

Ово дело је заштићено лиценцом Креативне заједнице Ауторство – некомерцијално – без прерада¹.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.



¹ Опис лиценци Креативне заједнице доступан је на адреси creativecommons.org.rs/?page_id=74.

"Сва права задржава издавач. Забрањена је свака употреба или трансформација електронског документа осим оних који су експлицитно дозвољени Creative Commons лиценцом која је наведена на почетку публикације."

"Sva prava zadržava izdavač. Zabranjena je svaka upotreba ili transformacija elektronskog dokumenta osim onih koji su eksplicitno dozvoljeni Creative Commons licencom koja je navedena na početku publikacije."



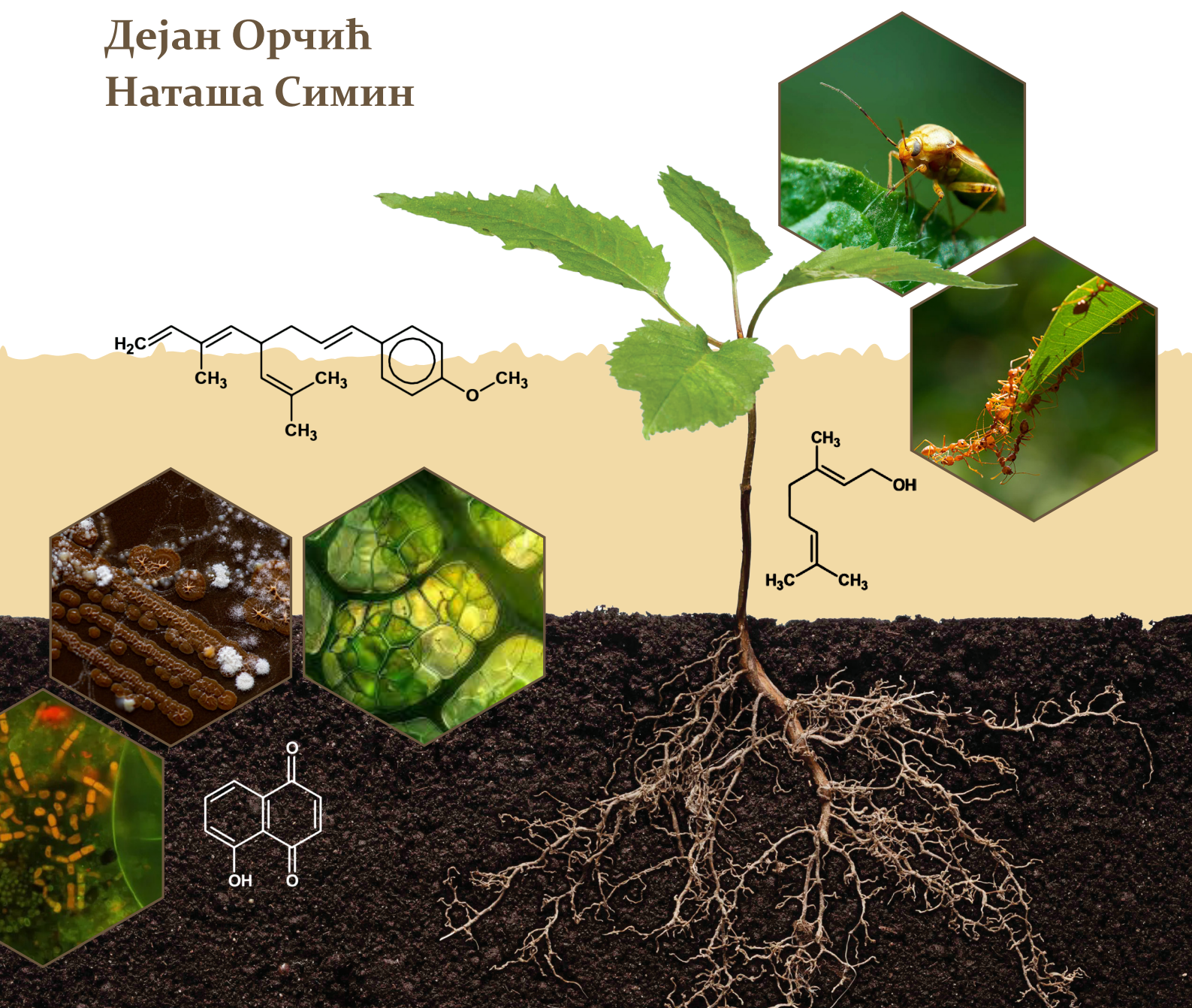
УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ
ФАКУЛТЕТ

Департман за хемију, биохемију
и заштиту животне средине



Еколошка биохемија

Дејан Орчић
Наташа Симин





УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ
ФАКУЛТЕТ
Департман за хемију,
биохемију и заштиту животне
средине



Еколошка биохемија

ДЕЈАН ОРЧИЋ
НАТАША СИМИН

Нови Сад, 2024.

Назив уџбеника: Еколошка биохемија

Аутори: др Дејан Орчић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду

др Наташа Симин, ванредни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду

Рецензенти: др Борис Поповић, редовни професор Пољопривредног факултета у Универзитета у Новом Саду

др Милан Боришев, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду

Издавач: Природно-математички факултет, Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Трг Доситеја Обрадовића 3, 21000 Нови Сад, Србија

Главни и одговорни уредник: др Срђан Рончевић, редовни професор и декан Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду

ISBN ISBN-978-86-7031-710-9

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотеке Матице српске, Нови Сад

577.1:502(075.8)

ОРЧИЋ, Дејан, 1980-

Еколошка биохемија [Електронски извор] / Дејан Орчић, Наташа Симин.
- Нови Сад : Природно-математички факултет, Департман за хемију,
биохемију и заштиту животне средине, 2024

Начин приступа (URL):

https://www.pmf.uns.ac.rs/studije/epublikacije/hemija/orcic_simin_ekoloska_biohemija.pdf. - Опис заснован на стању на дан 20.12.2024. - Библиографија.

ISBN 978-86-7031-710-9

1. Симин, Наташа, 1975-
а) Еколошка биохемија

COBISS.SR-ID 159728393

Предговор

Уџбеник *Еколошка биохемија* осмишљен је као основна литература за истоимени изборни предмет на Основним академским студијама биохемије на Природно-математичком факултету Универзитета у Новом Саду. Његов садржај у потпуности је усклађен са актуелним акредитованим програмом овог предмета.

Еколошка биохемија је савремена, интердисциплинарна наука која проучава улогу биомолекула у међусобним односима организама у природи и њиховом прилагођавању на променљиве услове животне средине. Знања из ове области имају широку примену у пољопривреди, медицини, заштити животне средине и очувању биодиверзитета.

Аутори овог уџбеника, др Дејан Орчић и др Наташа Симин, дугогодишњи су предметни наставници на курсу *Еколошка биохемија*. Др Орчић, редовни професор на ПМФУНС, експерт је за хроматографске технике и изолацију природних производа из биљака, док је др Симин, ванредни професор на истом факултету, посвећена истраживању биолошки активних једињења из лековитих и јестивих биљака, као и развоју иновативних фитопрепарата.

Да ли сте се икада питали:

1. Како биљке и животиње успевају да приживе у стресним условима животне средине, као што су екстремно ниске или високе температуре, недостатак воде, токсично земљиште?
2. Како биљке комуницирају „хемијским језиком“?
3. Зашто неке биљке дозвољавају другим, паразитским биљкама да се на њима настане?
4. Шта су и како делују отрови медуза, змија и паукова?
5. Како феромони омогућавају савршену организацију друштвених инсеката попут мрава и пчела?

Одговори на ова, као и на многа друга питања, налазе се у овом уџбенику. Аутори су се ослањали на актуелну и признату научну и стручну литературу, али су настојали да текст учине јасним и приступачним, уз употребу бројних илустрација, које помажу у разумевању сложених природних феномена.

Осим за студенте биохемије, *„Еколошка биохемија“* може бити корисна и за студенте хемије, екологије, биологије, пољопривреде и других сродних дисциплина. Такође, може бити и полазна тачка за научнике за даља истраживања у овој узбудљивој области.

Аутори

Садржај

1. Увод у еколошку биохемију	1
1.1 Предмет еколошке биохемије	1
1.2 Врсте биомолекула који учествују у еколошким интеракцијама	4
2. Прилагођавање на абиотичке факторе у животној средини	9
2.1. Абиотички фактори.....	9
2.2. Адаптација фотосинтезе код тропских биљака.....	11
2.3. Адаптација на ниске температуре	20
2.4. Адаптација на високе температуре	26
2.5. Адаптација на поплаве	30
2.6. Адаптација на сушу.....	37
2.7. Адаптација на квалитет земљишта	40
2.8. Адаптација на антропогене факторе.....	49
3. Биохемијске основе полинације	53
3.1. Биологија полинације и оплодње	53
3.2. Биохемијски аспекти полинације	58
3.2.1. Боја цвета.....	58
3.2.2. Преференције опрашивача према боји цвета	67
3.2.3. Еволуција цветних пигмената.....	69
3.2.4. Мирис цвета и преференције опрашивача	73
3.2.5. Улога нектара	80
3.2.6. Нутритивна вредност полена	83
4. Одбрана биљака од хербивора.....	85
4.1. Биљни токсини	86
4.1.1. Токсини са азотом	88
4.1.2. Токсини без азота	104
4.1.3. Механизми детоксикације код животиња.....	117
5. Фагоатрактанти и фагорепеленти	120
5.1. Фактори који утичу на избор хране код инсеката	121
5.1.1. Нутритивна вредност биљне хране	121
5.1.2. Фагорепеленти инсеката.....	122
5.1.3. Фагоатрактанти инсеката	129
5.2. Фактори који утичу на избор хране код хербиворних кичмењака	138
6. Интеракције између виших биљака.....	154
6.1. Компетиција између биљака на истом станишту	154
6.2. Интеракције између паразитских биљака и њихових домаћина	168
6.2.1. Индуцери клијања семена паразитских биљака	170
6.2.2. Индуцери формирања хаусторијума	171
6.3. Комуникација између биљака	174
7. Фитохемикалије као хормони и феромони животиња.....	180
7.1. Фитохемикалије као хормони животиња.....	180
7.1.1. Фитохемикалије са хормонском активношћу код сисара	182
7.1.2. Фитохемикалије са хормонском активношћу код инсеката.....	188

7.2. Фитохемикалије као феромони инсеката или модулатори феромонске и хормонске активности	198
8. Комуникација животиња путем феромона	204
8.1. Феромони инсеката	207
8.1.1. Сексуални феромони инсеката	208
8.1.2. Феромони маркирања путање	211
8.1.3. Алармни феромони	213
8.1.4. Феромони препознавања	216
8.2. Феромони водених животиња	217
8.3. Феромони осталих животиња и човека	219
9. Хемијска одбрана животиња	227
9.1. Токсини жарњака	229
9.2. Токсини мекушаца	232
9.3. Токсини зглавкара	235
9.3.1. Изопреноиди	236
9.3.2. Алкалоиди	240
9.3.3. Феноли	242
9.3.4. Пептидни и протеински токсини	244
9.4. Токсини риба	248
9.5. Токсини водоземаца	250
9.6. Токсини гмизаваца	253
9.7. Токсини птица и сисара	255
10. Методе у еколошкој биохемији	259
10.1. Опште технике узорковања	259
10.1.2. Узорковања испарљивих једињења	260
10.1.3. Узорковање земљишта	263
10.2. Специфичне технике узорковања и анализе	264
10.2.1. Узорковање етарских уља биљака	264
10.2.2. <i>Headspace</i> узорковање испарљивих једињења биљака	267
10.2.3. Испитивање излучевина биљака	268
10.2.4. Испитивање алелопатије	269
10.2.5. Испитивање фагоатрактантног и фагорепелентног дејства	272
10.2.6. Испитивање феромона	274
10.2.7. Узорковање животињских отрова	277
11. Извори слика	279
12. Литература	

УВОД У ЕКОЛОШКУ БИОХЕМИЈУ

01

1.1. ПРЕДМЕТ ЕКОЛОШКЕ БИОХЕМИЈЕ

Еколошка биохемија, позната и као **хемијска екологија**, је интердисциплинарна наука која се развила у другој половини XX века. Ова наука се бави биохемијом сложених интеракција између живих бића – биљака, животиња и микроорганизама – и њихове животне средине.

Еколошка биохемија води порекло из две научне дисциплине – екологије и биохемије – које се разликују по приступу истраживању и по скали на којој посматрају природне појаве. **Екологија** је биолошка дисциплина која проучава узајамне односе живих бића, као и односе живих бића и њихове животне средине, и то на макро нивоу. Она се претежно ослања само на посматрање организама у њиховом природном хабитату. С друге стране, **биохемија** је експериментална наука, која проучава интеракције између живих бића и њихове околине на молекулском и супрамолекулском нивоу. Комбинација приступа ове две науке омогућила је значајан напредак у разумевању односа у екосистемима и довела до низа нових сазнања. С једне стране, развој бројних аналитичких техника за идентификацију и квантификацију малих количина природних производа, као и биохемијских метода за испитивање њихове биолошке активности, значајно је допринео разумевању механизма интеракција између живих организама. С друге стране, екологија је захваљујући овим открићима, по први пут пружила задовољавајуће објашњење за постојање великог броја секундарних биомолекула у живим организмима, идентификујући их као средства за комуникацију са другим актерима у животној средини, адаптацију и аклиматизацију на услове околине или одбрану од предатора.

Треба напоменути да је еколошка биохемија млада наука, те су многе појаве још увек недовољно истражене, многа објашњења нису довољно поткрепљена доказима, а нека су повремено и контроверзна.

Један од кључних аспеката еколошке биохемије је објашњење механизма којима биљке осигуравају преживљавање у неповољним условима животне средине. На пример, биљке су често изложене штетним супстанцама из земљишта, као што су тешки метали или индустријски загађивачи, због чега су морале да развију адаптивне механизме за опстанак. Ови механизми укључују способност детоксификације загађивача или њихову неутрализацију путем специфичних биохемијских реакција, што не само да омогућава биљкама да преживе, већ и да очувају еколошку равнотежу у подручјима у којима расту.

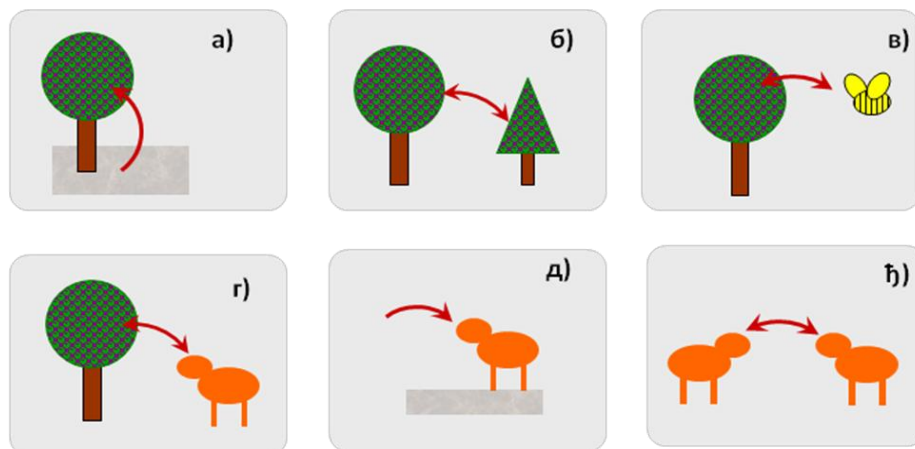
Још једна битна област еколошке биохемије је проучавање одбрамбених механизма биљака, међу којима су различити механизми хемијске одбране од биљоједа. Ови механизми укључују производњу токсичних материја које имају штетно, а некад и смртоносно дејство на хербиворе, због чега их ове животиње избегавају.

Резултати истраживања еколошке биохемије могу имати разноврсне примене, што указује на њихов велики значај. Неке од области у којима имају примену су:

- 1. заштита животне средине** – нпр. приликом развоја стратегија за санацију загађених подручја, као што је фиторемедијација, одређене биљке се користе за уклањање или неутрализацију загађивача из земљишта и воде,
- 2. пољопривреда** – еколошка биохемија омогућава развој нових метода заштите усева од штеточина на природан начин, користећи биљке које производе природне пестициде или привлаче предаторе штетних инсеката, или супстанце које имају репелентно дејство,
- 3. медицина** – откривање нових биолошки активних једињења из биљака, као што су антибиотици или хватачи слободних радикала, може довести до развоја нових лекова,

4. **очување биодиверзитета** – разумевање како одређени организми опстају у специфичним еколошким условима, може помоћи у очувању угрожених врста и њихових станишта,
5. **развој одрживих технологија** – знања из еколошке биохемије доприносе развоју нових биотехнолошких решења, попут биоразградивих материјала, који су дизајнирани тако да се природно разграђују у екосистемима, смањујући тиме проблем отпада и загађења.

У овом уџбенику, биће описано више врста интеракција између живих бића и њихове околине (Слика 1.1.), укључијући адаптацију биљака и животиња на биотичке и абиотичке факторе животне средине, затим интеракције биљака са инсектима (који служе као полинатори, или представљају хербиворе или паразите), интеракције биљака са вишим животињама (хербиворама) или другим биљкама (исте или различите врсте), као и интеракције између животиња. Као што се да приметити, организми који у највећој мери користе хемијска средства за комуникацију са својом околином су биљке. Разлог за то је што су, за разлику од животиња, које су типично мотилне (могу да се активно крећу), биљке сесилни (непокретни) организми и нису у стању да пронађу заклон од неповољних климатских услова, побегну од хербивора или пронађу партнера за размножавање, па стога у те сврхе користе хемијске супстанце.

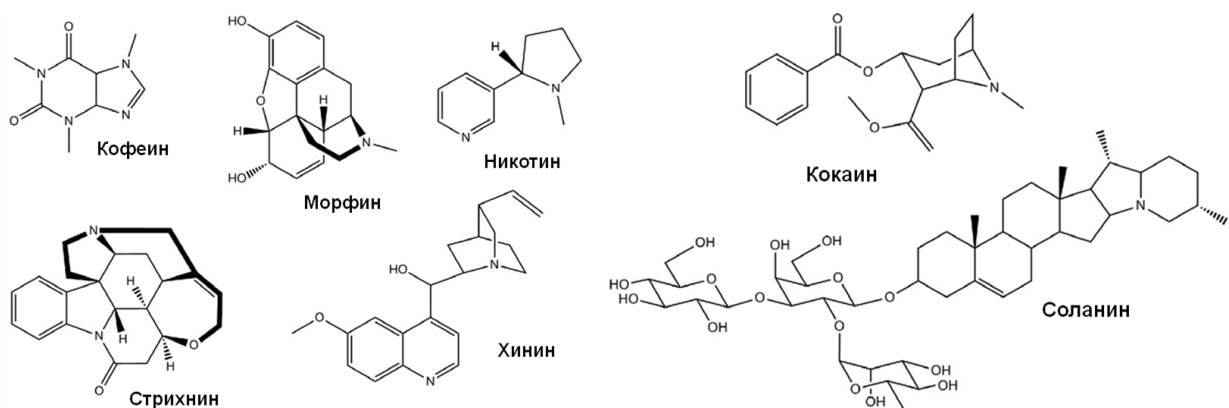


Слика 1.1. Примери интеракција које проучава еколошка биохемија: а) прилагођавање биљака на услове околине, б) интеракције између различитих биљака, в) интеракције између биљака и инсеката, г) интеракције између биљака и виших животиња, д) прилагођавање животиња на услове околине, ђ) интеракције између животиња

1.2. ВРСТЕ БИОМОЛЕКУЛА КОЈИ УЧЕСТВУЈУ У ЕКОЛОШКИМ ИНТЕРАКЦИЈАМА

Главни актери у интеракцијама између организама и њихове околине – еколошким интеракцијама – су секундарни биомолекули. За разлику од примарних биомолекула, у које спадају протеини, угљени хидрати, липиди и нуклеинске киселине, а који су неопходни за одржавање основних животних функција, раст, развој и размножавање, **секундарни биомолекули** (секундарни метаболити) су природни производи који немају директну улогу у примарном метаболизму, али су есенцијални за опстанак врсте у њеном природном окружењу, те многи истраживачи данас преферирају термин **специјализовани биомолекули**. Основне класе секундарних биомолекула су алкалоиди, фенолна једињења и терпеноиди.

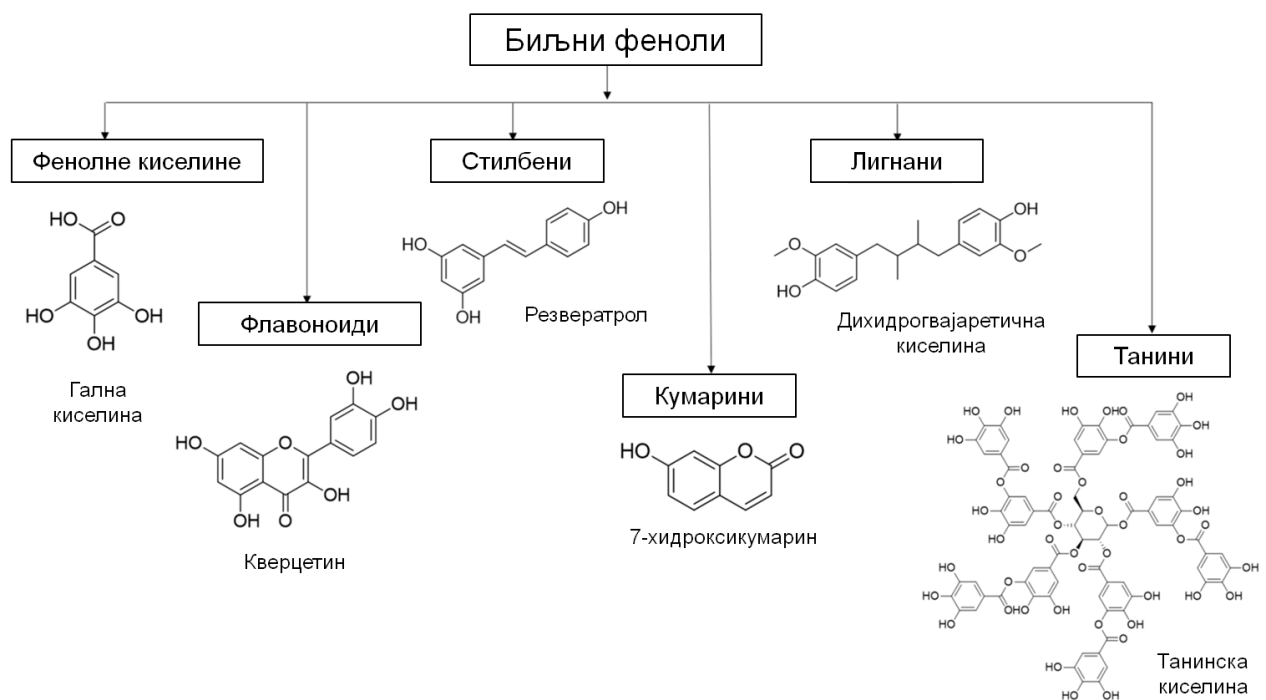
Алкалоиди су велика и хетерогена група сложених органских једињења која садрже азот и обично имају јака физиолошка дејства на живе организме. Често су токсични, због чега служе као одбрамбена једињења биљака против биљоједа. Алкалоиди се могу поделити на класе на основу структуре основног хетероцикличног скелета и биосинтетског порекла. Неке од главних класа алкалоида су: тропански (кокаин), индолни (стрихнин), пурински (кофеин), хинолински (хинин), пиридински (никотин), бензил-тетрахидроизохинолински (морфин) и стероидни алкалоиди (соланин) (Слика 1.2.).



