

Lucyna Drozdowska

Katedra Fizjologii Roślin, Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy

Rola biologiczna glukozynolanów

925

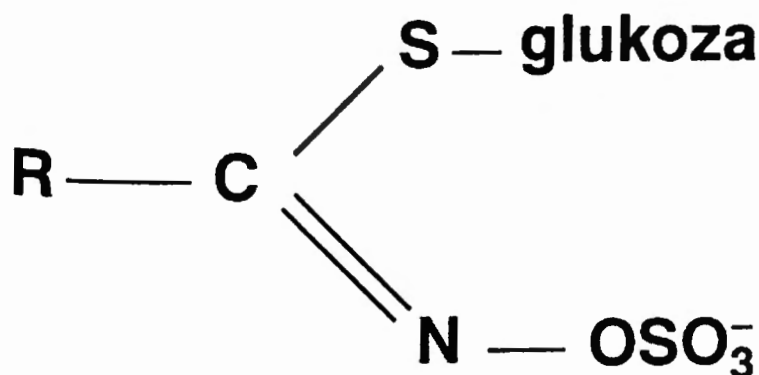
Glukozynolany, związki zawierające siarkę, są wtórnymi produktami przemiany materii u roślin. Metabolity wtórne wywodzą się z substancji pierwotnych i powstają drogą niezależnych od metabolizmu podstawowego szlaków biosyntetycznych. Przesunięcie aktywności metabolicznej z normalnych szlaków przemian na tory wiodące do tworzenia substancji swoistych jest uwarunkowane genetycznie i z tego względu występowanie tych metabolitów ograniczone jest do określonych grup taksonomicznych roślin. Obecność glukozynolanów stwierdzono u 15 rodzin należących do klasy dwuliściennych, w tym u roślin z rodziny *Brassicaceae* [18, 21].

Glukozynolany są substancjami nietoksycznymi, natomiast produkty ich enzymatycznego rozkładu są związkami aktywnymi biologicznie. Pełnią one różne funkcje zarówno w metabolizmie rośliny, jak i we wzajemnym oddziaływaniu między roślinami zawierającymi te związki a ich szkodnikami, patogenami i symbiontami [10, 13, 18].

Glukozynolany — struktura, biosynteza, hydroliza i występowanie

Glukozynolany rodzaju *Brassica*, których ogólny wzór przedstawiono na rysunku 1, można podzielić na trzy klasy w zależności od budowy łańcucha bocznego (R):

1. posiadające łańcuch boczny z alifatycznymi lub hydroksylowymi grupami alkenylowymi, pochodne metioniny,
2. posiadające łańcuch boczny z grupą indolową, pochodne tryptofanu,



