitamins C and E, carotenoids and the flavonoid kaempferol are excellent indicators of environmental stress in broccoli. Cauliflower increases

the concentrations of glucosinolates and carotenoids in period of drought. Higher insolation and salinity induces the production of indolic glucosinolates in radish. Turnip tolerates higher temperatures and droughts stress due to increased amount of glucosinolates, but they rapidly decrease when the exposure to light is insufficient. These data indicate that cruciferous vegetables are extremely adaptive to abiotic stresses, which leads to conclusion that by applying the right exogenous factors, it could be possible to manipulate the concentration of their bioactive compounds.