Слика 1.2. Примери структура алкалоида

Фенолна једињења представљају разноврсну и широко распрострањену групу биомолекула коју карактерише присуство фенолног

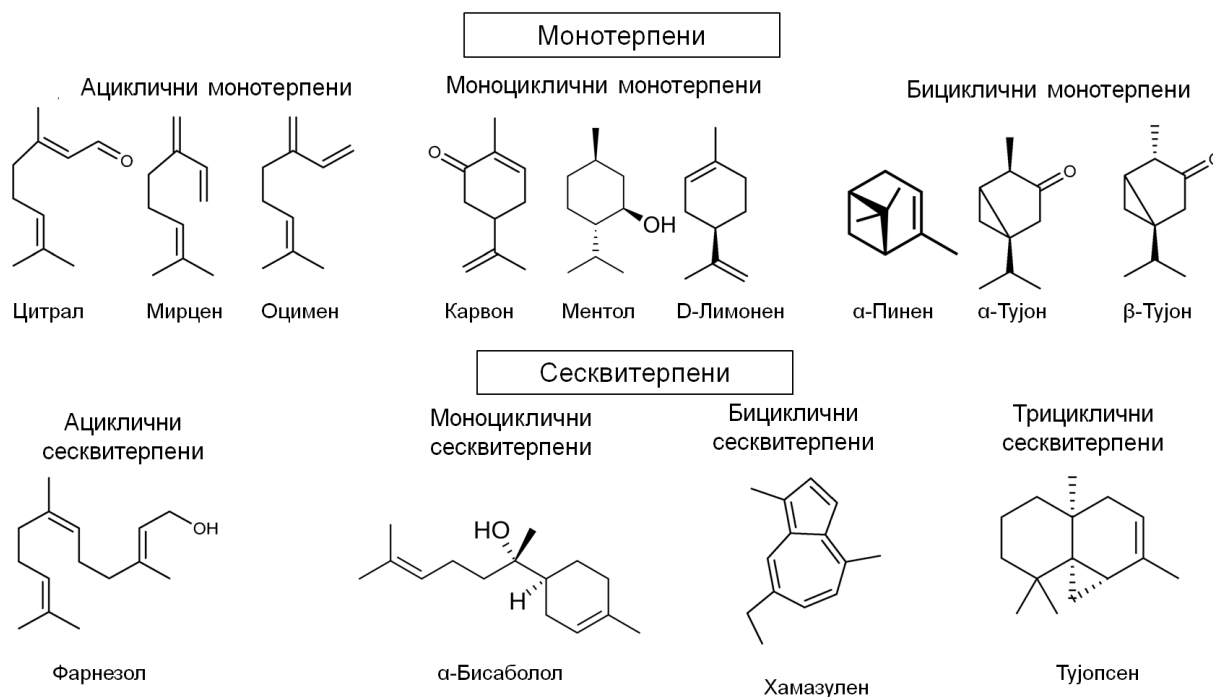
прстена, односно ароматичног прстена са везаном хидроксилном групом, која може бити слободна или модификована (алкилована, ацилована, гликозилована). Оно што је овде занимљиво поменути је да само биљке и микроорганизми имају способност синтезе ароматичног прстена *de novo*. Према структури основног скелета, биљни феноли се могу поделити на више класа. Структуре појединих представника ових класа приказане су на Слици 1.3. Биљни феноли имају важне улоге у заштити биљака од UV зрачења, токсичних слободних радикала и патогена. Такође, одређене групе биљних фенола, као што су антоцијани, имају улогу пигмената у биљкама, због чега су важни у привлачењу опрашивача. Неке друге групе, као што су танини, имају улогу антинутријената – негативно утичу на варење и искористивост хране, због чега биљоједи избегавају да се хране биљкама које садрже ова једињења.



Слика 1.3. Примери представника најпознатијих класа биљних фенола

Терпеноиди, такође познати и као изопреноиди, су велика и разноврсна група органских једињења насталих повезивањем изопренских јединица које имају 5 угљеникових атома. У зависности од броја изопренских јединица које су учествовале у њиховој изградњи деле се на: монотерпене (C_{10}), сесквитерпене (C_{15}) (Слика 1.4.), дитерпене (C_{20}), тритерпене (C_{30}) итд. Терпеноиди су широко распрострањени у природи и

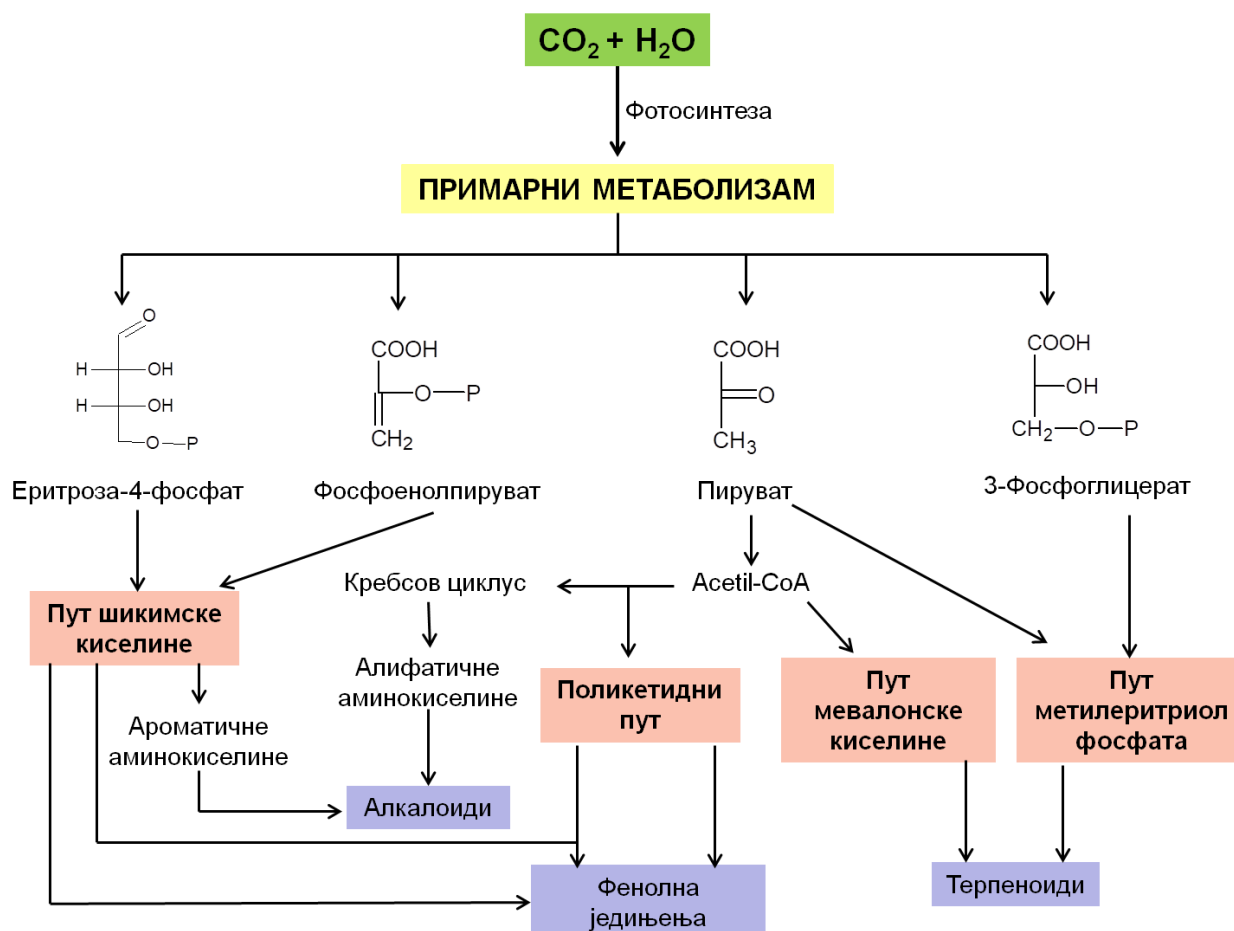
синтетишу се у многим биљкама. Често су одговорни за мирис и, понекад, укус биљака, играју кључне улоге у привлачењу опрашивача, или заштити од биљоједа и патогена.



Слика 1.4. Примери моно- и сесквитерпена

За разлику од примарног метаболизма, који је униформан и универзалан за све организме, путеви синтезе секундарних биомолекула су веома разноврсни и специфични за одређене таксоне организама. Због тога секундарни метаболити укључују много шири спектар молекула разноврсних по својим хемијским структурама. Такође, секундарни метаболизам је високо адаптиван и може се мењати као одговор на промене у окружењу. Управо развој нових путева биосинтезе секундарних биомолекула омогућио је појединим врстама значајну предност у односу на друге врсте у способности преживљавања у променљивим условима животне средине. Тиме су ове врсте стекле еволутивну предност, што им је омогућило да опстану и еволуирају, док су друге врсте, које нису успеле да се прилагоде, изумрле.

Прекурсори за биосинтезу секундарних биомолекула су интермедијери примарног метаболизма (Слика 1.5.).



Слика 1.5. Шематски приказ везе између примарног и секундарног метаболизма

Метаболити примарног метаболизма, као што су еритроза-4-фосфат, фосфоенолпируват, пируват, 3-фосфоглицерат, представљају прекурсоре за биосинтетске путеве секундарног метаболизма (пут шикимске киселине, поликетидни пут, пут мевалонске киселине, пут метилеритриол-фосфата). Комбинацијом ових путева, као и додатним модификацијама основних структура формирају се сви представници секундарних биомолекула – алкалоиди, фенолна једињења и терпеноиди.

Примери секундарних биомолекула који имају улоге у еколошким интеракцијама, и њихове карактеристике приказане су у Табели 1.1.

Поред секундарних биомолекула, и неки примарни биомолекули, као што су **протеини** и **нуклеинске киселине**, могу да имају улогу у еколошким интеракцијама. Тако на пример, протеини инхибитори протеаза могу деловати као антинутријенти и тиме штитити биљку од

биљоједа. Затим, неки протеини који се синтетишу у биљкама или микроорганизмима могу деловати токсично на друге организме, због чега имају одбрамбену функцију или учествују у стратегији напада. Нуклеинске киселине, иако првенствено имају улогу у складиштењу и преносу генетских информација, такође могу имати и еколошку функцију, као што је детекција и одговор на присуство других организама или стресора у околини.

Табела 1.1. Примери секундарних биомолекула са еколошким значајем

Класа	Активност / карактеристика
Терпеноиди	
Монотерпени	пријатан мирис, антимикубно деловање
Сесквитерпенски лактони	неки: горак укус, токсичност, алергено деловање
Дитерпени	неки: токсични
Лимоноиди	горак укус
Кукурбитацини	горак укус, токсични
Каротеноиди	обојени, антиоксиданси
Стероиди	
Сапонини	хемолитици
Карденолиди	горки, токсични
Феноли	
Прости феноли	антимикубно деловање
Флавоноиди	обојени, УВ протектори
Хинони	Антифунгални
Кумарини	обојени, антикоагуланси
Једињења азота	
Алкалоиди	токсични, горки
Амини	многи: одбојног мириса, неки: халуциногени
Непротеиногене АК	многе: токсичне
Цијаногени гликозиди	токсични, гоитрогени, одбојног мириса
Глукозинолати	иританси, гоитрогени, одбојног мириса

Сви биомолекули наведени у овом поглављу омогућавају организмима не само да преживе у промеливим условима животне средине, већ и да активно учествују у сложеним мрежама еколошких интеракција, чиме доприносе стабилности и одрживости екосистема.

АДАПТАЦИЈА НА АБИОТИЧКЕ ФАКТОРЕ У ЖИВОТНОЈ СРЕДИНИ

02

2.1. АБИОТИЧКИ ФАКТОРИ

Фактори којима су живи организми изложени у својој животној средини зову се **еколошки фактори** и могу бити живе (биотички фактори) или неживе природе (абиотички фактори). Ови фактори заједнички делују и одређују услове за живот и развој организама у њиховим природним стаништима. **Биотички фактори** представљају узајамне утицаје живих организама (биљака, животиња, гљива, микроорганизама и човека), док **абиотички фактори** обухватају све небиолошке, односно физичке и хемијске факторе, као што су: климатске одлике (температура, влажност ваздуха, осунчаност, дужина обданице, годишње доба, количина падавина, интензитет и спектар светлости), квалитет земљишта (едафски фактори) и загађење.

Климатски фактори и загађење подједнако утичу на све организме, док едафски фактори највише утичу на раст и развој биљака. Међу едафским факторима, најзначајнији су садржај минерала у земљишту, салинитет, рН вредност, присуство тешких метала и симбиотских микроорганизама. Са повећаном људском активношћу у последњих 200 година (интензивна индустријализација, саобраћај и сл.), количина полутаната као што су озон, индустријски гасови, отпад, издувни гасови и пестициди драматично је порасла, што је довело до појачаног антропогеног утицаја на све организме.

За опстанак и развој биљака у њиховим природним стаништима кључну улогу имају абиотички фактори, јер директно утичу на њихове физиолошке процесе, укључујући фотосинтезу, дисање и метаболизам. Биљке које су способне да се прилагоде варијацијама у абиотичким факторима имају боље шансе за преживљавање, раст и репродукцију. Ове

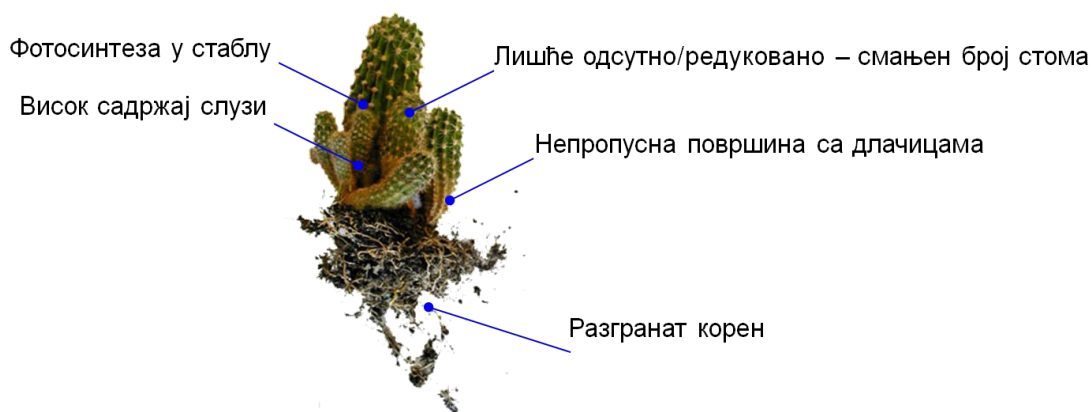
адаптације су резултат дуготрајних еволутивних процеса и омогућиле су биљкама да насељавају најразноврснија станишта, од пустиња до тропских шума. Разумевање утицаја абиотичких фактора је од суштинског значаја за предвиђање потенцијалног утицаја глобалних климатских промена и других еколошких изазова на биљке, и може допринети развоју стратегија за очување биљних врста у будућности.

Адаптације биљака на услове околине представља њихову флексибилност и способност да се прилагоде променама у околини и на тај начин повећају вероватноћу преживљавања. Према механизму и временском оквиру у коме се одвијају, адаптације се могу поделити на еволутивне адаптације и аклиматизацију. **Еволутивна адаптација** подразумева генетске промене у популацији неког организма које се јављају током дужег временског раздобља и резултат је еволутивних процеса као што су природна селекција и мутације. Оне се наслеђују кроз генерације. Са друге стране, **аклиматизација** подразумева краткорочне физиолошке или биохемијске промене које се јављају током живота једног организма као одговор на тренутне услове околине. Аклиматизација је краткорочна и реверзибилна и није преносива на потомство (сем у виду епигенетских промена).

Адаптације биљака на услове околине се могу класификовати у три главне категорије: анатомске и морфолошке адаптације, биохемијске адаптације и физиолошке адаптације.

Анатомске и морфолошке адаптација биљака на неповољне услове животне средине су добро познате и представљају структурне промене на телу биљака, у које спадају промена облика и величине листова и корена, промена броја хлоропласта или начина раста. Добар пример су биљке које живе у сушним крајевима и на високим температурама, као што су кактуси и алоје (Слика 2.1.). Како би обезбедиле опстанак, ове биљке прилагодили су своју морфологију тако да повећају ефикасност апсорпције и умање губитак воде услед испаравања. Имају веома разгранато корење, како би брзо и ефикасно могле да апсорбују воду, лишће је одсутно или редуковано (бодље) како би се смањила површина листа а тиме и број бројстома (отвора на листу) кроз које може да испари вода. Фотосинтеза им се

одвија у стаблу, које је задебљало и премазано воском, опет како би се смањило испаравање, а површина му је често прекривена длачицама које формирају микроклиму и смањују проток ваздуха, а тиме и испаравање воде. Додатно, ове биљке имају и висок садржај слузи која добро везује и задржава воду.



Слика 2.1. Анатомске и морфолошке адаптације код кактуса

У последњих неколико деценија, пажњу почињу да привлаче и биохемијски начини адаптације на абиотичке факторе. Један од разлога за интересовање је могућност селекције или инжењеринга сорти које би биле отпорније на неповољне услове. Биохемијска адаптација може обухватити модификацију секвенце протеина, промену односа изоензима, и формирање алтернативних метаболичких путева.

У даљем тексту фокус ће бити на биохемијским начинима адаптације, и то првенствено на прилагођавању фотосинтезе у циљу смањења губитка угљеника фотореспирацијом, продукцији антифриз-једињења ради преживљавања на ниским температурама, прилагођавању на високе температуре код термофилних организама, продукцији хормона (апсцисинска киселина) који затварају стоме, адаптацији метаболизма на анаеробне услове у плавним подручјима, механизмима детоксикације.

2.2. АДАПТАЦИЈА ФОТОСИНТЕЗЕ КОД ТРОПСКИХ БИЉАКА

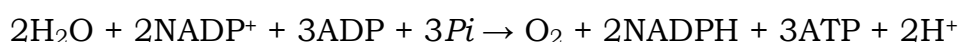
Биљке које живе у тропским крајевима изложене су високим температурама, а често и великој влажности и интензивном светлу. Како би

обезбедиле опстанак у оваквим условима, развиле су различите механизме адаптације, укључујући и прилагођавање фотосинтезе.

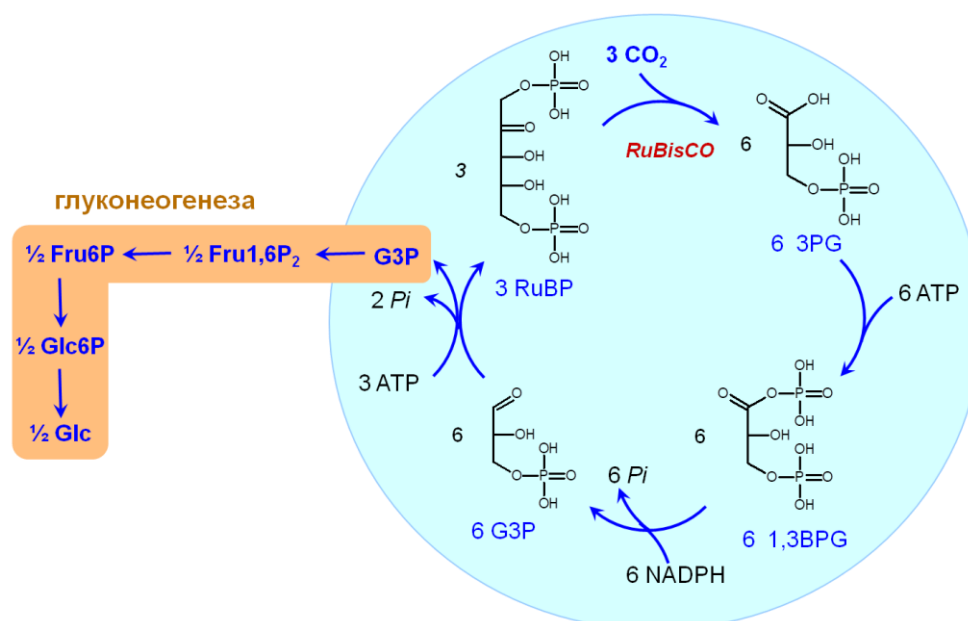
Фотосинтеза представља процес конверзије атмосферског CO_2 у органска једињења (шећере) коришћењем енергије Сунчеве светлости. Овај процес обухвата две фазе – светлу и тамну.

Светла фаза фотосинтезе је процес у којем се светлосна енергија хвата и преводи у хемијски везану енергију, формирањем енергијом богатих једињења АТФ и NADPH. Пигмент хлорофил у фотосистемима I и II у тилакоидној мембрани хлоропласта апсорбује фотон, чија се енергија преноси на електрон. Побуђени електрон се преко низа електрон-транспортера (феофитина, пластохинона, цитохрома, пластоцијанина, филохинона, Fe-S кластера, фередоксина) преноси на NADP^+ , превodeћи га у NADPH, уз истовремено испумпавање H^+ из строме у тилакоидни лумен. H^+ се враћају у строму кроз АТФ синтазу, уз конверзију $\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP}$.

Сумарна реакција светле фазе фотосинтезе је:



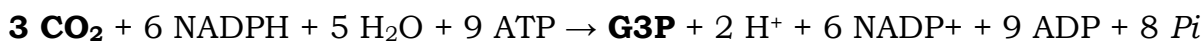
Друга, **тамна фаза** фотосинтезе одвија се у строми. Ензим рибULOза-1,5-бисфосфат карбоксилаза оксигеназа (RuBisCO) везује атмосферски CO_2 и коришћењем NADPH и АТФ из светле фазе синтетише триозе, у процесу познатом као Калвинов или Калвин-Бенсонов циклус (Слика 2.2.).



Слика 2.2. Тамна фаза фотосинтезе (Калвинов циклус) заступљен код биљака које расту у умереним климатским условима и синтеза глукозе из глицералдехид-3-фосфата (G3P) у

процесу глуконеогенезе. 3PG – 3-фосфоглицерат; RuBP – рибулоза-1,5-бисфосфат; 1,3BPG – 1,3-бисфосфоглицерат; Fru – fruktoza; Glc – glukoza

Рибулоза-1,5-бисфосфат (RuBP, пентоза) везује молекул CO_2 и раскида се на два молекула 3-фосфоглицерата (3PG, триоза). 3PG се уз утрошак ATP фосфорилује до 1,3-бисфосфоглицерата (1,3BPG), који се уз утрошак NADPH редукује до глицералдехид-3-фосфата (G3P). Пет од шест продукованих G3P користе се за регенерацију RuBP ($5\text{C}_3 \rightarrow 3\text{C}_5$), а један излази као производ. Сумарно, 3 молекула CO_2 конвертована су у 1 молекул триозе (G3P):

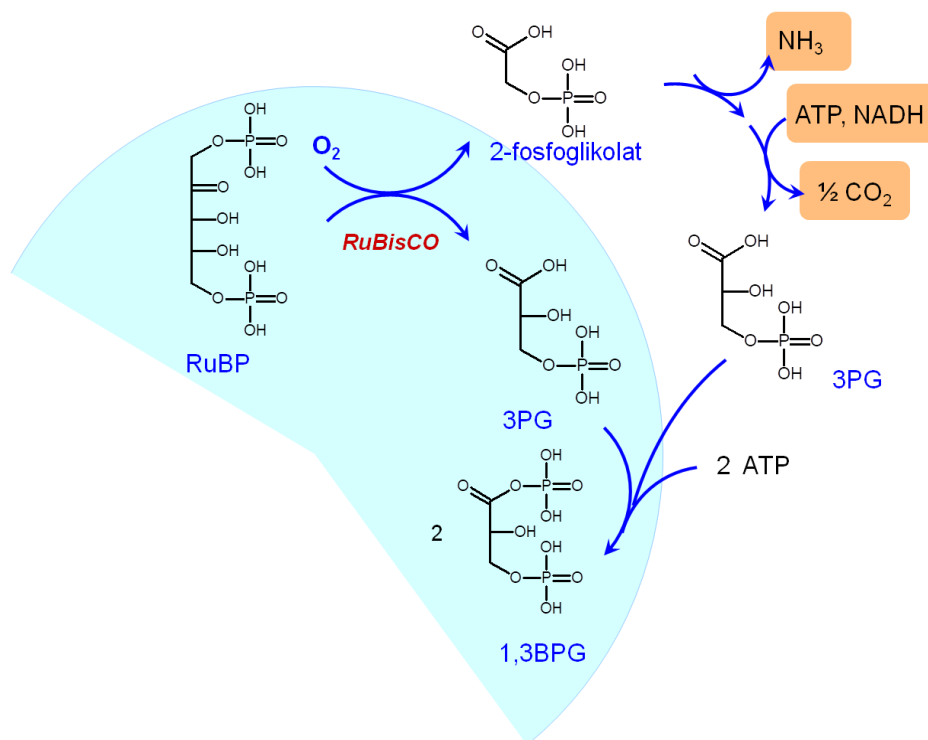


G3P се затим може превести у хексозе укључивањем у процес глуконеогенезе (Слика 2.2.). Фотосинтеза се по овом стандардном механизму (**C₃ фотосинтеза**) одвија код биљака које расту у умереним климатским појасевима.