Rysunek 1. Wzór strukturalny glukozynolanów

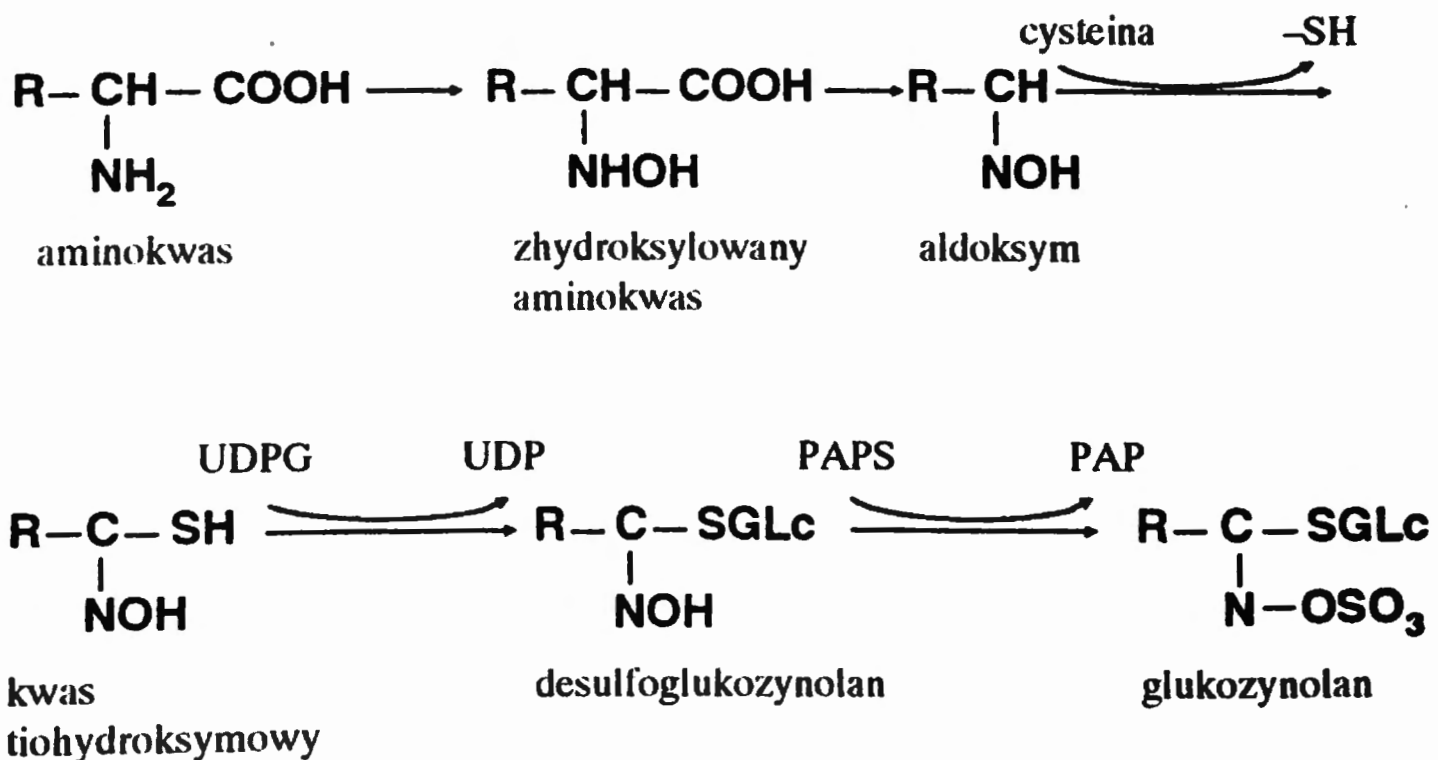
3. posiadające łańcuch boczny z grupą aralkilową, pochodne fenyloalaniny [15, 21].

Biosynteza glukozynolanów zachodzi zgodnie ze schematem przedstawionym na rysunku 2. Możliwe są również przekształcenia glukozynolanów poprzez ich hydroksylację, oksydację lub eliminację grup H_3CS^- [12].

Ze względu na znaczenie rolnicze oraz prace badawcze nad glukozynolanami, najważniejszym gatunkiem w tej grupie roślin jest rzepak [1]. W nasionach rzepaku, w największych ilościach, występują progoitryna, glukonapina i glukobrassicapina (glukozynolany alkenylowe) oraz 4-OH-glukobrassicyna (glukozynolan indolowy) [12].

W ontogenezie rzepaku glukozynolany są syntetyzowane w tkankach wegetatywnych oraz tkankach łuszczyń, a podczas embriogenezy nagromadzają się w nasionach. Różnice w zawartości i składzie glukozynolanów w organach wegetatywnych i nasionach wskazują, że do części generatywnych transportowane mogą być enzymy uczestniczące w biosyntezie glukozynolanów, RNA kodujący syntezę tych enzymów lub prekursorzy glukozynolanów [7]. Z kolei obecność w nasionach specyficznych dlań glukozynolanów (np. progoitryna) wskazuje również na możliwość ich syntezy *in situ*. Większość glukozynolanów obecnych w nasionach zlokalizowana jest w zarodkach. Akumulacja glukozynolanów *in situ* rozpoczyna się kilka dni po zapłodnieniu, związana jest z aktywną fazą wzrostu nasion i uwarunkowana czynnikami środowiska i czynnikami fizjologicznymi rośliny [5, 6, 16].