RuBisCO, поред за CO_2 , показује афинитет и према O_2 (оксигеназна активност), у случајевима кад је однос CO_2/O_2 смањен. До смањења овог односа долази када се смањује концентрација CO_2 или повећава концентрација O_2 . У биљкама се тада уместо Калвиновог циклуса одвија процес **фотореспирације**, која се још зове **C₂ фотосинтеза**, у коме RuBisCO реагује са кисеоником (O_2) уместо са угљен-диоксидам (CO_2) (Слика 2.3.). До смањене концентрације CO_2 долази нпр. у сушним условима или при повишеној температури, када биљка затвара стоме и онемогућава улазак CO_2 . Такође, при повишеној температури, растворљивост CO_2 у води опада, па се његова концентрација у ћелијама смањује. Исто тако, код водених биљака, CO_2 теже стиже до биљке, па је његова концентрација у ћелијама смањена. У свим овим условима снижава се CO_2/O_2 однос у хлоропластима, што доводи до тога да RuBisCO теже прави разлику између CO_2 и O_2 , тј. расте му афинитет за O_2 , а опада за CO_2 .

У процесу фотореспирације, RuBisCO катализује реакцију RuBP са O_2 у којој настаје само један молекул 3PG, док други фрагмент RuBP даје 2-фосфогликолат (дакле, $\text{C}_5 \rightarrow \text{C}_3 + \text{C}_2$). 2-фосфогликолат се низом реакција

(преко Gly и Ser) може вратити у циклус, али уз утрошак енергије (1 ATP, 1 NADH) и губитак $1/2$ C (Слика 2.3.).



Слика 2.3. Реакције фотореспирације. 3PG – 3-фосфоглицерат; RuBP – рибулоза-1,5-бисфосфат; 1,3BPG – 1,3-бисфосфоглицерат

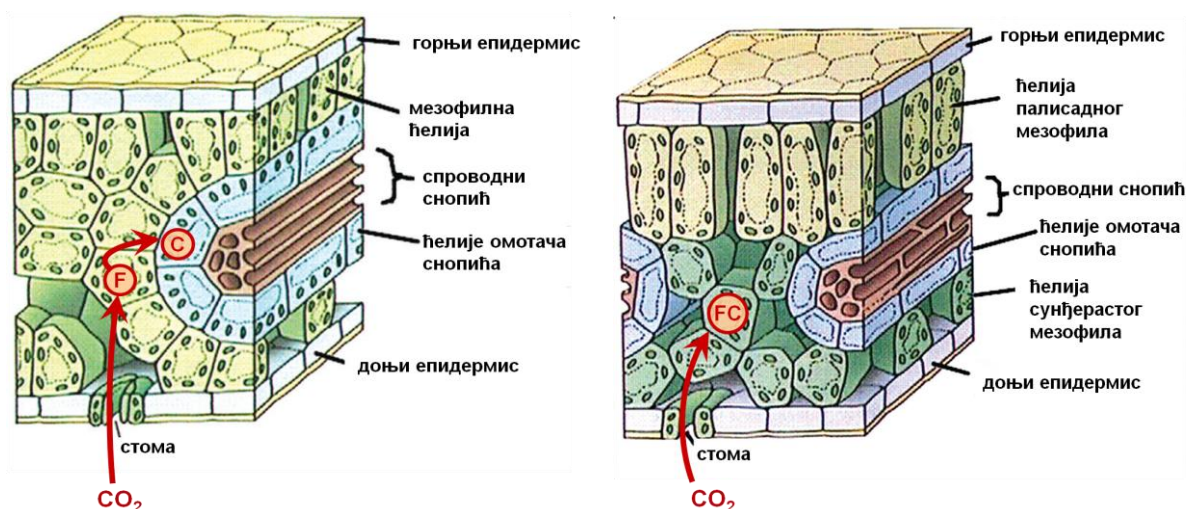
Процес фотореспирације, с једне стране успорава производњу 3PG и самим тим органске материје потребне биљци, а с друге стране повећава метаболички трошак ATP, NADH и угљеника. Такође, у процесу конверзије 2-фосфогликолата у 3PG настаје и NH₃ који се мора детоксификовати, а представља и губитак азота.

Сумарно, ефикасност фотосинтезе код биљака из умерених климатских подручја, које користе стандардни Калвинов циклус (C₃-биљке), биће смањена због фотореспирације у периодима високих температура, и до 25 %.

Како би избегле губитке због фотореспирације и обезбедиле ефикасну фотосинтезу, биљке које живе у тропским крајевима, где је температура висока током целе године, развиле су посебне механизме адаптације. Ови механизми омогућавају им да минимизирају оксигеназну активност RuBisCO и максимизирају фиксацију угљен-диоксида.

Истраживања су показала да се ове биљке биохемијски и морфолошки разликују од оних из умерених крајева. Према природи

механизма адаптације, разликујемо C_4 - и C_3 -биљке. Анатомија листа се код C_4 и C_3 биљака значајно разликује (Слика 2.4.).



Слика 2.4. Анатомија листа C_4 - (лево) и C_3 -биљака (десно). Код C_4 -листа мезофилне ћелије у којима се одвија фиксација CO_2 (F) су распоређене у прстену око ћелија омотача снопића у којима се одвија Калвинов циклус (C). Код C_3 -листа и фиксација CO_2 и Калвинов циклус (FC) се одвијају у мезофилним ћелијама али су ови процеси временски раздвојени

C_4 -адаптација фотосинтезе

C_4 циклус, такође познат као C_4 пут или C_4 фотосинтеза, је име добио по C_4 -киселинама које се користе у раним фазама овог метаболичког пута. Овај пут се јавља код тропских и субтропских биљака које живе у топлим, осунчаним и полусушним срединама. Научници *Marchall Hatch* и *Roger Slack* су први открили и описали овај пут, због чега се он често назива и *Hatch-Slack-ov* пут. У биљке са C_4 механизмом убрајају се припадници фамилије трава (Poaceae) – кукуруз, сирак, просо и шећерна трска (Слика 2.5.), као и фамилија Asteraceae и Brassicaceae.



кукуруз



шећерна трска



просо

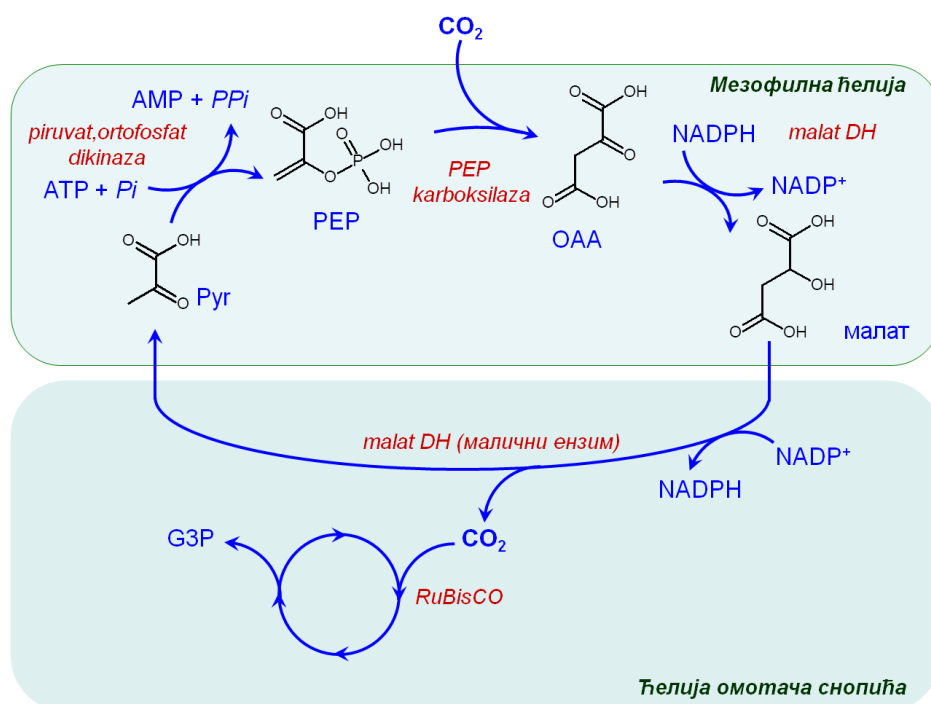
Слика 2.5. Примери биљака са C_4 механизмом фотосинтезе

Компетиција између молекула CO_2 и O_2 за активни центар RuBisCO спречава се код C_4 -биљака просторним раздвајањем места фиксирања CO_2

(ћелије мезофила) и Калвиновог циклуса (ћелије омотача снопића) (Слика 2.4.).

C₄-биљке користе додатни циклични метаболички пут за транспорт угљеника из CO₂ до Калвиновог циклуса. У површинским деловима листа (ћелијама мезофила), CO₂ се везује за фосфоенолпируват (настао из пирувата) градећи оксалоацетат (ОАА). Ензим који катализује ову реакцију, фосфоенолпируват (PEP) карбоксилаза, нема оксигеназну активност за разлику од RuBisCO, а има виши афинитет према CO₂, те га врло ефикасно везује. ОАА се затим преводи у малат, који се транспортује у ћелије омотача спроводних снопића и декарбоксиљује. Ослобођени CO₂ (у облику HCO₃⁻) искоришћава се у Калвиновом циклусу, а пируват се враћа у мезофилне ћелије (Слика 2.6.).

Важно је поменути да се код C₄-пута троши додатна енергија за фиксацију и транспорт угљеника. Тако се за синтезу 1 молекула глукозе у овом путу троши 30 молекула АТФ, наспрот 18 молекула АТФ код C₃-пута. Међутим, губици услед фотореспирације при високим температурама били би знатно већи (пored осталог, губило би се и преко 50 % везаног угљеника), те овај пут представља погодан адаптивни механизам за смањење губитака.



Слика 2.6. Реакције C₄ циклуса. PEP – фосфоенолпируват, ОАА – оксалоацетат, Pyr – пируват, DH – дехидрогеназа

Поред оптимизације фотосинтезе, могуће је да увођење C_4 -пута има додатну предност – повећану отпорност на хербиворе. Утврђено је да хербиворе, нарочито скакавци, преференцијално нападају C_3 биљке у популацији састављеној од C_3 и C_4 врста. Узрок томе може бити модификована анатомија код C_4 врста – скроб се складишти у дубљим слојевима, те је мање доступан биљоједима. Даље, ћелије омотача снопића су чвршће, а садржај лигнина знатно већи (бар код фамилије трава), него код C_3 . На крају, постоје докази да је и доступност азота мања. Све ово чини C_4 биљке мање атрактивним за хербиворе од C_3 .

Није неуобичајено да неке од врста истог рода користе C_3 -пут, а друге C_4 . Присутан је искључиво код зељастих биљака, и еволуционо је нов – јавио се пре око 30 милиона година, а постао значајан тек пре неколико милиона година. Сматра се да је настао еволуцијом C_3 биљака.

САМ-адаптација фотосинтезе

Код врста које живе у изразито сушним крајевима тропског и суптропског појаса (аридна подручја – пустиње и степе), поред високе температуре, додатни стресор је суша и изразито ниска влажност ваздуха. Отварање стома у току дана, у циљу апсорпције CO_2 , довело би до значајних губитака воде испаравањем. Отварање стома ноћу, када су температуре ниже, не би имало смисла, јер је за одвијање Калвиновог циклуса неопходна светлост (која обезбеђује АТФ и NADPH у светлој фази фотосинтезе).

Због тога се код биљака које живе у сушним и топлим крајевима развио **САМ механизам**, као врста адаптације фотосинтезе. Овај механизам добио је име САМ (*Crassulacean acid metabolism*), или метаболизам киселина код Crassulaceae фамилије (чуваркуће, тустике), јер је први пут откривен у биљкама из ове фамилије. Он представља алтернативни пут фиксације CO_2 , који омогућава биљкама да минимизирају губитак воде и преживе у екстремно сушним условима. САМ механизам фотосинтезе користи приближно 7% свих биљних врста, и овде првенствено спадају сукулентне биљке, као што су кактуси, алоја, агава,

ананас (Слика 2.7.). Такође, код многих епифитских врста (биљке које као физичку подлогу за раст користе друге биљке, обично дрвеће, али не узимају воду и хранљиве материје из њих као паразити), јавља се САМ механизам. Извори воде (ваздух, киша) су за ове биљке ограничени, па им САМ механизам омогућава да смање транспирацију и сачувају воду. Овде спадају неке врсте орхидеја и бромелија.



чуваркућа



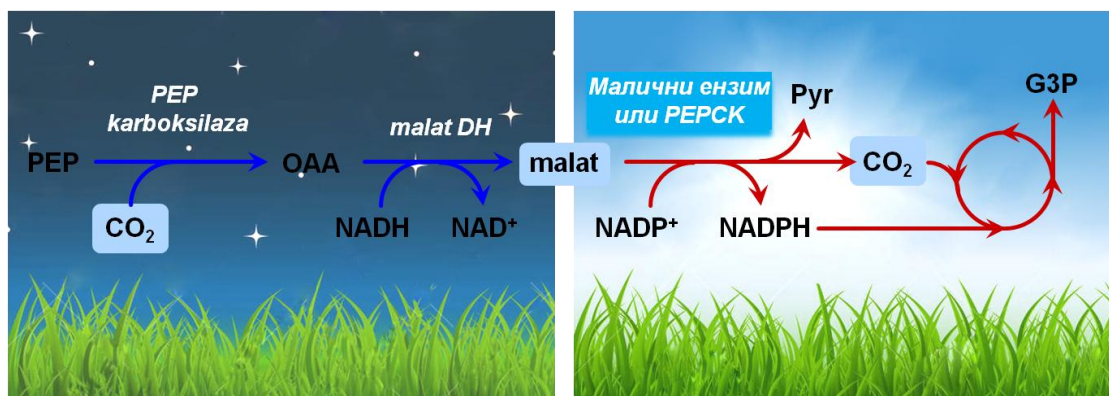
агава



ананас

Слика 2.7. Примери биљака са САМ механизмом фотосинтезе

САМ механизам је заправо специјални случај C_4 механизма, код кога фиксација CO_2 и Калвинов циклус нису раздвојени просторно него временски. Код биљака са овим механизмом јавља се другачија анатомију листа (Слика 2.4.), која им омогућава да ноћу, када су стоме отворене, фиксирају CO_2 у мезофилним ћелијама превodeћи га у ОАА. ОАА се затим преводи у малат и складишти у вакуолама. Током дана, када су стоме затворене како би се избегло губљење влаге, малат се ослобађа из вакуола. Декарбоксилацијом малата, коју катализује малични ензим или фосфоенолпируват карбоксикиназа (PEPCK), ослобађа се CO_2 , који се затим користи у Калвиновом циклусу (Слика 2.8.).



Слика 2.8. Реакције САМ механизма фотосинтезе. Pyr – пируват, G3P – глицералдеhid-3-фосфат, PEP – фосфоенолпируват, ОАА – оксалоацетат, DH – дехидрогеназа, PEPCK – фосфоенолпируват-карбоксикиназа

Када су услови повољни, тј. има више влаге, САМ биљке се могу потпуно пребацити на C_3 -механизам, што је пожељно, будући да је САМ механизам мање ефикасан. Наиме, због затворених стома током дана, ове биљке везују мање CO_2 , те је мање угљеника доступно за раст. САМ фотосинтеза, генерално, показује већу флексибилност у смислу пребацивања на C_3 у поређењу са C_4 фотосинтезом. Разлог за то је што је пребацивање са САМ на C_3 једноставније и подразумева само отварање стома и дању, и тада се фиксација CO_2 врши директно на RuBisCO, без везивања за PEP. Насупрот томе, пребацивање са C_4 на C_3 фотосинтезу захтевало би директно дифундовање CO_2 у дубину листа, до ћелија омотача спроводних снопића, што је знатно теже. Због тога C_4 биљке углавном користе или само C_4 или, ређе, могу користити и C_3 и C_4 , али са мањом ефикасношћу.

С обзиром да је **светлост** примарни извор енергије за фотосинтезу, ефикасност фотосинтезе првенствено зависи од њеног интензитета. Док већи интензитет светлости обично повећава брзину фотосинтезе, прекомерно светло може изазвати стрес и оштећење фотосинтетичког система. Биљке имају способност да се прилагоде различитим интензитетима светлости како би оптимизовале фотосинтетичке процесе. У условима слабог светла, могу повећати количину фотосинтетичких пигмената, променити раст у правцу светлости и проширити површину листова. У условима јаке светлости, биљке интензивирају синтезу фотопротективних супстанци, као што су феноли и каротеноиди, који апсорбују UV зраке штитећи ћелије од оштећења. Такође, ова једињења делују и као хватачи ROS чија продукција се повећава под утицајем прекомерног UV зрачења.

2.3. АДАПТАЦИЈА НА НИСКЕ ТЕМПЕРАТУРЕ

Температура, као један од кључних климатских фактора, утиче на све аспекте живота организама. Она игра централну улогу у регулисању биохемијских процеса и значајно утиче на географску распрострањеност врста. Повећање или смањење температуре може изазвати стрес код

организама осетљивих на температурне промене и довести до промена у расту, развоју и преживљавању организама, што је нарочито важно у контексту глобалних климатских промена. Поред тога, температура утиче и на сезонске обрасце активности организама, попут миграција, хибернације и размножавања.

Када се, на пример, биљке које се узгајају на релативно високим температурама (25–35 °C) нагло изложе температурама од 10–15 °C, долази до стреса који узрокује инхибицију метаболичких процеса, успоравање раста, промене на листовима. До ових промена долази првенствено због нарушавања структуре и функције биолошких мембрана. Код биљака које расту на вишим температурама, фосфолипиди мембрана имају већи удео засићених масних киселина. На ниским температурама, ове масне киселине се стврдњавају, што доводи до губитка флуидности мембране и, последично, њене функције – транспорта хранљивих материја, сигнализације и енергетског метаболизма. Сви ови штетни ефекти могу се знатно ублажити ако се биљке постепено излажу све нижим температурама, што се зове аклиматизација.

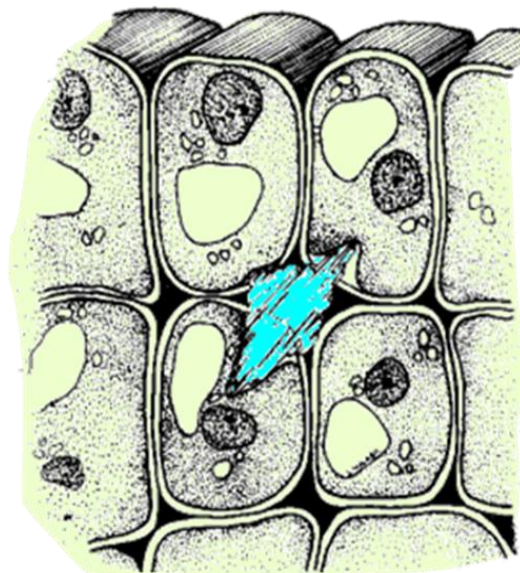
Код биљака отпорних на ниске температуре, мембране садрже више незасићених масних киселина, а током аклиматизације се тај удео и додатно повећава, заједно са активношћу десатураза, што све заједно омогућава одржавање флуидности мембрана и при нижим температурама.

Екстремно ниске температуре доводе до стварања кристала леда у ћелијама или екстраћелијском простору, што води нарушавању мембранских структура (Слика 2.9.), одмах или приликом отапања. Нарочито осетљиве на оштећења су плазма мембране, омотачи хлоропласта и тилакоидне мембране, у смислу промена у ултраструктури које резултују променама у пермеабилности, што може да доведе до пуцања мембрана и лизе. Додатно, замрзавање екстрацелуларног флуида, који је мање концентрован од цитосола и самим тим раније мрзне, доводи до пораста концентрације растворених супстанци у њему. Због овог процеса екстрацелуларни флуид постаје хипертоничан, што узрокује излазак воде из ћелија осмозом (осмотског стреса). Како вода напушта ћелије, концентрација растворених супстанци у цитосолу расте, чинећи га

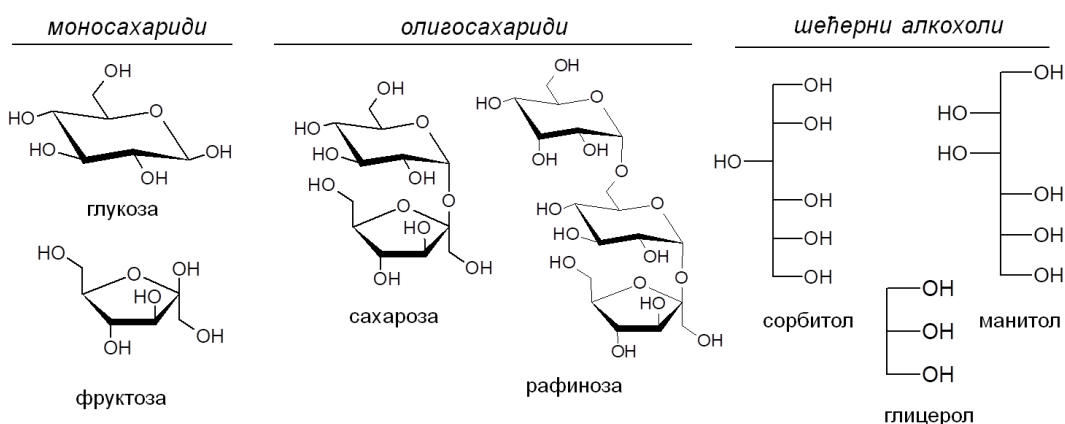
висококонцентрираним. При отапању се дешава супротан процес: вода се враћа у ћелије, што доводи до њиховог бубрења. Услед наглог повећања запремине, ћелијске мембране пуцају, што представља главни механизам оштећења ћелија услед замрзавања и одмрзавања.

Многе биљке и животиње у умереном и поларном појасу прилагодиле су се за преживљавање на температурама испод тачке мржњења воде, којима су изложене током зимских месеци.

Код инсеката, прилагођавање на ниске температуре подразумева синтезу **криопротектаната** – једињења која снижавају тачку мржњења. Најчешћи криопротектант је глицерол, а затим следе други полихидроксилни алкохоли, укључујући сорбитол, манитол, рибитол, еритритол, треитол и етилен-гликол, као и шећери, као што су трехалоза, сахароза, глукоза и фруктоза (Слика 2.10.).



Слика 2.9. Формирање кристала леда у биљном ткиву



Слика 2.10. Структуре криопротектаната

Ови алкохоли и шећери функционишу на сличан начин као и комерцијални антифриз етилен-гликол ($\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$), повећавајући толеранцију на смрзавање на више начина. Прво, везују се водоничним везама за молекуле воде, чиме ометају формирање кристала леда у ћелијама

и на тај начин снижавају тачку мржњења. Друго, повећањем њихове концентрације у ћелији, смањује се концентрација воде, а самим тим и њен губитак осмозом, због чега се ова једињења зову осмотски активна. Повећање интрацелуларне концентрације ових једињења такође погодује и процесу витрификације – спречавању формирања већих кристала леда, што доводи до стварања аморфног леда који знатно мање оштећује ћелије. Даље, у нормалним условима, молекули воде граде густу мрежу водоничних веза са хидрофилним главама фосфолипида липидног двослоја, што је један од фактора стабилизације ћелијске мембране. Међутим, у условима повећане дехидратације ћелије услед осмотског стреса изазваног ниским температурама, долази до нарушавања ових водоничних веза. У том случају шећери, нарочито дисахариди, преузимају улогу воде, градећи водоничне везе са поларним главама фосфолипида, чиме стабилизују мембрану и спречавају њену деформацију.

Неки инсекти, попут арктичке колемболе (*Megaphorura arctica*), као адаптацију на ниске температуре, користе **криопротективну дехидратацију**, која подразумева избацивање воде из ћелија како би се заштитили од смрзавања (Слика 2.11.). Иако је дехидратација ћелија обично штетна за већину организама јер доводи до сажимања ћелија, губитка функционалности ензима и потенцијалне смрти, код ових инсеката, избацивање воде преко аквапорина има заштитну улогу. Током дехидратације, ови инсекти активирају различите заштитне механизме, укључујући производњу осмопротектора (као што је трехалоза), који штите ћелијске структуре од оштећења услед губитка воде. Додатно, долази до промене у саставу фосфолипида у плазма мембрани, експресије *heat shock* протеина и уласка у анхидробиозу (значајно успоравање или потпуно заустављање метаболичких процеса). Када се услови побољшају, вода се поново апсорбује, метаболички процеси се активирају и организам се враћа у нормално функционисање.



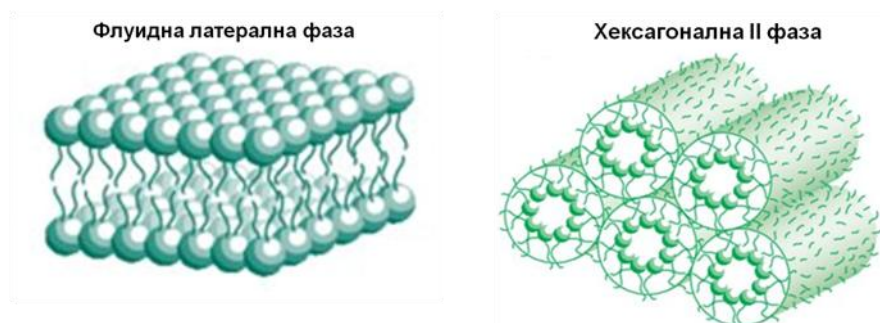
Слика 2.11. Хидратисан и дехидратисан изглед арктичке колемболе (*Megaphorura arctica*)

Као и инсекти, више биљке користе криопротекторе као један од механизма заштите од смрзавања, а најчешће се ради о шећерима, чији садржај расте у биљним соковима на ниским температурама. Природа ових шећера може значајно варирати у зависности од врсте биљке. Најчешће се јављају моносахариди, као што су глукоза и фруктоза, и дисахарид сахароза, док се олигосахариди, попут рафинозе, ређи (Слика 2.10.). Полихидроксилни алкохоли, попут шећерних алкохола, ређе су присутни, али у неким биљкама, попут јабуке, гарденије и нара, могу достићи високе концентрације, чак и до 40% од укупних шећера. Поред тога, доказано је и да вештачко повећање садржаја шећера у биљкама може повећати њихову отпорност на смрзавање.

Липидни профил мембране у одређеној мери такође може да утиче на понашање мембранских структура на температурама мржњења. У састав ћелијских мембрана улазе различити липиди, укључујући засићене и незасићене фосфолипиде, стероле и масне киселине.

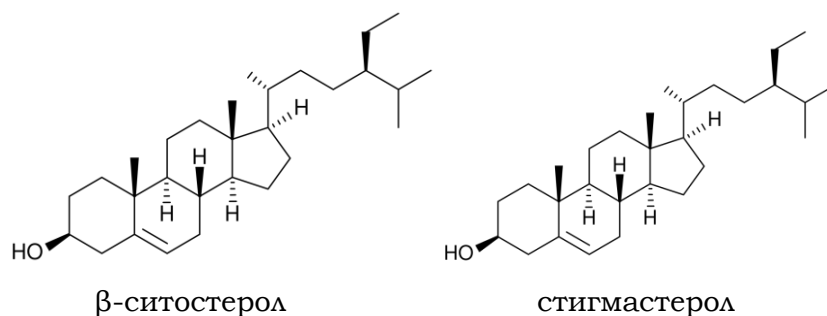
При физиолошким температурама, липидни двослој се налази у ламеларној, **флуидној фази** (Слика 2.12.), коју карактерише висока флуидност и покретљивост липида, што омогућава њихову флексибилност и функционалност. При нижим температурама, липидни двослој може прећи у гел фазу, где је мембрана више кристализована и мање флуидна. Ако температура настави да опада, мембрана може прећи у **хексагоналну фазу II** (Слика 2.12.), у којој липидни молекули формирају хексагонални образац, где су хидрофобни делови молекула оријентисани према споља, а хидрофилни према унутра. Овакви фазни прелази су свакако неповољни за биолошке мембране, јер утичу на пропустљивост мембране и активност

мембранских протеина, чинећи је мање флуидном и више структурираном, што смањују њену функционалност.



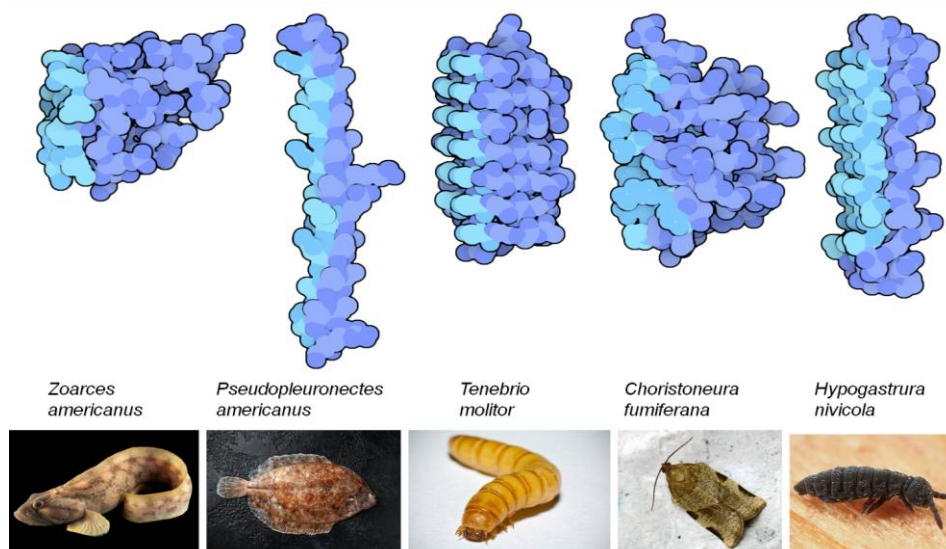
Слика 2.12. Могуће фазе мембране

Неке биљке током аклиматизације повећавају садржај **незасићених масних киселина** у фосфолипидима, јер имају нижу тачку мржњења у поређењу са незасићеним. Ово повећање удела незасићених масних киселина у фосфатидилетаноламинима и фосфатидилхолинима, као и повећан садржај укупних фосфолипида, смањују вероватноћу непожељних фазних прелаза, као што је прелазак флуидног двослоја у хексагоналну II фазу. Код биљака које расту на ниским температурама често се примећује и повећан садржај **стерола** у мембранама, као што су β -ситостерол и стигмастерол (Слика 2.13.), који се уграђују између молекула фосфолипида и захваљујући крутости своје структуре, ограничавају покретљивост ланаца масних киселина. Тиме повећавају уређеност мембране и спречавају раздвајање фосфолипидног двослоја у гел или хексагоналне фазе, које су мање функционалне. Такође, улогу у стабилизацији мембране и спречавању њених фазних прелаза имају и протеини, као што су **дехидрини**. Ови протеини се карактеришу високом унутрашњом неуређеношћу структуре, великим уделом глицина и хидрофилних аминокиселина. Захваљујући неуређеној структури, веома су флексибилни и могу да се везују за различите ћелијске структуре и на тај начин спречавају њихова оштећења услед хладноће или дехидратације.



Слика 2.13. Структуре стероидних криопротектаната

Још један вид адаптације на ниске температуре је синтеза једињења велике молекулске масе, као што су **антифриз протеини** (Слика 2.14.). У *in vitro* експериментима је доказано да протеини изоловани из биљака које су прилагођене животу у хладним условима, штите изоловане мембране од оштећења када се изложе ниским температурама. Овај ефекат није постигнут у присуству протеинске фракције добијене из неаклиматизованих биљака, што указује на индукцију активности ових протеина хладноћом. Међутим, остало је нејасно да ли приликом аклиматизације долази до синтезе протективних протеина или само до њихове активације.



Слика 2.14. Антифриз протеини риба и инсеката и њихови биолошки извори. Светло плавом бојом означени делови протеина који граде везивне интеракције са кристалима леда

Ефекат антифриз протеина може се испољити на више начина. Први је снижење тачке мржњења, али он генерално није нарочито изражен,

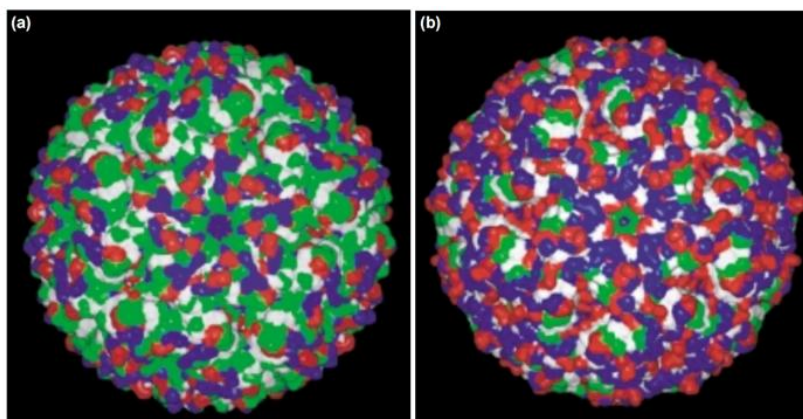
пошто и најефикаснији антифриз протеини снижавају тачку мржњења само до око -6°C , те овај механизам није довољан за преживљавање при екстремно ниским температурама. Међутим, значајан је у спречавању оштећења ткива током мање хладних периода. Други механизам путем кога антифриз протеини спречавају оштећења изазвана мржњењем је везивање водоничним везама за мале ледене кристале и спречавање њихов даљег раста, чиме штите ћелије од механичких оштећења која би могла настати услед формирања већих кристала леда.

Арктичке рибе у крви имају антифриз гликопротеине, чија величина се креће између 2,6 kDa и 33,7 kDa и које карактерише понављајућа –Ala–Ala–Thr(Gal–GlcNAc)– секвенца. Поред гликопротеина, ове рибе садрже и антифриз-протеине који нису гликозиловани, из чега следи да присуство остатака шећера није критично за криопротективно дејство. Ови протеини имају кључну улогу за преживљавање риба у екстремно хладним водама.

2.4. АДАПТАЦИЈА НА ВИСОКЕ ТЕМПЕРАТУРЕ

Већина живих организама спада у **мезофиле**, што значи да су прилагођени животу на умереним температурама (20°C до 45°C) и осетљиви су на повишене температуре, будући да су многи биомолекули, нарочито макромолекули – нуклеинске киселине и протеини, укључујући ензиме, нестабилни изнад 40°C . Ипак, многи организми преживљавају и на знатно вишим температурама.

Организми који успевају да живе на температурама у распону од 50°C до 80°C зову се **термофили**, и то су углавном археје и бактерије, али и неке гљивице и алге. Протеини термофила су хомологи са својим функционалним аналозима код мезофила, али су еволуирали тако да оптималну активност испољавају при знатно вишим температурама, без денатурације. Они типично садрже више дисулфидних мостова и више ароматичних и наелектрисаних аминокиселина, чиме се стимулише успостављање стабилизујућих привлачних електростатичких интеракција – сонних мостова и π -катјон интеракција. На слици 2.15. приказане су разлике у саставу аминокиселина на површини протеина код мезофилне и хипертермофилне бактерије.



Слика 2.15. Поређење аминокиселинских остатака на површини пируват-декарбоксилазе из а) *Bacillus subtilis* (мезофил) и б) *Aquifex aeolicus* (хипертермофил). Црвена боја – негативно наелектрисани остаци; плава – позитивно наелектрисани остаци; зелена – поларни ненаелектрисани; бела – неполарни остаци.

Даље, ови протеини садрже већи број хидрофобних аминокиселина, чиме се постиже већа хидрофобност и гушће паковање протеинског језгра, а самим тим и додатна стабилизација. Поред тога, термостабилни протеини имају скраћене петље, које иначе представљају најнестабилније регионе у протеину, као и већи број аминокиселинских остатака са високом склоношћу за формирање хеликса, што стабилизује α -хеликсе. Стабилизација нуклеинских киселина у термофилима постиже се повећањем садржаја пуринских база у DNK, tRNK и rRNK секвенцама. Овај процес укључује повећање удела G-C парова, пошто се они повезују са три водоничне везе, за разлику од A-T парова који формирају само две. Такође, код ових организама ћелијске мембране имају висок удео засићених масних киселина, које имају вишу тачку топљења у поређењу са незасићеним масним киселинама, што омогућава да мембране задрже сачувају чврстину и интегритет и при повишеним температурама.

Најекстремнији пример су **хипертермофилни** микроорганизми (бактерије, археје и микроалге) изоловане из врелих извора, који су у неким случајевима облигатни екстремофили, односно захтевају високе температуре за преживљавање (између 80 °C и 105 °C). Ту спадају на пример археје из рода *Pyrodictium* које живе у порозним стенама хидротермалних извора у морским дубинама (Слика 2.16.) и поред високе температуре, отпорне су и на високе притиске и високе концентрације соли. Имају јединствену морфологију и користе хемијске реакције, попут

оксидације сумпора или водоника, уместо фотосинтезе, да би произвеле енергију. Такође, у хипертермофиле спадају и црвене и зелене микроалге које живе у топлим гејзирима на површини Земље (Слика 2.16.). Хипертермофили користе специфичне стратегије за стабилизацију макромолекула, као што је повећана концентрација јона, попут калијума, натријума, полиамина и катјонских протеина, који учествују у стварању јонских веза. Ови јонски парови формирају јонске мреже, које су стабилније од појединачних јонских веза. Позитивно наелектрисани јони неутралишу негативни набој фосфатне кичме ДНК, смањујући одбијање између ланаца и поспешујући супернамотавање, што додатно повећава стабилност молекула. За стабилизацију РНК молекула важне су и ковалентне модификације, попут метилације, ацетилације и псеудоуридинације. Липиди у мембранама су повезани диетарским везама унутар монослоја, што их чини хемијски веома стабилним при високим температурама.



Слика 2.16. Хидротермални извори у морским дубинама (станишта *Pyrodicticum* археја) (слика лево); Fly Geyser у Невади са температуром воде од 93 °C обрастао хипертермофилним алгама које боје стену различитим нијансама зелене и црвене боје (слика десно)

Још један од боље изучених типова адаптације на повишене температуре је **термотолеранција**, која представља краткотрајну адаптацију на топлотни стрес. У експериментима је доказано да ако се биљка постепено излаже сублеталним температурама, њене ћелије ће се адаптирати и постати отпорне и на више температуре. Тако на пример ако се семе соје нагло изложи температури од 45 °C, у року од два сата оно ће

бити мртво, али уколико се претходно инкубира 2 h на 40 °C, и након тога температура повећа на 45 °C, семе ће преживети. Наиме у условима повишене температуре, широк спектар организама, од бактерија до човека, као један од видова адаптације синтетише *heat shock* протеине (HSP), а супримира синтезу нормалних протеина. HSP протеини играју кључну улогу у очувању ћелијске хомеостазе током стресних услова, помажући у стабилизацији, поправци или разградњи оштећених протеина, чиме штите ћелије од последица стреса. У одговор на термички шок код биљака учествују две групе HSP – четири протеина велике молекулске масе (68 kDa, 70 kDa, 84 kDa и 92 kDa) и неколико мањих (15–23 kDa). Поред топлотног шока, и други стресори могу изазвати продукцију HSP протеина – инфекције, инфламација, токсини, хипоксија, суша итд., те се HSP могу сматрати протеинима стреса. Након уклањања стресора, HSP се постепено разграђују.

Процес синтезе HSP започиње у цитоплазми, активацијом *heat shock* фактора 1 (HSF-1), као одговора на присуство протеина денатурисаних (оштећених и одвијених) услед стреса. Активирани HSF-1 одлази у једро, тримеризује се, везује за DNK, са њега се одвајају HSP40 и HSP70, а слободни HSF-1 тада активира транскрипцију гена који кодирају HSP, те долази до производње HSP. Процес транскрипције се деактивира поновним везивањем HSP70 и HSP40 и одвајањем од DNK ацетилацијом. Овај одговор је веома брз, синтеза mRNK за HSP почиње у року од неколико минута од топлотног шока. Синтетисани HSP делују као молекулски шаперони (*chaperons*) везујући се за хидрофобне регионе протеина, који су због денатурације изложени на површину протеина, а затим помажу делимично одвијеним протеинима да се поново увију у правилну, нативну конформацију. Такође спречавају агрегацију тј. коагулацију одвијених протеина и усмеравају оштећене протеине на деградацију.

2.5. АДАПТАЦИЈА НА ПОПЛАВЕ

Више биљке су аеробне и захтевају сталан доток O_2 за одржавање основних метаболичких процеса. Кисеоник директно учествује у преко 200 реакција у биљкама. Уколико нема довољно кисеоника, већина биљака, посебно у активној фази раста, не може преживети дуже од неколико сати или дана. Животиње имају циркулаторни систем који обезбеђује доток кисеоника у сва ткива, док код биљака овакав систем недостаје и оне размену гасова врше само са својом околином преко отвора који се зову стоме. Многим биљкама које живе у плавним подручјима, попут речних долина, коренски систем и доњи део стабла могу бити потопљени водом током дужег временског периода (Слика 2.17.). Дифузија кисеоника кроз воду је веома слаба, па се потопљени делови биљке могу наћи у стању недовољног дотока O_2 (**хипоксија**) или потпуног одсуства O_2 (**аноксија**), што може довести до смрти биљке.

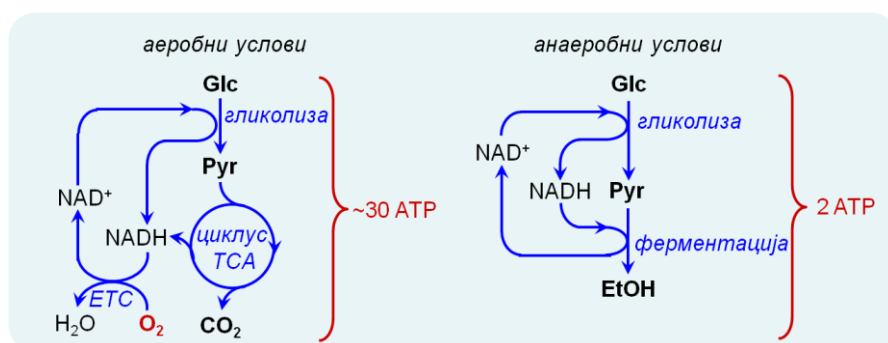


Слика 2.17. Потопљено поље пиринча

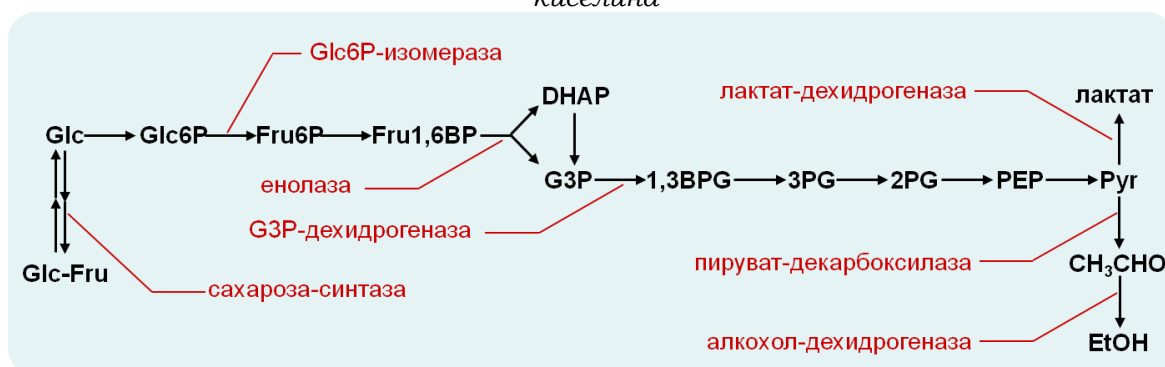
Присуство кисеоника је од кључног значаја за енергетски метаболизам биљака, јер је кисеоник неопходан за процес ћелијске респирације. Већина енергије добијене разградњом угљених хидрата и масти настаје реоксидацијом редукованих коензима у електрон-транспортном ланцу (ETC) у мембрани митохондрија. За овај процес неопходан је O_2 као крајњи акцептор електрона. У условима хипоксије или аноксије, када нема довољно O_2 да прихвати електроне на комплексу IV ETC-а, ови електрони могу учествовати у продукцији **реактивних кисеоничних врста (ROS)** у митохондријама. ROS такође настају и као производи деловања NADPH-оксидазе у плазма мембрани, која се активира услед хипоксичног стреса. Ови ROS даље учествују у сигналингу и регулацији одговора на стрес. Међутим, ROS испољавају и токсичне ефекте јер реагују са протеинима и липидима из мембрана, што доводи до оштећења ћелијских структура. Ако на овај начин дође до оштећења корена, то може даље довести до поремећаја транспорта воде, минерала и

хормона, што за последицу има убрзано старење лишћа и на крају смрт биљке.

Пошто у недостатку кисеоника ЕТС није у функцији, биљке се првенствено ослањају на **анаеробну гликолизу** (појачава се експресија гликолитичких ензима, тзв. анаеробних протеина) за производњу енергије, што резултује значајно мањом продукцијом АТР-а — око 15 пута мање него током ћелијске респирације (Слика 2.18.). Инхибиција ових ензима у експерименталним условима скратила је време преживљавања биљака и до 36 пута. Иако мање ефикасан од респирације, процес анаеробне гликолизе омогућава биљкама да преживе у кратком периоду поплава. Због тога је доступност глукозе и других шећера кључна за опстанак током аноксије. Истраживања су показала да биљне ћелије у медијуму богатом глукозом могу да преживе и 10 пута дуже у условима аноксије, као и да додавање шећера након анаеробног стреса доприноси бржој обнови нормалних ћелијских активности.



Слика 2.18. Поређење аеробне и анаеробне разградње глукозе. Pyr – пируват; EtOH – етанол; Glc – глукоза; ETC – електрон-транспортни ланац; TCA – циклус трикарбонских киселина



Слика 2.19. Метаболички путеви који се интензивирају у аноксичним условима. Појачава се експресија анаеробних ензима (обележени црвеном бојом). Glc – глукоза; Glc6P – глукоза-6-фосфат; Fru – фруктоза; Fru6P – фруктоза-6-фосфат; Fru1,6BP – фруктоза-1,6-бисфосфат; DHAP – дихидроксиацетон фосфат; G3P – глицералдехид-3-фосфат; 1,3-BPG – 1,3-бисфосфоглицерат; 3PG – 3-фосфоглицерат; 2PG – 2-фосфоглицерат; PEP – фосфоенолпируват; Pyr – пируват; EtOH – етанол.

Такође је утврђено да смањена концентрација O_2 индукује повећану експресију **сахароза синтазе**, која катализује разградњу сахарозе у условима хипоксије (Слика 2.19.), обезбеђујући довољне резерве глукозе за гликолизу. При овим условима, активност ензима инвертазе (сахаразе), који доминантно катализује деградацију сахарозе у аеробним условима, је значајно смањена.

Осим што је анаеробна гликолиза енергетски мање ефикасна, додатни проблем представља и потреба да се регенерише NAD^+ из $NADH$ насталог у гликолизи, како би она могла несметано да се настави. У одсуству кисеоника у биљкама се стимулишу алкохолна и хомолактичка ферментација, тј. активирају се ензими **пируват декарбоксилаза, алкохол дехидрогеназа** и **лактат дехидрогеназа**. Активацијом ензима лактат дехидрогеназе стимулише се превођење пирувата у лактат, који повећава киселост цитоплазме, што је веома неповољно за ћелију, па је код већине биљака алкохолна ферментација фаворизована у односу на хомолактичку (Слика 2.18.). У алкохолној ферментацији се пруват, крајњи производ гликолизе, трансформише у ацеталдехид, а овај затим у етанол (Слике 2.18. и 2.19.).

Претпоставља се да **етанол**, чак и у малим количинама, има токсично дејство на биљне ћелије. Код неких врста адаптираних на поплаве, као што је пиринач, етанол се лако отпушта у околну воду, али код дрвенастих биљака са дебелим кореном, овај процес није могућ, што повећава ризик од токсичности.