Występowanie glukozynolanów w roślinach związane jest z obecnością enzymu myrozynazy. Zlokalizowany jest on w specjalnych komórkach, zwanych komórkami myrozynazowymi (idioblasty), a badania immunocytochemiczne wykazały obecność myrozynazy w membranach otaczających ziarna myrozynowe [20]. Aktywność my-



Rysunek 2. Hipotetyczny schemat biosyntezy glukozynolanów

rozynazy stwierdzono również w komórkach szparkowych, komórkach ksylemu i łośczyn, w których nie występują ziarna myrozynowe [4, 8, 9]. Myrozynaza katalizuje hydrolizę glukozynolanów (w zależności od substratu i pH) do izotiocyanianów, nitryli lub tiocyanianów (związki biologicznie czynne) oraz glukozy i siarczanów. Glukozynolany posiadające indolowy łańcuch boczny również tworzą izotiocyaniany, które rozpadają się odpowiednio do alkoholowych produktów i jonów tiocyanianowych. Alkohol może reagować z kwasem askorbinowym, w wyniku czego powstaje askorbigen. Przemiany izotiocyanianów prowadzą do powstania fitoaleksyn, a z nitrylowych pochodnych tworzy się kwas 3-indoliloctowy [14, 21]. Podczas gdy w idioblastach i komórkach szparkowych aktywność enzymu zależy od uszkodzenia mechanicznego, w pozostałych przypadkach możliwa jest endogenna regulacja aktywności myrozynazy [18].

U rodzaju *Brassica* glukozynolany występują w największych ilościach w nasionach, młodych siewkach i pierwotnych tkankach merystematycznych. Ich zawartość w nasionach może przekraczać 5% powietrznie suchej masy, natomiast w częściach zielonych jest mniejsza niż 0,1% [17]. W organach wegetatywnych rzepaku dominują glukozynolany indolowe, podczas gdy w nasionach — glukozynolany alkenylowe [15, 18]. Redukcja glukozynolanów drogą hodowlaną dotyczyła głównie zmniejszenia zawartości glukozynolanów alkenylowych w nasionach. W organach wegetatywnych odmian tradycyjnych i ulepszonych ilość tych związków nie uległa zmianie. Niemniej — w obrębie nowych linii i odmian rzepaku — istnieje zmienność w zawartości tych związków, która może być powodem różnic w podatności na choroby i szkodniki [13].

Rola glukozynolanów w metabolizmie rośliny

Rola, jaką pełnią glukozynolany w organizmie roślinnym, nie jest w pełni wyjaśniona. Wykazano jednak, iż podczas ontogenezy skład jakościowy i ilościowy glukozynolanów w tkankach rzepaku ulega dynamicznym zmianom [4, 5, 10]. Gwałtowny katabolizm glukozynolanów w kiełkujących nasionach i bardzo młodych siewkach jest dowodem, iż stanowią one dla rozwijającej się rośliny źródło azotu, węgla, a przede wszystkim siarki. Kiedy siewki osiągną zdolność do fotosyntezy i ich biomasa wzrasta, rozpoczyna się akumulacja glukozynolanów, przy czym w pędach jest ona nieco większa niż w korzeniach. Z chwilą przejścia roślin do fazy generatywnej zawartość glukozynolanów w organach wegetatywnych roślin zaczyna się zmniejszać. Związane jest to z zapotrzebowaniem roślin na siarkę, szczególnie dużym u rzepaku w okresie kwitnienia [5]. Inny przykład możliwości wykorzystania siarki glukozynolanowej w metabolizmie pierwotnym rzepaku dostarczają prace Schnuga [18]. Wykazał on, iż podczas niedoboru siarki w glebie zwiększa się aktywność

myrozynazy w liściach rzepaku z równoczesnym zmniejszeniem zawartości glukozynolanów.

Z kolei glukozynolany indolowe u *Brassica* mogą być alternatywną drogą do produkcji auksyn. Zwiększona aktywność auksynowa przejawia się nienormalnym wzrostem, skręcaniem liści, tworzeniem galasów i jest odpowiedzią rośliny na ataki patogenów. Odpowiedzią rośliny na działanie biotycznych i abiotycznych czynników stresowych jest również tworzenie fitoaleksyn, które powstają z nitrylowych pochodnych glukozynolanów indolowych [13, 14, 15].