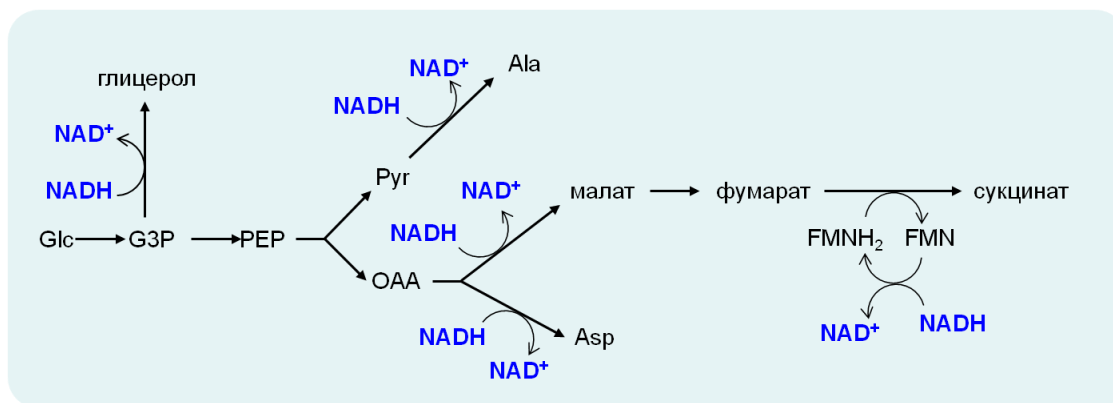
Анаеробни услови који настају у поплављеном земљишту могу изазвати низ штетних микробиолошких процеса, од којих је један од најзначајнијих **денитрификација**. Током овог процеса, нитрати (NO_3^-), који представљају важан извор азота за биљку, редукују се преко неколико међупроизвода, укључујући нитрите (NO_2^-) и азот-субоксид (N_2O), све до молекуларног азота (N_2), који је у гасовитом стању и лако напушта земљиште. Као резултат, биљка губи кључни извор азота, елемента неопходног за синтезу протеина, нуклеинских киселина и других важних молекула. Даље, у анаеробним условима може доћи до микробиолошке редукције Fe^{3+} у Fe^{2+} , који је растворљивији и акумулира се у великим

количинама у ткиву биљке, што ремети метаболичке процесе, а при повратку на аеробне процесе, Fe^{2+} реагује са O_2 , при чему настаје велика количина **ROS** који оштећују ћелијске мембране. Слично томе, сулфати (SO_4^{2-}) из земљишта подлежу микробиолошкој редукцији до **H_2S** у условима недостатка кисеоника. Овај гас је веома токсичан за биљке, јер омета ћелијско дисање, реагује са протеинима и може изазвати оштећење ткива. Сулфидна токсичност додатно погоршава стање биљке, која је већ под стресом због недостатка кисеоника, чинећи опстанак у поплављеном земљишту још тежим.

Поред тога што у условима хипоксије настају етанол, лактат, ацеталдехид и ROS, који су токсични, претпоставља се да до још већег оштећења биљака долази приликом повратка на аеробни метаболизам, када биљке из стања аноксије поново дођу у контакт са кисеоником. Ендогени редуковани метаболити, који су се акумулирали током аноксије, заједно са редукованим јонима из земљишта (као што су Cu^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+}), при нагом излагању кисеонику из ваздуха почињу брзо да се оксидују. Ово доводи до **прекомерне продукције ROS** и токсичних оксидованих једињења, који заједно могу изазвати озбиљна оштећења и довести до смрти биљке, чак и ако је преживела аноксичне услове. Тако нпр. пост-аноксична оксидација акумулираног етанола у присуству каталазе доводи до стварања високих концентрација токсичног ацеталдехида.

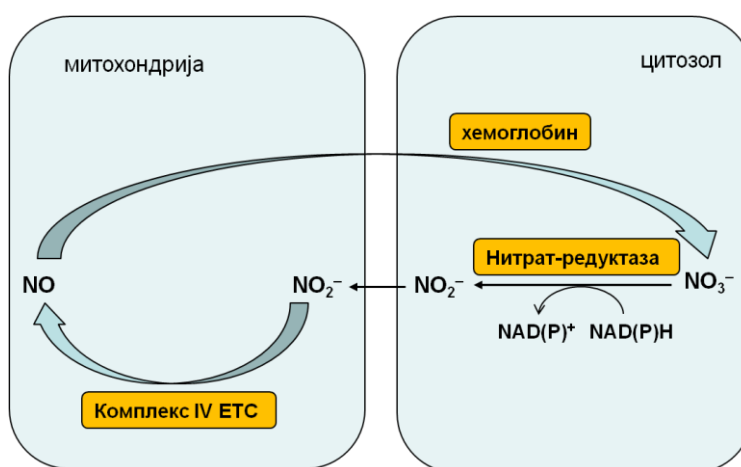
Међутим, познато је да многе биљке које живе на мочварном земљишту, акватичне и амфибијске биљке могу преживети током више месеци делимично или потпуно потопљене. При овим условима већина других врста не преживљава. Очигледно, ови организми развили су механизме адаптације на анаеробне услове, коју укључују измене у метаболизму и морфолошке промене.

Један од начина адаптације које користе многе биљке толерантне на хипоксију је преусмеравање интермедијера гликолизе у алтернативне реакције у којима се регенерише NAD^+ реоксидацијом NADH , а настају **глицерол, аланин, малат, аспартат и сукцинат**. Овим реакцијама омогућава се несметан наставак гликолизе, а спречава настанак токсичног лактата и етанола (Слика 2.20.).



Слика 2.20. Алтернативне реакције регенерације NAD^+ реоксидацијом NADH код биљака толерантних на хипоксију. Glc – глюкоза; G3P – глицералдехид-3-фосфат; OAA – оксалоацетат; Ala – аланин; PEP – фосфоенолпируват; Pyr – пируват; Asp – аспартат

Још један вид адаптације код биљака толерантних на поплаве је „**нитратна респирација**“ код које нитрит служи као алтернативни терминални акцептор електрона уместо O_2 на комплексу IV ЕТС-а, при чему се производи азот(II)-оксид (NO), који учествује у сигналингу у условима аноксије. Нитрит настаје редукцијом нитрата деловањем нитрат редуктазе у цитосолу, док се истовремено оксидује NAD(P)H (Слика 2.21.). NO може бити поново претворен у нитрат у цитосолу помоћу биљног хемоглобина, чија је синтеза индукована хипоксијом. Овај нитрат се поново редукује у нитрит деловањем нитрат редуктазе, и тако се формира тзв. хемоглобин/NO циклус. Овај циклус не само да реоксидује NAD(P)H , већ обезбеђује и пумпање протона на комплексу IV, што омогућава синтезу АТФ-а.



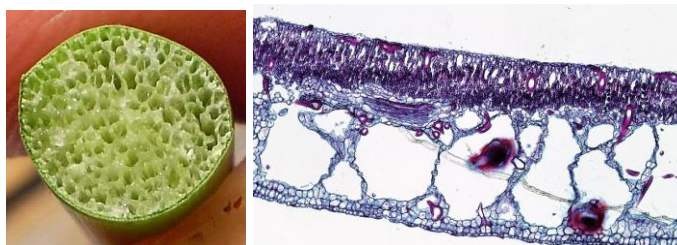
Слика 2.21. Хемоглобин/NO циклус

Биљке отпорне на хипоксију такође показују и веома високу **отпорност на оксидативни стрес**. За способност супресије оксидативних оштећења код ових биљака одговорна је активација ензима антиоксидантне заштите, укључујући **пероксидазу** и **супероксид дисмутазу**, као и синтеза и акумулација ендогених антиоксиданата – **токоферола, аскорбинске киселине, глутатиона, фенолних једињења**, који неутралишу ROS и смањују пост-аноксични оксидативни стрес.

Познато је и да је у аноксичним условима код неадаптираних биљака инхибирана синтеза нових протеина и активирана деградација постојећих. Насупрот томе, код биљака отпорних на аноксију, деградација сложених **мембранских протеина** је успорена због додатне стабилизације, док је синтеза протеина у цитоплазми и органелама, важних за опстанак у анаеробним условима (познатих као анаеробни протеини), значајно појачана. Такође, стабилност **фосфолипида** мембрана код отпорних биљака је знатно већа у поређењу са биљкама које се нису адаптирале. Код неотпорних биљака, незасићене масне киселине фосфолипида подлежу липидној пероксидацији услед повећаних концентрација реактивних кисеоничних врста (ROS). Ово доводи до разградње липида и нарушавања интегритета мембране, чиме се значајно отежава способност биљке да одржи нормалну функцију ћелија у условима стреса. Адаптиране биљке успевају да смање количину ROS захваљујући појачаној активности система антиоксидантне заштите и тиме избегну интензивну деградацију фосфолипида, а самим тим и очувају стабилност мембрана. Такође, за време аноксичног стреса, код неотпорних биљака долази до хидрогенације двоструких и троструких веза полинезасићених остатака масних киселина у ћелијским липидима зарад регенерације NAD^+ , због чега се смањује количина незасићених, а повећава количина засићених масних киселина. Ово негативно утиче на флуидност, пропустљивост и функционалност мембране. Код отпорних биљака, користе се други, мање штетни начини регенерације NAD^+ , те интегритет мембране остаје очуван.

Поред биохемијске адаптације метаболичких процеса и повећања стабилности ћелијских структура, биљне врсте толерантне на плављење примењују и различите **морфолошке** и **анатомске адаптације**.

Једна од најефикаснијих адаптација, коју користе многе биљне врсте отпорне на полаве, попут пиринча, је формирање својеврсног вентилационог система – специјализованог система ваздушних канала (тзв. **аеренхим**, лат. аerenchyma) у стаблу, листовима и корену (Слика 2.22.), који омогућава транспорт кисеоника из добро аерисаних делова биљке у аноксичне подводне органе. Истовремено, он омогућава транспорт испарљивих супстанци из корена, насталих у анаеробном метаболизму за време аноксије (EtOH , CO_2 , CH_4). Цурење O_2 из аеренхима у ризосферу (земљиште које окружује корен) може имати додатне корисне ефекте. Наиме, O_2 доводи до оксидације, а тиме и детоксификације Fe^{2+} , Mn^{2+} и H_2S , и може потпомоћи раст нитрификујућих бактерија (које производе биљкама потребан NO_3^- из NH_3).



Слика 2.22. Аеренхим – макроскопски изглед пресека стабљике (лево) и микроскопски изглед аеренхима листа (десно)

Код биљака које живе у константно влажним стаништима аеренхим је конститутивно присутан, док се индукција развоја аеренхима, као врста адаптације, код биљака које не живе у влажним стаништима обично јавља неколико сати након појаве недостатка кисеоника. Формирање аеренхима најчешће иницира етилен. Етилен је гас који врло лако дифундује кроз биљна ткива и има улогу сигналног молекула и фитохормона који регулише различите одговоре на стрес. Стресни услови, укључујући поплаве, у биљкама индукују биосинтезу етилена из метионина.

Још један вид морфолошке адаптације биљака које су способне да толеришу поплаве је **формирање нових изданака корена** (адвентивних коренова). Адвентивни коренови замењују постојеће корене оштећене недостатком кисеоника. Они расту ка површини воде, где је количина кисеоника већа. На тај начин, биљке обновљају коренски систем и побољшавају свој приступ кисеонику, што им помаже да преживе у

условима поплаве. Формирање адвентивних коренова контролишу ауксин и етилен.

На крају, треба рећи да неке биљке, а нарочито семе, у периодима аноксије прибегавају неактивности, тј. **смањењу метаболичке активности**. Сви процеси који нису есенцијални за преживљавање, а који троше енергију, укључујући синтезу нових протеина и раст нових ћелија, обустављају се у циљу очувања енергетских резерви, нарочито скроба. Када биљка пређе из стања аноксије у услове у којима је кисеоник доступан, она поново активира метаболичке процесе који су били привремено обустављени. Ова способност да се привремено успоре или обуставе метаболички процеси, а затим поново активирају када услови постану повољни, значајно повећава шансе биљке за опстанак.

2.6. АДАПТАЦИЈА НА СУШУ

Вода је неопходна биљкама за фотосинтезу, транспорт хранљивих материја и минерала, одржавање структуре ћелија, затим за регулацију температуре кроз процес транспирације, одржавање ћелијског притиска и метаболичке процесе. Недостатак воде (суша) може пореметити све ове процесе, узрокујући ослабљен раст, увенуће и на крају угинуће биљке.

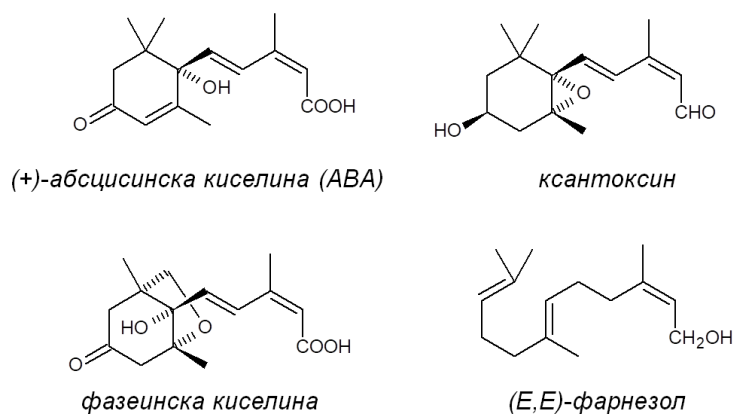
Биљке које живе у подручјима са мало падавина, попут пустиња и висоравни, добро подносе сушу. Према механизму одбране од суше, деле се на оне које ефикасно **апсорбују воду** развијањем дубоког или разгранатог корена и на оне које добро **чувају воду** посредством биохемијских и морфолошких адаптација.

У поглављу 2.1. већ је било речи о томе како код кактуса дебели воштани омотач и бодље уместо лишћа (Слика 2.1.) смањују губитак воде испаравањем. Осим тога, ове биљке смањују транспирацију затварањем стома, имају задебљану кутикулу и формирају воштане превлаке које додатно смањују губитак воде. Биохемијски механизми за очување воде укључују синтезу осмолита — супстанци које помажу у задржавању воде у ћелијама.

Један од главних начина на који биљке спречавају губитак воде транспирацијом је **регулисање отварања стома**. Ово подразумева

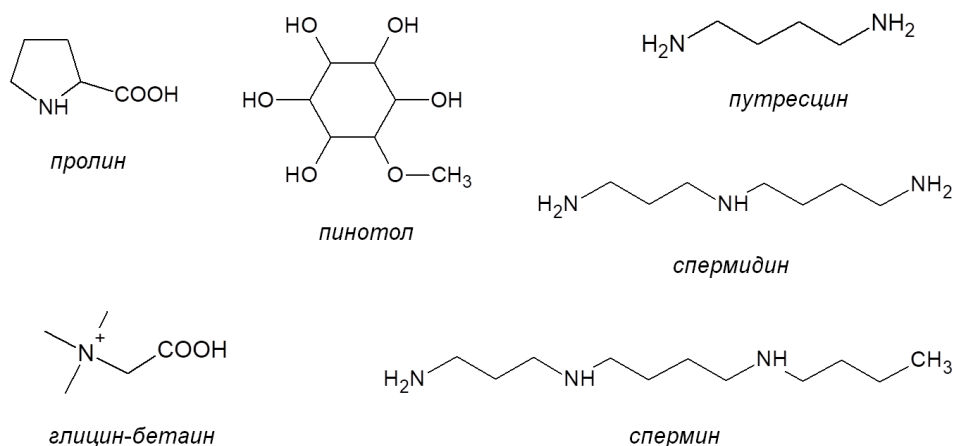
скраћивање периода када су стоме отворене или њихово отварање само током ноћи. Биљни хормон **абсцисинска киселина (АВА)** игра кључну улогу у овом процесу, јер индукује затварање стома. Биљке које су отпорне на сушу често имају повећане нивое АВА, што им омогућава бољу контролу губитка воде. АВА се синтетише у корену као одговор на смањену влажност земљишта, и транспортује у листове. Концентрација овог једињења значајно се повећава у року од неколико сати. Овај ефекат је реверзибилан – када се успостави нормално снабдевање водом, ниво АВА опада. Доказано је да се тада АВА не разграђује, већ се складишти у неактивној форми у листу, одакле се може поново активирати у случају поновног излагања стресу. Поред АВА, бар још 3 једињења могу контролисати затварање стома: (*E,E*)-фарнезол, ксантоксин (прекурсор АВА) и фазеинска киселина (производ оксидације АВА) (Слика 2.23.).

Због овако значајне улоге АВА у условима стреса, могућност њене екстерне примене у пољопривреди као метода за повећање отпорности гајених биљака на сушу је била предмет многих истраживања. Закључено је да, иако третман са АВА може бити користан у стресним ситуацијама, њена примена у пољопривреди код биљака које нису под стресом може да успори њихов раст и смањи принос. Третман АВА-ом на здраве биљке које нису изложене стресу смањује доток CO₂ (због затварања стома) и концентрацију фотосинтетичких ензима, што све доприноси успоравању фотосинтезе, а самим негативно утиче на раст биљке. Међутим, код биљака изложених стресу, претходни третман са АВА повећава њихову отпорност на стрес, јер доводи до много брже активације одбрамбених механизма у поређењу са биљкама које нису третиране. Због свега тога, неопходно је прецизно дефинисање услова и протокола примене АВА у пољопривреди, како би се искористили само њени позитивни ефекти.



Слика 2.23. Структуре једињења која регулишу отварање стома код биљака

Још једна од могућих адаптација биљака на недостатак влаге је акумулација **осмолита** у ћелијама, чија улога је да одржавају осмотску равнотежу и спрече дехидратацију. Повећањем концентрације осмолита у ћелији, повећава се укупна концентрација растворених супстанци. Ово смањује концентрацију воде унутар ћелије у односу на околину, чиме се спречава излазак воде из ћелије (осмоза). Овај процес помаже биљкама да одрже воду у својим ћелијама у стресним условима, као што је суша. Најчешћи осмолит код биљака је аминокиселина пролин. Истраживања су показала да врсте које су прилагођене сушним условима акумулирају више пролина у поређењу са неприлагођеним врстама. Концентрација пролина може да достигне 30 % од укупних слободних аминокиселина, а у неким случајевима чак и до 80 %, док у биљкама које нису изложене стресу та вредност је испод 5 %. Повећана концентрација пролина резултат је његове појачане синтезе и смањене деградације. Поред пролина, и други осмолити, попут полиола (пинитол, манитол), кватернерних амонијум-једињења (глицин-бетаина (*N,N,N*-триметилглицин), пролин-бетаина, β -аланин-бетаина, холин-О-сулфата), полиамина (путресцин, спермидин, спермин) и шећера (сахароза), могу се јавити код различитих биљних врста (Слике 2.10. и 2.24.). Сва ова једињења су мали молекули који се одлично растварају у води, те повећавају осмотски притисак и спречавају губитак воде из ћелије. Притом, за разлику од неорганских јона, чак ни при високим концентрацијама, они не нарушавају интеракције макромолекула са водом, што омогућава очување нативне конформације макромолекула.



Слика 2.24. Структуре осмолита из биљака

Важно је напоменути да повећане концентрације пролина у биљкама могу подстаћи инсекте да се хране њима, јер је **пролин** познат као **фагостимуланс** за скакавце. Због тога, пре спровођења усмерене селекције или генетске модификације биљака са циљем повећања синтезе пролина ради отпорности на сушу, треба пажљиво размотрити све потенцијалне последице.

2.7. АДАПТАЦИЈА НА КВАЛИТЕТ ЗЕМЉИШТА

Едафски фактори, који обухватају физичка, хемијска и биолошка својства земљишта, од прворазредног су значаја за раст и развој свих биљака, осим водених, епифитских и паразитских врста.

Микро и макро елементи које биљке усвајају из земљишта су од суштинског значаја за њихов раст и развој. Макроелементи, у које спадају N, P, K, као и Ca, Mg и S, неопходни су биљкама у већим количинама, јер играју кључну улогу у бројним физиолошким процесима. С друге стране, микроелементи, као што су B, Mn, Zn, Fe, Cu, Mo и Cl, потребни су у много мањим количинама, али су и даље критични за различите биолошке функције. На пример, гвожђе је важно за синтезу хлорофила, док је цинк укључен у функцију бројних ензима.

Заступљеност микро и макро елемента у земљишту зависи од врсте земљишта, док њихова доступност у великој мери зависи од pH вредности земљишта. Недостатак или вишак одређених елемената може довести до

нутритивног стреса, због чега биљке развијају различите стратегије за њихову оптималну апсорпцију.

pH земљишта такође може значајно да варира. Неутрална земљишта ($\text{pH} \approx 6,0\text{--}7,0$) су најпогоднија за већину биљака и пољопривредних усева, јер нуде оптималне услове за доступност хранљивих материја. У овом опсегу, већина макро и микроелемената је доступна у оптималним количинама. Оваква земљишта су честа у умереним климатским зонама. Кисела земљишта ($\text{pH} < 6,0$) се углавном срећу у тропским и субтропским регионима, где висока влажност и распад органског материјала погодују стварању киселих услова. Могу садржати висок садржај алуминијума и гвожђа, што може смањити доступност других хранљивих материја као што су фосфор и манган због стварања нерастворних комплекса. Алкална земљишта ($\text{pH} > 7,0$) могу имати висок садржај калцијум-карбоната или других алкалних минерала, што за последицу има грађење нерастворних комплекса са нпр. фосфатима. Све ово смањује доступност фосфора, као и неких микроелемената, укључујући гвожђе, манган и цинк. Алкална земљишта се често налазе у сувим или полусувим областима, где је испаравање високо, те се алкални минерали акумулирају у тлу.

Биљке су развиле низ стратегија како би преживеле и успевале у условима неповољних pH вредности земљишта, било да се ради о изразито киселом или алкалном земљишту. Ове стратегије укључују секрецију органских киселина, бикарбоната или полиамина, као и симбиозу са микоризним гљивицама. У случају смањене доступности хранљивих материја, биљке развијају већи коренски систем како би повећале површину за апсорпцију и допрле до дубљих слојева тла где су хранљиве материје присутне у већој концентрацији. У алкалним условима, гвожђе се углавном налази у нерастворним облицима. Због тога биљке секретују органске киселине како би га ослободиле из нерастворних соли, затим продукују специфичне протеине који омогућавају ефикаснији унос Fe^{3+} , или синтетишу и луче фитосидерофоре, органске молекуле који хелирају гвожђе у земљишту и олакшавају његово усвајање.

Као посебан вид прилагођавања на неповољне услове земљишта издваја се симбиоза са микоризним гљивицама, од које обе стране имају

користи. Микоризне гљивице продиру у ћелије коренског ткива биљке и тиме повећавају површину за размену хранљивих материја са биљком (Слика 2.25.). Оне такође продужавају коренски систем биљке својим хифама, што повећава површину апсорпције и омогућава боље усвајање фосфора, азота и микроелемента, из земљишта. Биљке заузврат гљивицама обезбеђују угљене хидрате које производе фотосинтезом и друге органске супстанце.



Слика 2.25. Изглед кореновог система са микоризним гљивицама

Иако су микроелементи, попут цинка, бакра, мангана и селена, неопходни у малим количинама за раст и развој биљака и животиња, њихове повећане концентрације могу имати штетне ефекте. **Селен** (Se) је есенцијалан елемент за животиње и људе, јер улази у састав неких ензима, учествује у функцији штитне жлезде, имуном одговору и синтези и репарацији ДНК, док његова улога у биљкама није потпуно јасна. У ниским концентрацијама (<5 mg/kg), селен може побољшати антиоксидантну одбрану биљке, али у већим концентрацијама постаје токсичан. Токсичност селена потиче од његове сличности са сумпором, због чега се лако инкорпорира у биомолекуле уместо сумпора. Наиме, Se се у биљкама уграђује у аминокиселине селеноцистеин и селенометионин, који се даље уграђују у протеине и нарушавају им структуру и функцију, јер су Se-Se мостови мање стабилни од дисулфидних. Ова појава може имати озбиљне последице по биљке.

Селен је углавном у земљишту присутан у облику селената (SeO_4^{2-}), који је високо растворљив и лако се апсорбује од стране биљака. Постоје земљишта природно богата овим лако доступним обликом селена. Она су изразито токсична за неадаптиране биљке, док је локална флора прилагођена на такве услове. Неке биљне врсте, као што су представници

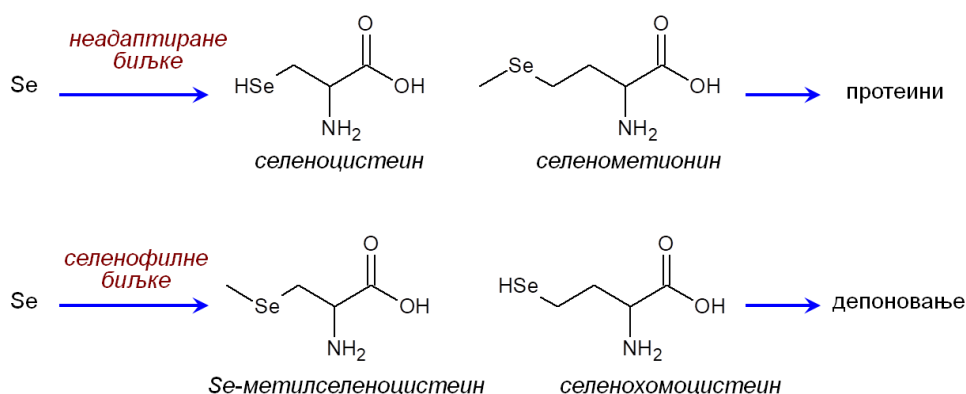
рода *Astragalus* из фамилије Fabaceae (Слика 2.26.), су се толико добро адаптирале на високе концентрације Se, да су постале селененофилне, тј. чини се да је за њихов раст неопходно земљиште богато селеном. Због тога се зову и селен-индикаторске биљке, јер њихов појава на неком земљишту указује на велике концентрације селена. Такође, постоје биљке које могу акумулирати селен у својим ткивима, али он није неопходан за њихов раст, те се зову факултативни акумулатори селена. Ту спада нпр. *Grindelia squarrosa* (Слика 2.26.). Адаптиране биљке могу акумулирати селен у знатно већим количинама (селен-индикаторске биљке чак до 10000 mg/kg) од неадаптираних биљака, које садрже мање од 5 mg/kg. Чини се да је способност адаптираних биљака да преживе високе концентрације селена заснована на способности разликовања неорганског сумпора (SO_4^{2-}) од неорганског селена (SeO_4^{2-}), и усмеравања селена у синтезу аналога непротеиногених аминокиселина – метилселеноцистеина и селенохомоцистеина (Слика 2.27.). Ове две аминокиселине структурно се разликују од Cys и Met и не улазе у синтезу протеина, чиме не доводе до нарушавања функције протеина, него се вероватно безбедно складиште у вакуолама.



Слика 2.26. *Astragalus bisulcatus* – представник селен-индикаторских биљака и *Grindelia squarrosa* – представник биљака акумулатора селена

Високе концентрације селена у биљкама које га акумулирају су веома токсичне за хербиворе. Стока, коњи и друге животиње које се хране овим биљкама лако апсорбују селен кроз гастроинтестинални тракт, због чега се токсичност јавља релативно брзо, већ при уносу од 1–5 mg/kg, што је изузетно мала концентрација у поређењу са количинама које су потребне за изазивање токсичности других елемената. Хронична изложеност високим

концентрацијама селена доводи до стања познатог као селеноза, које се карактерише губитком тежине, оштећењем копита, опадањем длаке, као и оштећењем унутрашњих органа, што може бити фатално ако се не примети на време. Због тога је важно водити рачуна о присуству ових биљака на пашњацима и спречити приступ стоке подручјима са високим концентрацијама селена у земљишту и вегетацији.

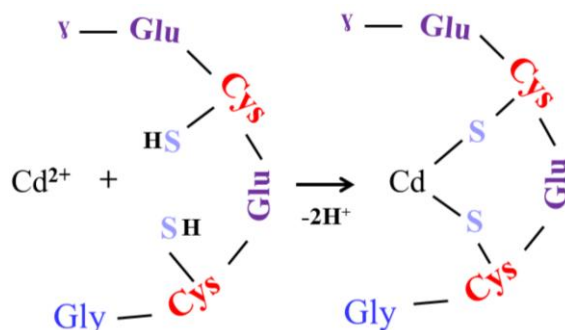


Слика 2.27. Разлика у метаболизму Se између неадаптираних и селенофилних биљака

Такође, неки **прелазни метали**, попут **живе, олова, арсена и кадмијума**, делују токсично на живе организме већ при ниским концентрацијама. Токсично дејство приписује се везивању за ензиме, уз формирање једињења типа соли, које је праћено нарушавањем функције ензима. Утврђено је да неке биљке имају способност прилагођавања на високе концентрације тешких метала у земљишту. Оне могу бити облигатни или факултативни металофити. Пример су врсте фамилије Роасеае (траве), као што су росуља (*Agrostis capillaris* syn. *A. tenuis*) и овчја власуља (*Festuca ovina*), које успешно насељавају висококонтраминирана подручја (нпр. околину постројења за прераду тешких метала). Забележено је да *A. capillaris* може опстати и на земљишту са 1 % Pb.

Ове биљке су развиле различите механизме адаптације на високе концентрације тешких метала. Један од њих је присуство толерантнијих изоформи ензима у односу на оне код неадаптираних биљака. Други је присуство фитохелатина – олигопептида опште формуле $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ ($n=2-11$), способних да хелирају јоне тешких метала (Слика 2.28.). Ова једињења синтетишу се из глутатиона ($\gamma\text{-Glu-Cys-Gly}$) под дејством фитохелатин синтазе, коју присуство наведених јона директно стимулише.

Фитохелатини се након везивања металних јона транспортују и складиште у вакуолама, што смањује њихову токсичност у цитоплазми. Поред у биљкама, фитохелатини су пронађени и у гљивама, нематодама, алгама и цијанобактеријама.



Слика 2.28. Комплексирање кадмијума од стране фитохелатина

Микроорганизми и животиње за детоксификацију метала користе металотионеине (Слика 2.29) – протеине молекулске масе 0,5–14 kDa богате цистеином (~30 %), лоциране у мембрани Голџијевог апарата. Металотионеини такође могу бити присутни и у биљкама.



Слика 2.29. Комплексирање кадмијума од стране хуманог металотионеина 2 (1mhi), љубичасто су обојени Cd^{2+} јони, зелено и жуто – цистеински остаци

Поред пептида, и други органски молекули могу хелирати металне јоне. На пример, код варијетета траве *Deschampsia caespitosa* (Poaceae) који расту на земљишту богатом цинком, цитрат у вакуолама и малат у цитоплазми комплексирају Zn^{2+} јоне, док се код неких других врста, Ni^{2+} комплексира цитратом, а Cr^{3+} оксалатом. Неке врсте имобилизују јоне тешких метала везивањем за негативно наелектрисане делове ћелијских зидова, чиме спречавају њихов улазак у ћелију. Присуство микоризних гљивица које живе у симбиози са кореном може такође

смањити акумулацију тешких метала у ткивима биљака. Оне апсорбују тешке метале и задржавају их у својим хифама. Поред тога могу смањити растворљивост, а самим тим и доступност тешких метала за биљке.

Тешки метали могу такође да индукују појачану продукцију реактивних кисеоничних врста (ROS) и изазову оксидативни стрес у биљкама. Адаптиране биљке имају снажан систем антиоксидантне заштите, који укључује повећане нивое ензима попут супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и глутатион пероксидазе (GSHPx), као и неензимских антиоксиданата (глутатиона, аскорбата, каротеноида) који детоксификују ROS и штите биљку од оксидативних оштећења.

Склоност одређених биљних врста да расту на земљишту богатом тешким металима нашла је примену у рударству, као индикатор минералних депозита. Такође, врсте које добро акумулирају ове метале, могу да се користе за фиторемедијацију, која представља процес употребе биљака за чишћење загађених земљишта.

Висока концентрација соли (NaCl) у земљишту је такође неповољна за већину биљака и може довести до осмотског стреса, што отежава апсорпцију воде и хранљивих материја. Међутим, неке биљке су развиле стратегије за преживљавање на сланим стаништима, као што су слане мочваре, слане пустиње и морске обале (Слика 2.30.). Ове биљке називају се **халофите**.

Захтеви нормалних биљака (нехалофита, тзв. гликофита) за Na^+ су ниски, реда величине mg/kg , и при вишим концентрацијама почињу да се испољавају симптоми токсичности. Већ концентрације од 0,1 % NaCl оштећују осетљивије гликофите, као што су парадајз и грашак. С друге стране, халофите су отпорне на високе концентрације соли и чак могу захтевати NaCl у концентрацијама од 1–2 % за нормалан раст. Неке врсте могу поднети чак и до 20 % NaCl, мада се у сланом земљишту обично налази мање, између 2 % и 6 %.

Утврђено је да се ензими халофита и гликофита не разликују, одн. ензими халофита немају повећану отпорност на висок ниво соли. Уместо тога, постоје други механизма адаптације, као што су **акумулација** NaCl у вакуолама, **спречавање уласка** NaCl у ћелију и **разблаживање** раствора

NaCl након уласка у биљку. Тако *Salicornia* врсте (Слика 2.30.) складиште со у вакуолама, где његова концентрација може да достигне 10%. Ова стратегија служи за смањење осмотског притиска у цитоплазми, а со у вакуолама додатно помаже у одржавању структурног интегритета ћелије. *Salicornia* је позната и као морска шпаргла или стакленка. Расте у приобалним морским подручјима и има благо слан и хрскав укус. Данас ова биљка постаје све популарнија у исхрани због својих нутритивних предности (богата минералима и антиоксидантима, а нискокалорична). Осим тога ова биљка има велики потенцијал као одржива пољопривредна култура, пошто не захтева заливање слатком водом и расте на земљиштима где друге пољопривредне културе не успевају.



Слика 2.30. Представници халофита – *Salicornia dolichostachya* (лево) и *Triglochin maritima* (десно)

Следећи механизам адаптације је **спречавање уласка** натријумових (Na^+) и хлоридних (Cl^-) јона из земљишта у биљку. Ово се остварује захваљујући селективним јонским каналима у коренском систему, који пропуштају само одређене јоне, попут K^+ и Ca^{2+} , који су неопходни за раст биљке, док блокирају улазак Na^+ . Поред тога, у мембранама ћелија корена налазе се јонске пумпе, као што је Na^+/H^+ антипорт пумпа, која уз помоћ енергије из АТФ-а активно избацује вишак натријумових јона назад у земљиште или у апопласт (међупростор између ћелија), чиме се смањује концентрација Na^+ у ћелијама. Осим што спречавају улазак Na^+ јона, ови механизми омогућавају биљци да одржи правилну јонску равнотежу између калијума и натријума (K^+/Na^+), што је од суштинског значаја за нормално функционисање физиолошких процеса. Додатно, адаптиране биљке често

повећавају унос K^+ како би надокнадиле повећано присуство натријума и одржале овај баланс.

Још један начин на који адаптиране биљке смањују концентрацију NaCl у ћелијама је његова расподела широм биљке, путем активног транспорта Na^+ и Cl^- из кореновог система у све остале делове биљке. Овај процес спречава задржавање соли на једном месту и омогућава да се концентрација соли у појединачним ћелијама смањи. Биљке такође могу наглим повећањем биомасе постићи ефекат разблаживања соли, јер брзим растом, новоформирано ткиво апсорбује NaCl, смањујући његову концентрацију по ћелији. Поред тога, неке халофите имају специјализоване жлезде које избацују вишак соли на површину листова, одакле се она касније спира кишом или се накупља у виду у виду ситних кристала на површини биљке.

Додатни проблем за биљке на сланим земљиштима је **низак осмотски потенцијал**, што значи да им је способност апсорпције воде путем осмозе смањена. Као резултат, јавља се осмотски стрес, због којег коренов систем тешко извлачи воду из земљишта, чак и када у земљишту има довољно воде. Последице, халофите често имају модификовану анатомију, укључујући задебљале кутикуле, површине прекривене воском или смањен број стома, како би ограничиле испаравање и задржале воду.

Како би се додатно одбраниле од осмотског стреса, халофите производе и акумулирају **органске осмолите**, за које смо већ раније видели (код биљака адаптираних на сушу) да помажу у одржавању осмотске равнотеже без ометања ћелијских функција. Испитивања су показала да већина халофита акумулира два азотна једињења, пролин и глицин-бетаин (Слика 2.24.). Садржај пролина може бити и до 10 пута већи од уобичајеног садржаја у пулу слободних аминокиселина гликофита. Екстремни случај је *Triglochin maritima* (приморски трозубац, Слика 2.30.), код кога слободни пролин може чинити чак 10–20 % од укупне суве материје. Утврђено је да код гликофита концентрација пролина драстично расте при повећању салинитета средине, што потврђује да он учествује у адаптивном одговору. Осмолити омогућавају биљци да поднесе много јачи осмотски стрес. Наиме, биљка депонује Na^+ и Cl^- у вакуоле, где су безбедно

ускладиштени и не могу интераговати са ћелијским протеинима. Међутим, концентрација растворених супстанци у цитоплазми је тада много мања од концентрације у вакуоли, због чега вода из цитоплазме тежи да уђе у вакуолу. Ово се спречава повећањем концентрације осмолита у цитоплазми, који доприносе да се концентрације растворених супстанци у цитоплазми и вакуоли изједначе. Поред пролина и глицин-бетаина, откривено је још преко 50 једињења у различитим биљкама, која се понашају као осмопротектори, из група цвистерјона (са азотом или сумпором), полиола и флавоноид-сулфата. Тако су за фамилију Brassicaceae (крсташице) карактеристични осмопротектори аминокиселине, за Chenopodiaceae (лободовке) кватернерна азотна једињења, док су за Asteraceae (главочике) карактеристични цикликоли и растворни шећери.

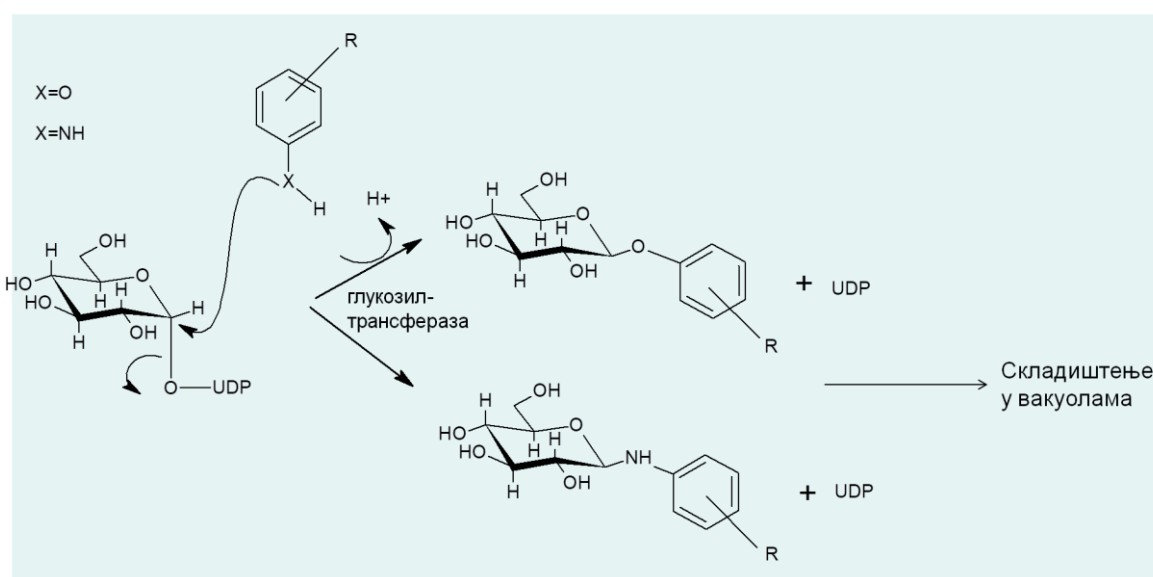
2.8. АДАПТАЦИЈА НА АНТРОПОГЕНЕ ФАКТОРЕ

Поред абиотичких фактора природног порекла, биљке су данас изложене и стресорима хуманог порекла (антропогеним факторима). Ови стресори укључују различите хемијске супстанце које делују токсично на биљку, а које првенствено потичу из индустријских отпадних и саобраћајних издувних гасова. Поред тога, пестициди и њихови деградациони производи представљају значајане хемијске стресоре. Ипак, биљке успевају да опстану када се ове стране хемијске супстанце (ксенобиотици) нађу у њиховим ткивима, захваљујући моћним механизмима за њихову детоксикацију и безбедно складиштење.

Метаболизам ксенобиотика у биљкама обухвата три фазе. У првој фази се у молекул ксенобиотика уводи реактивна функционална група уколико молекул већ не поседује неку од таквих група (хидроксилне групе или групе са азотом). Увођење реактивне групе омогућава лакшу конверзију ксенобиотика у наредним фазама и најчешће се одвија реакцијама оксидације, редукције или хидролизе. У другој фази се уведена функционална група конјугује са неким од ендогених молекула, најчешће са шећером или глутатионом. Циљ овог корака је да се ксенобиотик учини још поларнијим и лакшим за транспорт. У последњој фази, ксенобиотици се или транспортују у специфичне органеле, вакуоле, где се складиште, или се

у реакцијама секундарне конјугације претварају у нерастворна једињења и тако постају неактивни и безбедни за биљку. Ови продукти се депонују у ћелијском зиду биљке или другим деловима где не могу да изазову штету.

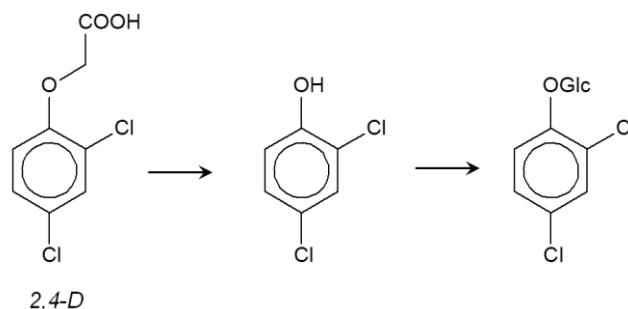
За разлику од животиња, код којих се ксенобиотици у реакцијама гликозилације у фази II метаболизма претежно преводе у глюкуронозиде, код биљака је доминантно њихово превођење у глюкозиде. Ова реакција тече уз утрошак UDP-глукозе, а катализована је глюкозилтрансферазом (Слика 2.31.).



Слика 2.31. Трансформација ксенобиотика у глюкозид деловањем глюкозил-трансферазе уз утрошак UDP-глукозе

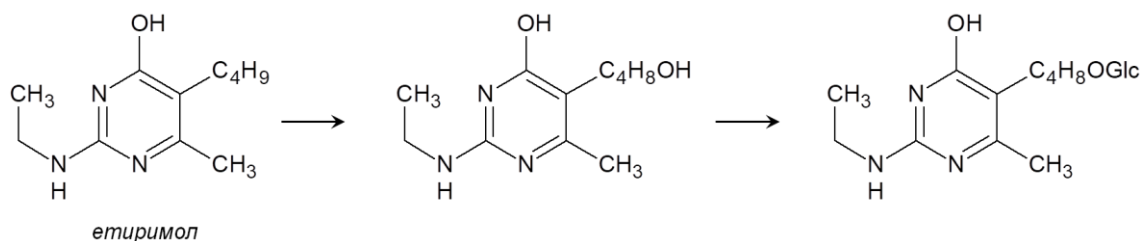
Пресудну улогу у ефикасности хербицида, као селективних средстава за сузбијање корова, има способност гајених биљака да ефикасно метаболишу и детоксификују ове ксенобиотике. Ови механизми омогућавају гајеним врстама да преживе, док корови, који нису способни за брзу детоксикацију, доживљавају поремећаје у расту и на крају пропадају. На пример, примена 2,4-D (2,4-дихлорфеноксисирћетне киселине) заснива се на чињеници да је гајене врсте лако разлажу, док корови то не успевају, због чега долази до поремећаја у њиховом расту и увенућа. Наиме, овај хербицид делује као ауксин (хормон раста) и индукује пребрз раст који је неодржив, због чега биљка увене. За активност је кључно присуство бочног низа, кога само неколико пољопривредних култура (кукуруз, пшеница и друге житарице) може довољно брзо да

деградира, а затим настали 2,4-дихлорофенол преведе у гликозид и складишти у вакуолама (Слика 2.32.).



Слика 2.32. Један од начина детоксикације 2,4-дихлорфеноксисирћетне киселине у пољопривредним културама

У последњих 50 година у пољопривреди се користе и системски фунгициди за заштиту житарица и поврћа од гљивичних инфекција. Ови пестициди се апсорбују од стране биљке, којој не штете, и дистрибуирају се по свим ткивима. За разлику од контактних пестицида који се наносе на површину биљке, ова једињења могу се применити већ на семе, а након клијања остају активна довољно дуго да обезбеде заштиту биљке током целе вегетационе сезоне. Ова једињења могу такође подлећи реакцијама детоксикације, при чему је понекад управо продукт ових реакција активан облик фунгицида. Пример је етиримол, за који се претпоставља да делује као антиметаболит (омета метаболизам аденина). Време полураспада етиримола у јечму је само 3 дана. Наиме, он у биљци подлеже оксидацији бочног бутил-низа и гликозилацији насталог алкохола (Слика 2.33.), при чему настаје гликозид који има фунгицидно дејство.



Слика 2.33. Трансформација етиримола (оксидацијом и гликозилацијом) у активни фунгицид

На основу свих информација изнесених у овом поглављу, може се закључити да адаптација биљака на абиотичке факторе обухвата веома сложене и динамичне процесе. Захваљујући способностима да се прилагоде разноврсним абиотичким факторима, па чак и екстремним условима,

биљке су успеле да населе готово сваки део планете – од пустиња до влажних тропских шума, од поларних подручја до топлих гејзира. Ова прилагодљивост је омогућила не само њихов опстанак, већ и стварање сложених екосистема који обезбеђују услове за живот бројних других организама, чиме је биосфера постала разноврсна и одржива на глобалном нивоу.

БИОХЕМИЈСКЕ ОСНОВЕ ПОЛИНАЦИЈЕ

03

3.1. БИОЛОГИЈА ПОЛИНАЦИЈЕ И ОПЛОДЊЕ

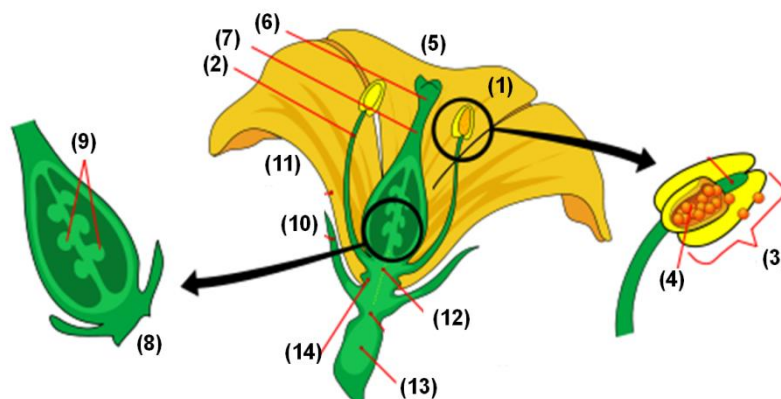
Размножавање биљака представља основни процес одржавања врсте, који може бити полан или бесполан, зависно од врсте и услова у којима биљка расте. **Бесполно размножавање** омогућава биљкама да брзо и ефикасно стварају потомство које је генетски идентично матичној биљци (клонови), користећи делове попут корења, стабљика или листова из којих израста нова биљка. С друге стране, **полно размножавање** (сексуална репродукција) укључује процес оплодње, у којем се мушке и женске полне ћелије (гамети) спајају како би формирале семе. У овом случају се гени обе родитељске биљке комбинују, чиме се обезбеђује већу варијабилност и диверзитет гена у оквиру врсте. Стварање нових комбинација гена повећава шансе за опстанак јер може помоћи биљкама да се боље прилагоде променама у окружењу, да постану отпорније на болести и штеточине, и да се смањи број рецесивних гена. Овај процес омогућава природну селекцију, где биљке са повољнијим особинама имају већу вероватноћу да опстану и размножавају се, чиме доприносе дугорочном еволутивном развоју врсте.

Полно размножавање је карактеристично за **голосеменице** и **скривеносеменице** (цветнице). Како би дошло до оплодње неопходно је да се полен са мушког репродуктивног дела биљке пренесе на женски репродуктивни део у процесу који се зове **полинација** или опрашивање. Када се мушки гамети из полена споје са женском јајном ћелијом, формира се семе из којег касније расте нова биљка. Полинација може да буде абиотичка и биотичка. Абиотичко опрашивање подразумева пренос полена уз помоћ ветра или воде. Овим начином полинације служи се око 20 %

биљних врста, при чему је ветар најзаступљенији преносилац (98 %), док је опрашивање путем воде ретко и јавља се код свега 2 % врста, углавном акватичних биљака. Код биотичке полинације полен са мушких на женске делове биљке преносе опрашивачи, од којих су најчешћи инсекти и птице. На опрашивање уз помоћ ветра најчешће се ослањају голосеменице, док код скривеносеменица полен преносе претежно опрашивачи.

Голосеменице (Gymnospermae) су еволутивно старије од скривеносеменица, немају цветове, него шишарке, које су увек једнополне. Мушке шишарке садрже поленове кесице, а женске семене заметке са јајним ћелијама. Када ветар донесе полен на женске шишарке, израста поленова цев кроз коју мушки гамет стиже до јајне ћелије и долази до оплодње. Оплодња је једноставнија него ког скривеносеменица, али може потрајати месецима након опрашивања, јер је полену потребно време да израсте поленова цев.