Glukozynolany są również inhibitorami kiełkowania nasion, a ich obecność w glebie powoduje znaczną redukcję systemu korzeniowego rzepaku. Te allelopatyczne właściwości przypisuje się szczególnie produktom rozpadu glukozynolanów indolowych, z których może tworzyć się kwas 3-indoliloctowy. Natomiast izotiocyaniany allylowe, które również mogą przedostawać się do gleby i przez dłuższy czas w niej pozostawać, nie mają istotnego wpływu na rośliny.

Glukozynolany a zależności między patogenami i szkodnikami

Biologiczna rola glukozynolanów lub produktów ich hydrolizy związana jest z interakcjami między roślinami krzyżowymi a ich szkodnikami, patogenami, konkurentami i symbiontami [18, 19]. Pośrednią drogą do jej poznania są badania *in vitro*. W ten sposób próbowano określić korelacje między zawartością glukozynolanów w roślinach a oddziaływaniem roślin na patogeny grzybowe i owady. Stwierdzono m.in., że produkty hydrolizy takich glukozynolanów, jak sinigrina, glukonapina, glukobrassicapina i glukonasturcyna, hamowały *in vitro* wzrost grzybów *Phoma lingam* i *Sclerotinia sclerotiorum*, natomiast wpływ progoitryny był nieznaczący [19]. Są również dane o toksyczności produktów hydrolizy glukozynolanów indolowych [14].

Badania *in vivo* prowadzone na rzepaku wykazały, że infekcja grzybem *Alternaria brassicae* może spowodować chwilową akumulację glukozynolanów w liściach [3]. Z kolei w odniesieniu do *Leptosphaeria maculans* nie wykazano akumulacji glukozynolanów w liściach syntetycznych linii rzepaku na skutek infekcji. Przeciwnie, zawartość glukozynolanów w czasie od inokulacji do wystąpienia symptomów choroby zmniejszała się [15].

W obrębie rodzaju *Brassica* odporność na choroby grzybowe jest zróżnicowana. Wyższa odporność na *Phoma lingam* *Brassica campestris* i *Brassica oleracea* — w porównaniu z *Brassica napus* — jest prawdopodobnie wynikiem nie tylko różnic ilościowych w zawartości glukozynolanów, ale również ich różnic jakościowych. Sugeruje się, że również odporność dzikich gatunków rodzaju *Brassica* związana jest

z dużą zawartością glukozynolanów alkenylowych w liściach i wykazano, że cecha odporności może być przeniesiona do syntetycznych linii rzepaku [1, 15].

Są również prace, w których autorzy nie obserwowali wpływu glukozynolanów na rozwój patogenów grzybowych bądź sugerują, iż nie są one bezpośrednio włączone w mechanizm odporności [2, 10, 13]. Wydaje się więc, że redukcja ilości glukozynolanów osłabia, ale nie eliminuje odporności rzepaku na choroby grzybowe. Tym bardziej iż w tkankach wegetatywnych, które są głównie atakowane, zawartość glukozynolanów u odmian tradycyjnych i 00 jest zbliżona i znacznie mniejsza niż w nasionach [10].

Na ostatnim Kongresie Rzepakowym prezentowane były badania, z których wynikało jednak, iż glukozynolany występujące w zielonych częściach rzepaku mają silne właściwości antygrzybowe. Skłania to hodowców do poszukiwania form rzepaku o małej zawartości glukozynolanów w nasionach i dużej w liściach [1].

Spora grupa owadów przystosowała się do obecności glukozynolanów, które odgrywają istotną rolę w procesie poszukiwania pokarmu i najodpowiedniejszych miejsc do składania jaj. Zostało to stwierdzone dla takich szkodników rzepaku, jak pchełki ziemne, chowacze, pryszczarek kapustnik, *Pierris brassicae* (larwy) i to zarówno w doświadczeniach polowych, jak i laboratoryjnych. Podobnie jak w badaniach z oddziaływaniem glukozynolanów na patogeny, sinigrina była najbardziej efektywnym atraktantem, progoitryna — główny glukozynolan rzepakowy — była znacznie mniej efektywna w przyciąganiu owadów, a glukozynolan indolowy — glukobrassicyna — prawie nie miał wpływu. Są też dane o śmiertelności jaj niektórych owadów, powodowanej przez izotiocyaniany allylowy, butenylowy, a zwłaszcza fenyloetylowy [19].

W liściach i ogonkach liściowych zaatakowanych roślin stwierdzono znaczne zwiększenie zawartości glukobrassicyny i neoglukobrassicyny [11]. Stwierdzono również, iż larwy owadów preferowały tkanki młode, co też związane było z większą zawartością glukozynolanów indolowych.

Wprowadzenie do upraw odmian dwuzerowych stworzyło nową sytuację ekologiczną, która może spowodować zmiany w zależnościach roślina — szkodnik. Zmiany te mogą być z jednej strony korzystne dla ochrony rzepaku, zmniejszając zagrożenie ze strony szkodników "specjalizantów", z drugiej zaś — mogą spowodować nowe zagrożenie ze strony szkodników z innych grup systematycznych, które w procesie koewolucji z roślinami nie przełamały obronnej bariery, jaką stanowią glukozynolany.

Schnug [18] prezentuje pogląd, iż biologiczna rola glukozynolanów wiąże się również z tym, iż stanowią one zapas siarki. Remobilizacja siarki poprzez enzymatyczną hydrolizę jest możliwa tylko z glukozynolanów, a nie z produktów pośrednich, które występują w dużych ilościach u odmian 00. Dlatego też zmniejszanie zawartości glukozynolanów drogą hodowlaną może obniżyć witalną siłę roślin, a zmniejszony wigor — być powodem infekcji i ataków przez szkodniki. Ponieważ jednak odporność jest dynamicznym mechanizmem wieloskładnikowym, eliminacja pojedynczego składnika może osłabić, ale niekoniecznie wyeliminować odporność [2].

Antyżywniowe efekty glukozynolanów

Obecność glukozynolanów w śrucie rzepakowej ogranicza jej wykorzystanie jako paszy w żywieniu zwierząt, zwłaszcza nieprzeżuwających. Izotiocyaniany nadają śrucie ostry zapach i specyficzny smak, a nitryle mogą powodować zmiany w nerkach i wątrobie. Winylooksazolidyntion — produkt hydrolizy progoitryny, ogranicza wychwytywanie jodu z krwi i hamuje reakcje jodowania tyrozyny, powodując niedoczynność tarczycy [13]. Jony tiocyjanianowe, powstające głównie w wyniku hydrolizy glukozynolanów indolowych, mają również właściwości goitrogenne, a pochodne indolowe inaktywują enzymy wątroby. Próby żywieniowe wykazały, że produkty rozpadu 4-OH-glukobrassicyny są porównywalne pod względem szkodliwości dla zwierząt z innymi glukozynolanami. Glukozynolany mogą stanowić również pewne zagrożenie dla człowieka z uwagi na przechodzenie jonu tiocyjanianowego do mleka i jego występowanie w jajach kurzych [14].

Dziko żyjące zwierzęta roślinożerne, dla których uprawy rzepaku są często źródłem pokarmu, wykazują symptomy chorób takich, jak śpiączka rzepakowa bądź anemia hemolityczna. Powodują to zarówno uwalniające się w trakcie uszkodzenia tkanek izotiocyaniany, jak i obecny w liściach sulfotlenek S-metylocysteiny. Nie wykazano różnic w preferowaniu przez te zwierzęta odmian nisko- i wysokoglukozynolanowych, jednak w obrębie podwójnie ulepszonych linii hodowlanych spotyka się linie bardziej podatne na uszkodzenia przez zwierzęta i ptaki [15].

Regulacja przemian glukozynolanów w roślinach rodziny *Brassicaceae* i ich biologiczna rola są przedmiotem intensywnych badań w związku z wprowadzaniem do uprawy odmian podwójnie ulepszonych. Wyniki tych badań są niejednokrotnie kontrowersyjne, wydaje się jednak, iż glukozynolany stanowią pewien mechanizm obrony chemicznej roślin krzyżowych przed patogenami i szkodnikami oraz że odgrywają ważną rolę w metabolizmie tych roślin.