Цветнице или **скривеносеменице** (Angiospermae/Magnoliophyta) су еволуционо млађе – јављају се први пут пре 160 милиона година, а постају доминантне на Земљи пре 60–100 милиона година. Код њих су се за процес оплодње развиле сложене репродуктивне структуре – цветови. Цвет се састоји од репродуктивних и помоћних органа (Слика 3.1.). Мушки репродуктивни орган чине прашници. Прашници садрже поленове кесице са поленом у коме се налазе мушки гамети. Женски репродуктивни орган је тучак. Он садржи плодник у коме су смештени семени заметци у којима се налазе женски гамети. Када полен доспе на тучак, почиње процес оплодње, што доводи до стварања семена. Поред делова директно укључених у процес оплодње, цвет се састоји и од помоћних органа, као што је цветна чашица (састављена од чашичних листића) и круница (састављена од круничних листића – латица). Круница има функцију привлачења опрашивача својим обликом, бојом и мирисом. У подножју тучка налази се низ жлезда – нектарија, које луче нектар – слатку течност која привлачи опрашиваче.



Слика 3.1. Грађа цвета. Репродуктивни органи: мушки: 1 – прашници (2 – поленова дршка, 3 – прашница, 4 – кесице); женски: 5 – тучак (6 – жиг, 7 – стубић, 8 – плодник, 9 – јајне ћелије), помоћни органи: 10 – чашични листићи, 11 – латице, 12 – цветна ложа, 13 – цветна дршка, 14 – нектарије

Код цветница је питање пола доста сложено. Наиме, појединачни цветови могу имати само прашнике или само тучак, у ком случају се цвет назива једнополним, некомплетним или несавршеним, или имати и прашнике и тучак, када је цвет двополан, хермафродитски, комплетан или савршен. Даље, цела биљка се према природи цветова које носи може сврстати у хермафродитне (има само хермафродитне цветове), једнодоме (има и мушке и женске цветове), дводоме (има само мушке или само женске цветове), и полигамне (има истовремено и мушке, и женске, и хермафродитне цветове).

Процес оплодње почиње када зрна полена са једне биљке доспеју на жиг тучка друге биљке. У контакту са секретом жига (раствор сахарозе) долази до формирања поленових цеви, кроз које мушки гамети стижу до јајне ћелије у семеном зачетку плодника. Из оплођене јајне ћелије развија се клица. Постоје и неке еволутивно млађе врсте, код којих полен може прећи са једног цвета на други у оквиру исте биљке или са прашника на тучак истог цвета (самоопрашивање). То су обично биљке које се не могу ослањати на опрашиваче, због кратког животног века или потребе за брзим ширењем на нове локације. Пример су многе лекуминозе (Fabaceae), укључујући соју, грашак и кикирики, као и сунцокрет, орхидеје итд. Неке од њих (нпр. соја) фаворизују полен пореклом са других биљака и прибегавају самоопрашивању само уколико није дошло до опрашивања са другом биљком. Такође, велика већина биљних врста са хермафродитским

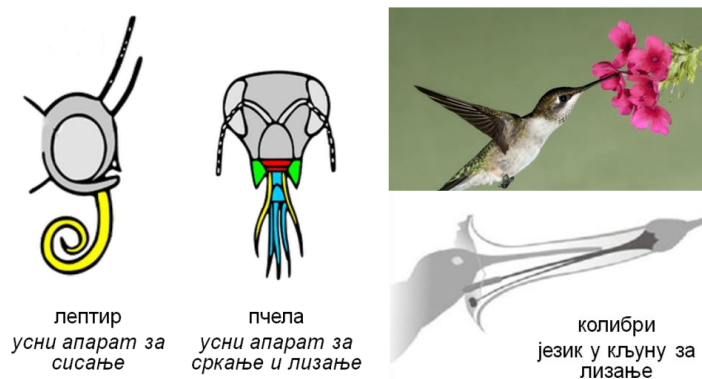
цветовима поседује имунолошке баријере за заштиту од самоопрашивања и захтева опрашивање поленом других јединки.

Кључну улогу у процесу сексуалне репродукције код цветница имају **опрашивачи**, који преносе полен са прашника на тучак. Код највећег броја врста улогу опрашивача играју инсекти. У умереним крајевима најважнији опрашивачи су пчеле (род *Apis*). Њихова ефикасност у преношењу полена потиче од специфичне грађе тела и понашања, јер током сакупљања нектара и полена за сопствену исхрану, пчеле истовремено врше опрашивање. Поред пчела, чести опрашивачи су бумбари (род *Bombus*), док се неколико ситнијих врста инсеката, укључујући муве и буве, ређе јављају и мање су ефикасне. У тропским крајевима, спектар опрашивача је много шири и обухвата колибрије, осе, тврдокрилце (ред *Coleoptera*) и велики број тропских лептира (ред *Lepidoptera*). Такође, одређене биљне врсте, чији цветови се отварају ноћу, ослањају се на ноћне опрашиваче у које спадају мољци и слепи мишеви. У ретким случајевима, улогу опрашивача могу имати и глодари, као што су мишеви.

У већини случајева, животиње које посећују цветове то чине ради храњења нектаром, а успут сакупљају полен и преносе га на други цвет, доприносећи опрашивању. Међутим, постоје случајеви где животиње посећују цветове и "краду" нектар без учешћа у опрашивању. Пример за то су мрави, који су често довољно мали да уђу у цвет без додиривања репродуктивних органа биљке. Ипак, понекад и мрави могу бити ефикасни опрашивачи. На пример, мрави врсте *Formica argentea* успешно опрашују биљку *Polygonum cascadenense*.

У еволуцији цветница и њихових опрашивача, постепено је долазило до међусобног прилагођавања (коеволуције). Овај процес је довео до стварања специјализованих односа између одређених биљака и специфичних опрашивача. Овај феномен познат је као **"верност опрашивача"**, где опрашивачи често преферирају одређене врсте биљака, некад чак само једну врсту, што повећава шансе за успешно опрашивање и репродукцију тих биљака. Коеволуција, са друге стране, ограничава биљке и опрашиваче на узајамну зависност.

Биљке морфологију и хемијски састав (боју и мирис) својих цветова прилагођавају како би одговарале морфологији тела својих главних опрашивача. На пример, врсте које опрашују пчеле имају цветове са кратким, широким круницама, јер пчеле могу лако слетети на њих и дохватити нектар својим усним апаратом за сркање и лизање (Слика 3.2.). Цветови које опрашују лептири имају уске крунице средње дужине, прилагођене њиховом дугачком усном апарату за сисање (Слика 3.2.). Код врста чији је полинатор колибри, крунице цветова су дуге и уске, прилагођене њиховом дугом и уском кљуну (Слика 3.2.). Биљке које опрашују птице обично не производе мирис, већ имају црвене латице, јер већина птица нема довољно осетљиво чуло мириса, али зато одлично препознаје црвену боју. Екстремни случај специфичности је смоква (род *Ficus*), код које за скоро сваку врсту постоји одговарајућа врста осе-опрашивача. Због тога ће биљке са мутацијама које мењају боју цвета бити дискриминисане и имати мање шансе за репродукцију.



Слика 3.2. Различити органи опрашивача за узимање нектара из цвета

3.2. БИОХЕМИЈСКИ АСПЕКТИ ПОЛИНАЦИЈЕ

За успешно опрашивање, од пресудне је важности да биљка успостави контакт са опрашивачем и привуче га. У тој интеракцији посредују три биохемијска фактора: мирис цвета, боја цвета, као и хранљива вредност нектара и полена.

Обично, први сигнал који опрашивач региструје када се приближава биљци је олфакторни (мирис). Опрашивачи, нарочито инсекти, имају високоразвијено чуло мириса, јер се често у својој међусобној комуникацији ослањају на феромоне, који се преносе ваздухом, а ослобађају се у изузетно малим концентрацијама. Због тога су способни да детектују и мирисне сигнале цветова – терпене и друга испарљива органска једињења – која их привлаче ка цвету.

Када се опрашивач довољно приближи цвету, он региструје и визуелни сигнал – боју цвета (у видљивом и ултравиолетном спектру), насупротив околним зеленим деловима биљке. Свака врста опрашивача има своје „омиљене“ боје цветова које их привлаче. Додатне ознаке на цвету могу усмерити инсекта дубље унутар цвета, где бива „награђен“ хранљивим нектаром и поленом.

Иако је екологија опрашивања детаљно истражена, постоји мало података о биохемијским аспектима овог процеса. Комплексност овог питања произилази из чињенице да свака група биљака развија своју јединствену стратегију за привлачење опрашивача, уз постојање великог броја различитих адаптација којима се то остварује. У даљем тексту биће речи о биохемијским основама обојености цветова и преференцијама опрашивача за одређене боје, природи и функцији цветног мириса, као и о саставу и улози нектара.

3.2.1. Боја цвета

Боја цвета потиче од присуства пигмената у хромопластима или вакуолама ћелија цвета. Док је код животиња боја чешће заснована на рефлексији и рефракцији светлости, код биљака се заснива на апсорпцији светлости од стране различитих органских једињења – пигмената (Табела 2.1).

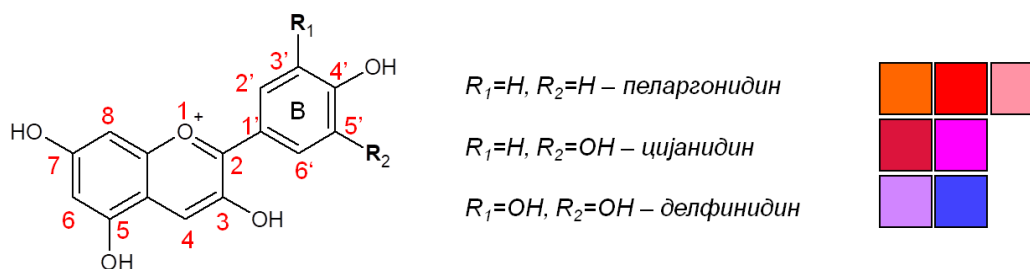
Табела 2.1. Представници пигмената, њихове боје и заступљеност у биљкама

Боја	Пигмент	Заступљеност
бела, крем	флавонони (лутеолин) и/или флаваноли (нарингенин)	95 % белих цветова, апсорбују у UV-области
	каротеноиди	већина жутих
жута	жути флаваноли	<i>Primula, Gossypium</i>
	антохлори	<i>Dahlia, Oxalis, Linaria</i>
	каротеноиди + жути флаваноиди	<i>Coreopsis, Rudbeckia</i>
наранџаста	каротеноиди	<i>Calendula</i> (невен), <i>Lilium</i>
	пеларгонидин+ аурон	<i>Antirrhinum</i>
Црвена	пеларгонидин	<i>Salvia</i> (жалфија)
	цијанидин + каротеноиди	<i>Tulipa</i> (лала)
Смеђа	цијанидин + каротеноидна позадина	Orchidaceae (орхидеје)
магента, гримизна	цијанидин	<i>Rosa</i> (ружа) и већина црвених цветова
Розе	пеонидин	<i>Rosa rugosa</i>
љубичаста	делфинидин	<i>Verbena</i>
	цијанидин + копигмент/метал	<i>Centaurea</i> (кичица)
Плава	делфинидин + копигмент/метал	<i>Gentiana</i> (линџура) и већина плавих цветова
црнољубичаста	делфинидин (концентриран)	црна лала
зелена	хлорофил	<i>Helleborus</i> (кукурек)

Најраспрострањенија класа цветних пигмената су флавоноиди, који доприносе жутој, наранџастој, црвеној, љубичастој и плавој боји. Флавоноиди се синтетишу у цитоплазми на мултиензимским комплексима званом флавоноид метаболони, који су слабо везани за површину ендоплазматичног ретикулума окренуту цитоплазми, а затим се кладиште у вакуолама. Најзначајнија подкласа флавоноида која доприноси боји цветва су антоцијани, чија боја варира од наранџасте, преко црвене и љубичасте до плаве. Они су гликозиди антоцијанидина, који представљају молекуле у чијој основи се налази флавилијум -катјон (Слика 39). Најчешће су гликозиловани у положају C-3. Због присуства шећера, добро се растварају у води, а слабо у органским растварачима.

Структуре антоцијана потичу од три основна антоцијанидина: **пеларгонидина** (Pg), који даје наранџасто-црвене боје, **цијанидина** (Cy), који је одговоран за гримизне и магента боје, и **делфинидина** (Dp) који

даје ружичасто-љубичасте и плаве нијансе (Слика 3.3.). Структурно, ова једињења разликују се само по броју хидроксилних група на **В-прстену**.



Слика 3.3. Структуре и боје три основна цијанска пигмента

У цветницама се антоцијани јављају појединачно или, повремено, у комбинацији, дајући веома широк спектар нијанси боја (Слика 3.4.).



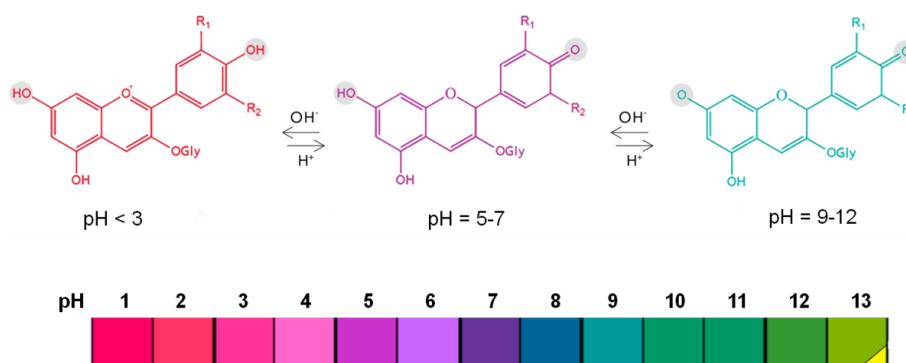
Слика 3.4. Примери различитих боја цветова које потичу од антоцијана

Антоцијани се, поред у цветовима, често налазе и у плодовима, где играју важну улогу у привлачењу биљоједа (Слика 3.5.). Јарке боје које дају плодовима – попут црвене, љубичасте и плаве – сигнализирају да је плод зрео и спреман за јело, чиме привлаче животиње које се њима хране. Након што поједу плод, животиње разносе семе и тако доприносе размножавању и ширењу биљке. Ова природна сарадња између биљака и животиња од кључне је важности за одржавање екосистема. Антоцијанима су нарочито богати плодови биљака из родова *Vaccinium*, као што је боровница, *Rubus*, где спадају малине и купине, неких примерака рода *Prunus* (вишње, трешње) и патлицана. У неким случајевима, и листови биљака могу бити обојени антоцијанима. Тако црвена боја листова неких биљака представља сигнал биљоједима да биљка није јестива. Такође, присуство антоцијана у фотосинтетичким ткивима (лист, стабло), може имати улогу заштите ткива од оштећења UV зрачењем, јер ова једењења ефикасно апсорбују UV зраке.



Слика 3.5. Примери различитих боја плодова које потичу од антоцијана

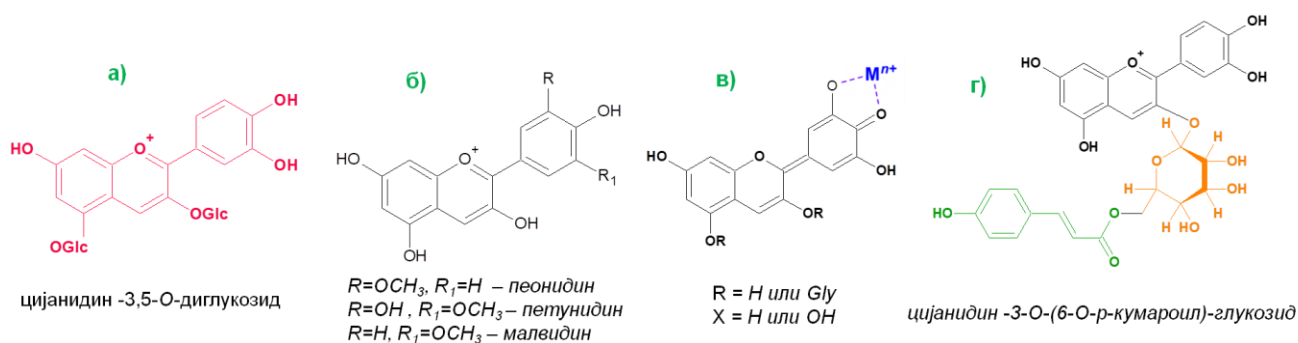
На боју антоцијана у биљкама утичу бројни фактори, укључујући његову концентрацију, образац хидроксилације, гликозилацију ОН група на В-прстену, метиловање хидроксилних група, рН вредност, као и присуство копигмената, метала, ароматичних ацил-супституената и других пигмената. Када је антоцијан присутан у биљци у ниској **концентрацији**, он дају цвету светлију боју, попут ружичасте, док веће концентрације могу резултовати тамнијим нијансама, попут црвене, па чак и црне. Даље, на боју антоцијанидина нарочито утиче **рН вредност**. Најчешће су у јако киселим условима (рН 2–4) црвене боје, затим при рН 5–6 боја прелази у љубичасту, а при рН 7–9 постепено постаје плава. На рН 10–11 су најчешће зелене боје, а при рН 12–13, чак могу постати и жути (Слика 3.6.).



Слика 3.6. Структура антоцијана и промена њихове боје са променом рН

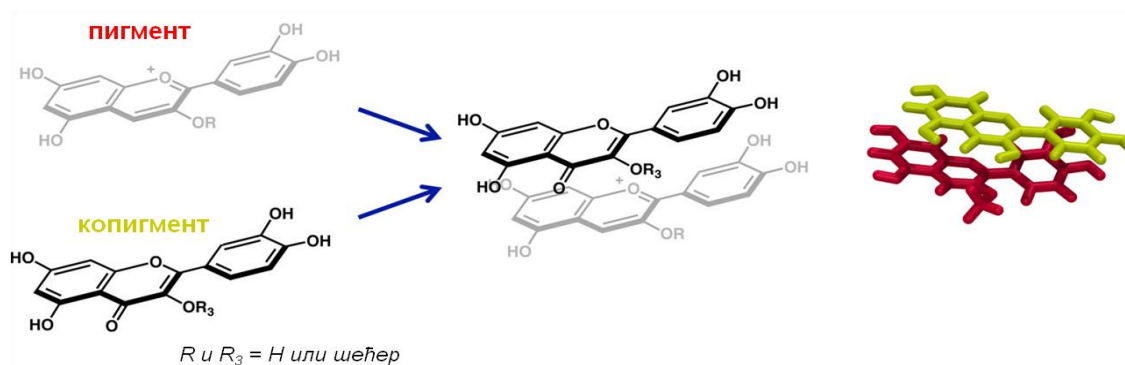
Поред на рН, антоцијани могу да буду веома осетљиви и на друге спољашње факторе, као што су повишена температура и светлост. Због тога биљке често модификују структуру антоцијанидина како би, с једне стране, повећале њихову стабилност, а с друге, промениле боју у складу са потребама. Гликозилација и метиловање су хемијске модификације које доприносе стабилности антоцијанидина (Слика 3.7.). **Гликозилацијом** се на молекул антоцијанидина додаје шећер, и то најчешће у положају С-3 (понекад и С-5 или ређе на положају С-3'), што стабилизује молекул, али не

утиче значајно на промену боје. Сви антоцијанидини се *in vivo* налазе у виду гликозида (антоцијана). **Метиловање** подразумева додавање метил-групе ($-\text{CH}_3$) на слободне хидроксилне групе антоцијанидина. Ова модификација благо појачава црвену боју и истовремено додатно стабилизује молекул. Поред тога, неки **метални јони**, попут Mg^{2+} и Al^{3+} , могу да формирају комплексе са неким антоцијанинима што појачава плаву боју цвећа (Слика 3.7.). Следећа врста модификације је **ациловање** хидроксилне групе шећерног остатка, који је већ везан за антоцијанидин, органским киселинама, као што су хидроксициметне киселине, малонска киселина, или ређе, дуголанчане масне киселине (Слика 3.7.). Ациловање повећава стабилност антоцијана, чинећи их отпорнијим на светлост, повишену температуру и промене рН. Ове групе такође штите антоцијанидинско језгро од напада нуклеофила (попут OH^-). Ацил-групе могу узроковати померање боје антоцијана ка плавим или љубичастим нијансама, јер утичу на начин на који антоцијан апсорбује светлост. Због тога се каже да делују као копигменти – супстанце које мењају боју пигмента са којим су у интеракцији, без директног учешћа у апсорпцији светлости.



Слика 3.7. Примери хемијске модификације антоцијанидина. а) гликозилација; б) метиловање; в) комплексирање са металом (M^{n+}); г) ациловање гликозида

Као **копигменти** антоцијана могу се јавити и флавоноиди из класе **флаводана** и **флавонола**, али се они не везују за антоцијан ковалентном везом, већ слабир нековалентним интеракцијама (најчешће π - π *stacking* интеракције), због чега се ово зове интермолекуларска копигментација (Слика 3.8.).



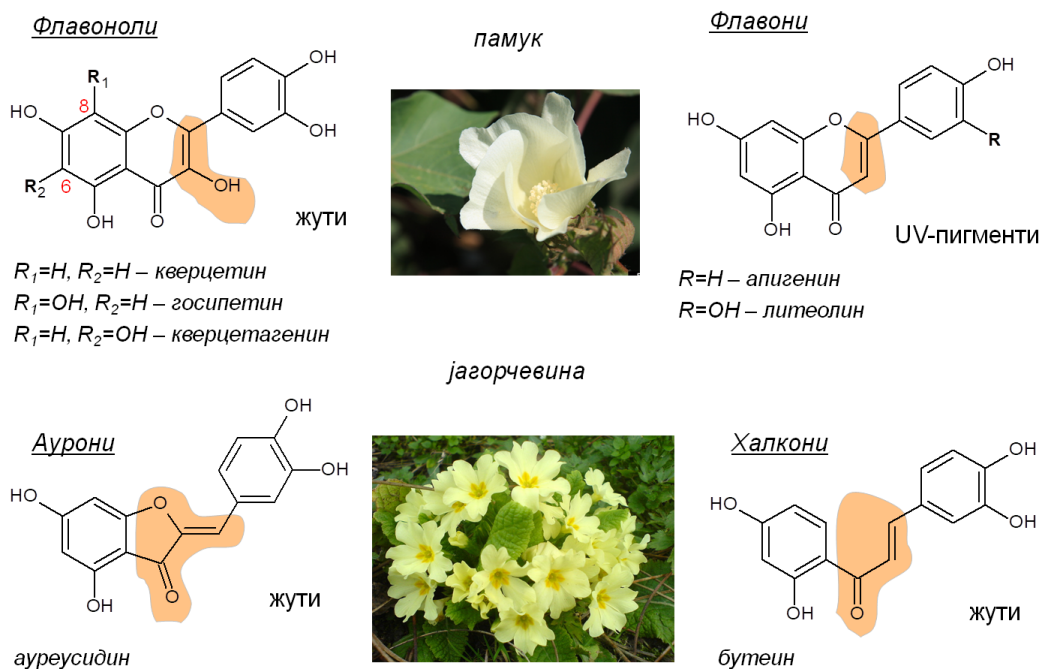
Слика 3.8. Пример интермолекуларске копигментације: π - π stacking интеракције између пигмента (антоцијан) и копигмента (флавонол)

Раније се мислило да је њихова једина функција у цвету померање нијансе ка плавој боји. Међутим, данас је познато да ови флавоноиди увек прате антоцијанидине, при чему се однос антоцијанин – флавон/флавонол разликује од врсте до врсте, и углавном помажу стабилизацији пигмента при рН вредности цветног сока, која је обично између 4 и 5.

Поред антоцијана, и друге класе **флавоноида** могу бити одговорни за боју цвета, али у мањој мери. Функцију жутих пигмената имају поједини представници флавонола, халкона и аурона (Слика 3.9.). Флавоноли као што су госсипетин и кверцетагетин (и њихови деривати) одговорни су за боју цветова памука (*Gossypium hirsutum*, Malvaceae), јагорчевине (*Primula vulgaris*, Primulaceae), *Chrysanthemum segetum* (Asteraceae) и других. За интензивну жуту боју неопходно је присуство хидроксилне групе у положају С-6 или С-8.

Аурони и халкони (заједнички названи антохлори) посебно су заступљени у родовима *Coreopsis* и *Dahlia* (далија) из фамилије Asteraceae, али су присутни и у многим другим фамилијама. Често се јављају заједно. Њихово присуство у жутих латицама лако се доказује излагањем амонијаку, након чега латице добијају црвену боју.