Literatura

- [1] Bartkowiak Broda I., Krzymański J. 1992. Kierunki badań nad rzepakiem na świecie. *Hodowla Roślin, Nasien.* 5: 9–14.
- [2] Bell A.A. 1981. Biochemical mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 32: 21–81.
- [3] Doughty K.J., Porter A.J.R., Morton A.M., Kiddle G., Bock C.H., Wallsgrove R. 1991. Variation in the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. II. Response to infection by *Alternaria brassicae* (Berk.). *Ann. Appl. Biol.* 118: 469–477.
- [4] Drozdowska L. 1992. Glukozynolany i ich metabolizm u rzepaku w kulturach *in vitro* i *in vivo*. Rozprawy 55. ATR Bydgoszcz: 1–71.
- [5] Fieldsend J.K., Murray F.E., Bilsborrow P.E., Milford G.F.J., Evans E.J. 1991. Glucosinolate accumulation during seed development in winter sown oilseed rape. Proc. 8th Int. Rapeseed Congress, Saskatoon, Saskatchewan, Canada: 689–694.

- [6] Gijzen M., McGregor D.I., Seguin-Swartz G. 1989. Glucosinolate uptake by developing rapeseed embryos. *Plant Physiol.* **89**: 260–263.
- [7] Haughn G.W., Davin L., Giblin M., Underhill E.W. 1991. Biochemical genetics of plant secondary metabolites in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* **97**: 217–226.
- [8] Höglund A.S., Lenman M., Falk A., Rask L. 1991. Distribution of myrosinase in rapeseed tissues. *Plant Physiol.* **95**: 213–221.
- [9] Iversen T.H., Baggerud C., Beisvag T. 1979. Myrosin cells in Brassicaceae roots. *Z. Pflanzenphysiol.* **94**: 143–154.
- [10] Kachlicki P. 1990. Glukozynolany i inne związki niskocząsteczkowe specyficzne dla rodzaju *Brassica*. Występowanie, właściwości i rola w metabolizmie roślin. *Rośliny Oleiste — Wyniki Badań 1989*. IHAR. 65–74.
- [11] Koritsas V.M., Lewis J.A., Fenwick G.R. 1991. Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Ann. Appl. Biol.* **118**: 209–221.
- [12] Kräling K., Röbbelen G., Thies W., Herrmann M., Ahmadi M.R. 1990. Variation of seed glucosinolates in lines of *Brassica napus*. *Plant Breeding.* **105**: 33–39.
- [13] Larsen P.O. 1981. Glucosinolates. W: *The Biochemistry of Plants*. Wyd. Stumpf P.K., Conn E.E. Academic Press, New York: 502–525.
- [14] McDannell R., McLean A.E.M., Hanley A.B., Heaney R.K., Fenwick G.R. 1988. Chemical and biological properties of indole glucosinolates (glucobrassicins). *A Review Food Chem. Toxic.* **26**: 59–70.
- [15] Mithen R. 1992. Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica* **63**: 71–83.
- [16] Rogozińska J., Drozdowska L. 1988. Kultury in vitro rzepaku i ich zastosowanie w badaniach nad metabolizmem glukozynolanów. *Postępy Nauk Rolniczych.* **1–2**: 39–46.
- [17] Sang J.P., Minchinton J.R., Johnstone P.K., Truscott R.J.W. 1984. Glucosinolate profiles in the seed, root and leaf tissue of cabbage, mustard, rapeseed, radish and swede. *Can. J. Plant Sci.* **64**: 77–93.
- [18] Schnug E. 1990. Glucosinolates — fundamental, environmental and agricultural aspects. W: *Sulphur Nutrition and Sulphur Assimilation in Higher Plants*. Wyd. Rennenberg i in. SPB Acad. Publ. The Hague. 97–106.
- [19] Schnug E., Ceynowa J. 1990. Phytopathological aspects of glucosinolates in oilseed rape. *J. Agronom. Crop Sci.* **165**: 319–328.
- [20] Thangstad O.P., Iversen T.H., Slupphaug G., Bones A. 1990. Immunocytochemical localization of myrosinase in *Brassica napus* L. *Planta* **180**: 245–248.
- [21] Underhill E.W. 1980. Glucosinolates. W: *Encyclopedia of Plant Physiology. Secondary Plant Products*. Wyd. Bell E.A. Charlwood B.V. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York. **8**: 493–511.