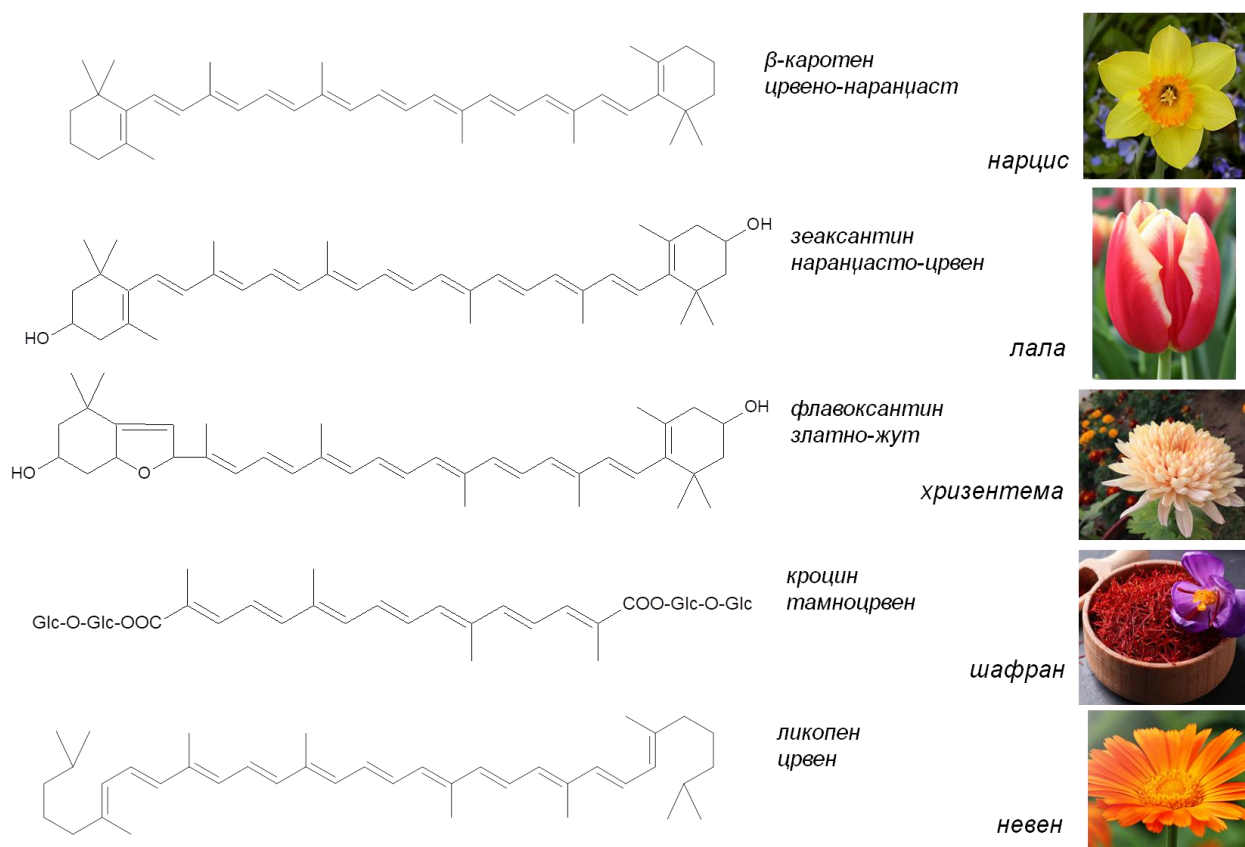
Одређени флавоноиди имају улогу **UV-пигмената** захваљујући интензивној апсорпцији у UV подручју. Примери су **флаволи** апигенин и лутеолин (λ_{max} 335–350 nm) и **флавоноли** кверцетин и кемферол (λ_{max} 360–380 nm) (Слика 3.9.). Они не апсорбују у видљивом делу спектра, због чега цветови који их садрже имају белу или бледу боју. Међутим, то не спречава опрашиваче који виде у UV области да их уоче.



Слика 3.9. Структуре флавоноидних пигмената и цветови биљака које их садрже

Друга веома заступљена група пигмената су **каротеноиди**, који обично дају жуту боју цвету, али се могу јавити и наранџасте и црвене нијансе (Слика 3.10.). Каротеноиди се синтетишу и складиште у хромопластима – органелама које спадају у пластиде, што значи да су настале од симбиотских прокариота.

У неким случајевима, боја може потицати од **смеше** неколико структурно независних **пигмената**. На пример, код фамилије *Asteraceae* се истовремено јављају жути флавоноиди и жути каротеноиди. Иако коришћење два независна пута за синтезу жутог пигмента може деловати као непотребно трошење ћелијских ресурса, не треба заборавити да ове две класе потпуно различито апсорбују светлост у UV области, што омогућава формирање шара на цвету за навођење инсеката.



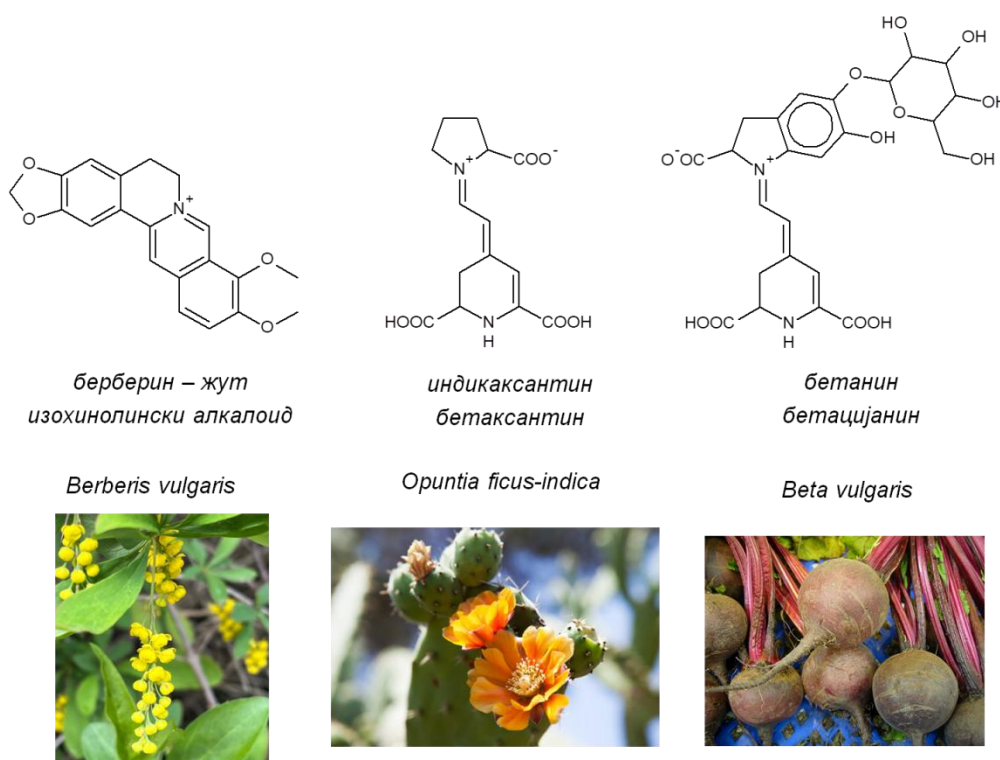
Слика 3.10. Структуре каротеноидних пигмената и цветови биљака које их садрже

Поред флавоноида и каротеноида, улогу пигмената у биљкама могу имати и још неке групе једињења, али је њихов значај у привлачењу опрашивача знатно мањи, јер обично имају друге улоге у биљци. Ту спадају **хинони**, црвени и жути пигменти, као што је лавзон из биљке кана (*Lawsonia inermis*), који превенствено штите биљку од бактеријских и гљивичних инфекција због јаког антимикуробног деловања, или одбијају хербиворе, а врло мало доприносе привлачењу опрашивача. Овде такође спадају и **алкалоиди** (жути, наранџасти или црвени), **беталаини** (жути, црвени и љубичасти), као и хлорофили (зелена нијанса).

Алкалоиди су секундарни биомолекули који садрже азот у својој структури, обично у оквиру хетероцикличног прстена, и најчешће се синтетишу из аминокиселина. Имају базна својства, горког су укуса, често су токсични, и због тога се сматрају одбрамбеним једињењима, јер служе као фагорепеленти, односно одбијају биљоједе. Међутим, поред своје заштитне улоге, алкалоиди могу доприносити и боји одређених биљака. Пример је **берберин**, жути бензилизохинолински алкалоид, који се налази у

биљкама рода *Berberis* (Слика 3.11.). Иако даје жуту боју цвету, то нема нарочиту улогу у полинацији код *Berberis* врста (жутика), јер се оне код привлачења опрашивача претежно ослањају на интензиван мирис и обиље нектара, док берберин првенствено делује као заштита од биљоједа.

Важно је споменути и **беталаине** – пигменте који потичу од фенилаланина. Ови пигменти се у биљкама налазе искључиво у врстама из реда *Caryophyllales* (где спадају кактуси, цвекла, многе биљке месождерке итд.), где замењују антоцијане. Могу да се нађу у цветовима, плодовима, стабљици, листовима и корену. Беталаини се деле на бетацијанине, који су црвенкасти или љубичасти, и бетаксантине, који су жути или наранџасти. Примери укључују индиксантин из кактуса опунција (*Opuntia ficus-indica*) и бетанин из цвекле (*Beta vulgaris*) (Слика 3.11.). Ови пигменти имају улогу у привлачењу опрашивача и биљоједа, али истовремено штите биљку од оксидативног стреса због својих антиоксидантних својстава. Занимљиво је да бетанин у корену цвекле игра улогу у задржавању воде у ћелијама и заштити од стреса током сушних периода.



Слика 3.11. Структуре пигмената који садрже азот и примери биљака које их садрже

3.2.2. Преференције опрашивача према боји цвета

Већ је поменуто да између биљака и њихових опрашивача често постоји неки облик верности, где опрашивачи преферирају одређене врсте биљака, што овим биљкама повећава шансе за успешно опрашивање и репродукцију. Боја цвета, као визуелни сигнал, представља један од кључних фактора који одређује које опрашиваче ће привући цвет. Преференције опрашивача у погледу боје цвета приказане су у Табели 2.2.

Један од најбоље истражених опрашивача је пчела (суперфамилија *Apioidea*). Утврђено је да оне преферирају плаве и жуте цветове, као и да виде у UV подручју (Слика 3.12.). Пчеле у очима имају фотосензорне ћелије осетљиве на UV светло, што им омогућава да перципирају светлост из ултравиолетног спектра. Због тога могу да детектују флавоне и флавоноле, који интензивно апсорбују UV зраке. Они се често налазе у белом цвећу, или као копингменти у плавом. Познато је да неке врсте цвећа, као што су црвени цветови булке (*Papaver rhoeas*), пчеле посећују искључиво захваљујући UV маркерима, будући да су слепе за црвену боју.

Табела 2.2. Преференције опрашивача према боји цвета

Опрашивач	Омиљене боје цвета	Напомене
Пчеле	интензивно жути и плави, бели	детектују UV, црвену не
Птице	јаркоцрвени, црвено-жути	осетљиве на црвену
Лептири	јарке боје, црвене и љубичасте	осећају мирис
Муве	бледе боје, смеђа, љубичаста, зелена	осетљиве на мирис
Осе	смеђи, бледи	
Тврдокрилци	бледи, крем, зеленкасти	слабо разазнају боје
Слепи мишеви	бели, бледозелени, бледољубичасти	углавном не разазнају боје
Мољци	црвени, љубичасти, бели, бледоружичасти	углавном опрашују ноћу
Мишеви	бели окружени тамноцрвеним брактејама	опрашују ноћу

Медоносне пчеле (*Apis mellifera*) су веома неселективне у погледу биљних врста које опрашују, али се може рећи да у одређеној мери фаворизују специфичне фамилије – *Lamiaceae* (менте), *Scrophulariaceae* (зевалице), *Fabaceae* (легуминозе, махунарке) и *Asteraceae* (главочике) – за које су карактеристични цветови плаве и жуте боје. Остале врсте пчела су знатно селективније, укључујући и екстремне примере, као што је род *Andrena*, чији представници опрашује искључиво једну групу орхидеја.



Слика 3.12. Преференције пчела ка боји цвета: а) плави цветови, б) жути цветови, ц) бели цветови на видљивој светлости (лево), који апсорбују у UV области (десна фотографија снимљена под UV светлом од 385 nm)

Преференције осталих опрашивача су слабије истражене (Табела 2.2). Познато је да су птице осетљиве на црвену боју. Пример је колибри који опрашује врсте хибискуса са јаркоцрвеним цветовима (Слика 3.13.), као и одређене представнике породица *Vignoniaceae*, *Gesneriaceae* и *Lamiaceae* са црвеним, наранџасто-црвеним или жуто-црвеним цветовима. Занимљиво је да су неке птице развиле пигментацију сличну цветовима које посећују, у циљу камуфлаже током храњења. Пример је папагај лорикет дугиних боја (*Trichoglossus haematodus*), који учествује у полинацији, јер се храни нектаром одређених биљака које имају црвене цвеве (Слика 3.13.).



Слика 3.13. Опрашивање црвених цвеве од стране птица и њихова камуфлажа. Колибри (лево) и лорикет дугиних боја (десно)

Неки од опрашивача показују слабу осетљивост на боје. Док лептирове привлаче јарке боје, мољци и осе преферирају бледе цвеве. На

крају, ту су тврдокрилци и слепи мишеви који су практично слепи за боје и ослањају се на друге типове сигнала.

Треба напоменути да боја цвета не мора нужно представљати средство привлачења главног опрашивача. На пример, могуће је да црвена боја цветова које опрашује колибри, у ствари смањује његову видљивост за пчеле.

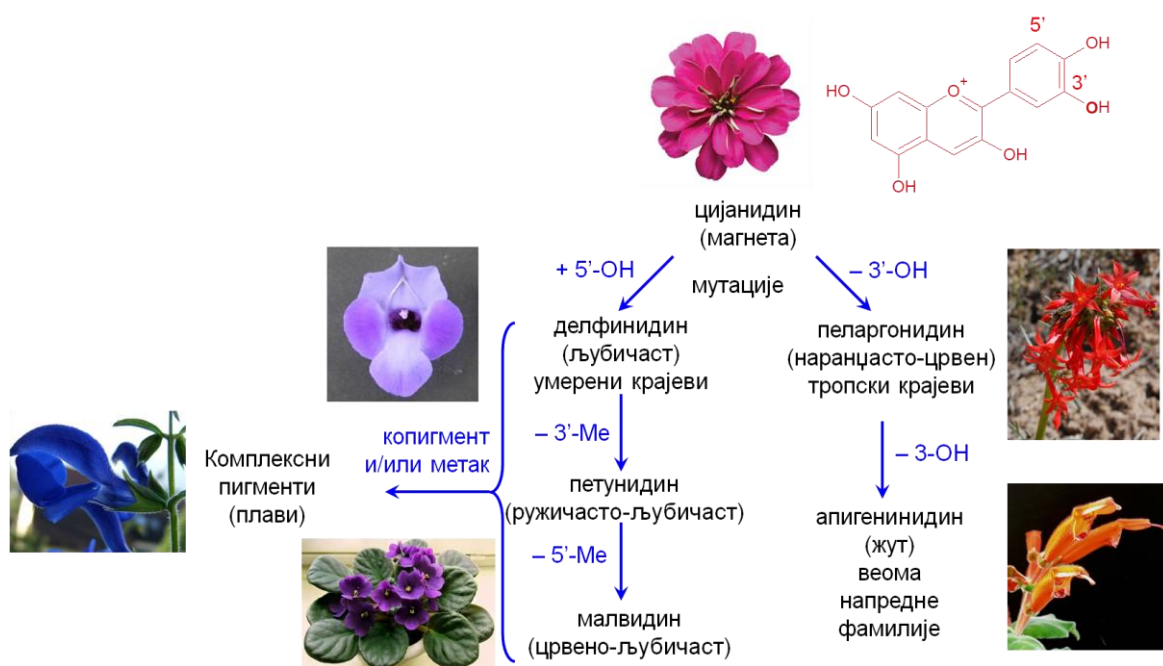
3.2.3. Еволуција цветних пигмената

Расподела пигмената код скривеносеменица није произвољна и прати одређени образац који је резултат коеволуције биљака и њихових опрашивача. Еволуција пигмената од цијанидина до пеларгонидина и делфинидина била је кључна за диверзификацију боја цветова код скривеносеменица, како би се прилагодили различитим еколошким условима и врстама опрашивача. Према томе који тип антоцијанидина доминантно садрже, биљке се могу поделити на цијанидински делфинидински и пеларгонидински тип биљака. Цијанидин се сматра најстаријим антоцијанидином и претходи пеларгонидину и делфинидину у еволуцији. Цијанидин је чешћи је код примитивних скривеносеменица, као и код предака скривеносеменица – голосеменица (врста које се опрашују ветром). Такође, чешће се од других антоцијанидина јавља у органима примитивнијим од цвета, као што је лист. Његов спектар боја обухвата ружичасте и црвене нијансе, и широко је распрострањен код цветница. Највише је заступљен код биљака које расту у умереним и субтропским подручјима, као што су Европа и делови Азије. Ове биљке опрашују инсекти, нарочито лептири. Мутацијама на ензимима за хидроксилацију антоцијанина, из цијанидина је губитком 3'-ОН групе настао пеларгонидин, а увођењем 5'-ОН групе делфинидин (Слика 3.14.).

Пеларгонидински тип је уобичајен у тропским фамилијама – Malvaceae (слезови), Bromeliaceae (бромелије), Zingiberaceae (ђумбировке) – и скоро одсутан у фамилијама из умерених климатских подручја. Најзаступљенији је код биљака које расту јужној Африци, Медитерану, и деловима Централне и Јужне Америке. Пеларгонидин даје цветовима црвене и наранџасте нијансе боја, због чега су ове врсте прилагођене

опрашивању од стране птица, као што је колибри. Даљим мутацијама настали су 3-деоксиантоцијанидини лутеолинин и апигенинин (Слика 3.14.), који се јављају само у веома напредним фамилијама (Gesneriaceae, Bignoniaceae).

Делфинидински тип је распрострањен у умереним подручјима са хладнијом и влажнијом климом, нарочито у шумским екосистемима и планинама Северне Европе, Азије и Северне Америке. Делфинидин, као еволутивно најсавременији пигмент има сложенију хемијску структуру и даје цветовима плаве и љубичасте тонове, који привлаче пчеле као опрашиваче. Често је присутан код напреднијих фамилија, као што су Scrophulariaceae (зевалице), Boraginaceae (поречнице), Hydrophyllaceae (струшковке) и Polemoniaceae (јурничевке).



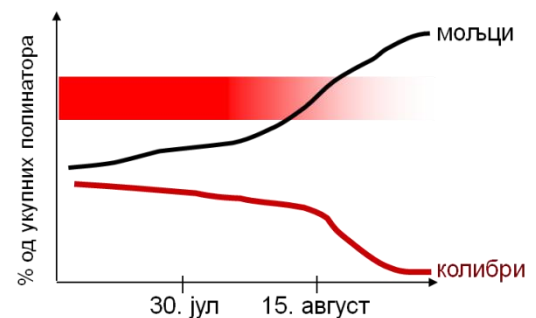
Слика 3.14. Еволуција цветних пигмената

Адаптивна еволуција биљака према типу опрашивача може се лепо пратити на примеру фамилије Polemoniaceae, која је распрострањена у Америци. Наиме, овај пример одлично илуструје појаву да појединачне врсте из исте фамилије могу да развију најразличитије специфичне карактеристике цветова како би се прилагодили својим примарним опрашивачима. Селекција у овом процесу доводи до развоја различитих

пигмената и облика цветова. Тако врсте фамилије Polemoniaceae које опрашују птице имају дуге, уске цветове различитих нијанси црвене боје, са пеларгонидином као пигментом. Оне које опрашују пчеле имају широке и кратке плаве или љубичасте латице, са делфинидином као доминантним пигментом. На крају код врста које зависе од лептира као опрашивача развили су се ружичасти цветови са делфинидином и цијанидином. Овај пример јасно илуструје изразиту способност еволутивних механизма да прилагоде биљке различитим еколошким условима, чиме се постижу репродуктивни успех и опстанак врсте.

Треба поменути да се варијације у изгледу цвета могу јавити чак и у оквиру исте врсте, у зависности од њеног станишта. На пример, калфорнијске цветнице у прерији опрашују пчеле и њихови цветови су жуте боје. Насупрот томе, представници истих врста који насељавају шумска станишта, где су мољци главни опрашивачи, имају беле или бледоружичасте цветове. Врсте код којих постоји оваква варијабилност имају већу шансу за миграцију из једног станишта у друго.

У неким случајевима, могућа је чак и рапидна промена боје цвета код истих јединки, као адаптација на промену доступних опрашивача. Пример за то је гримизна гилија, *Ipomopsis aggregata* (из фамилије Polemoniaceae), чији цветови су на почетку сезоне црвене боје, а током времена прелазе у нијансе ружичасте и на крају у белу (Слика 3.15.). Ова промена се дешава услед престанка синтезе антоцијана и временски се поклапа са миграцијом њихових главних опрашивача, колибрија, на југ. Након одласка колибрија, биљка мења боју цвета у белу како би постала привлачна преосталим опрашивачима – мољцима, чиме осигурава наставак оплодње и



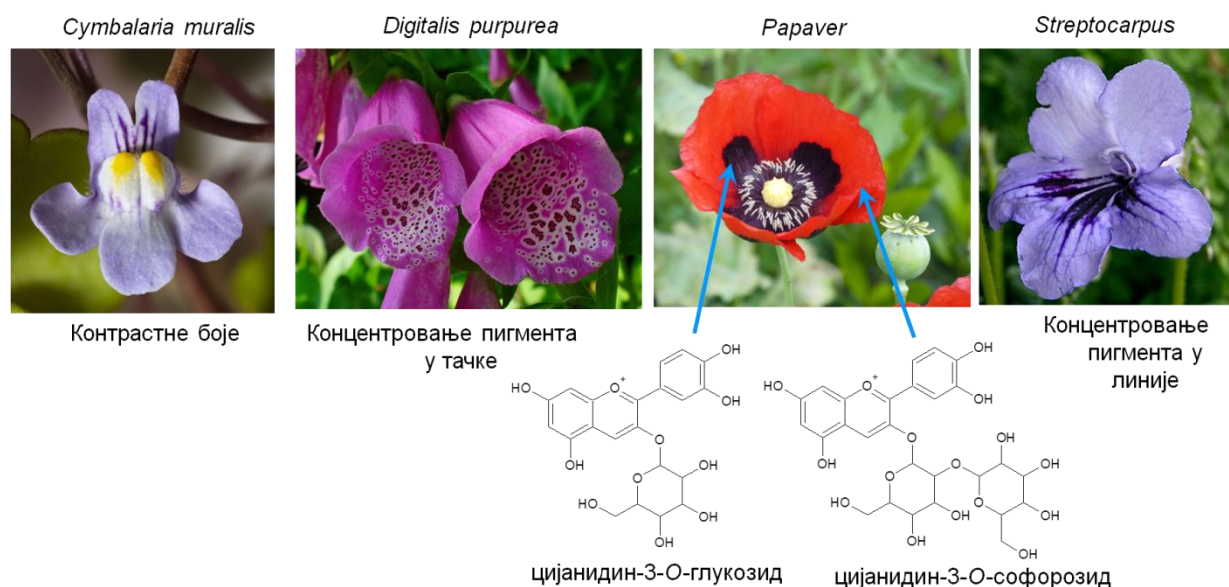
Ipomopsis aggregata

Слика 3.15. Промена боје цвета током сезоне код *Ipomopsis aggregata*

репродуктивни успех.

Ознаке за навођење

Цветови биљака могу бити једнобојни и шарени, а код многих шаре представљају специфичне обрасце (енг. *guide marks*, *honey guides*), који служе да усмере опрашиваче, попут пчела, ка центру цвета где се налазе репродуктивни органи биљке, односно ка нектару. Ове шаре могу бити видљиве или невидљиве људском оку и имају важну улогу у ефикасности опрашивања. Видљиве ознаке се често појављују као тачке, линије или шаре на латицама у контрастним бојама, као што је жута тачка на плавој латици код клобучића (*Cymbalaria muralis*, Plantaginaceae) (Слика 3.16.).



Слика 3.16. Ознаке за навођење код различитих врста биљака

Такође, видљиве ознаке могу бити и последица локалног концентрисања пигмента у одређеним деловима крунице. Тако напрстак (*Digitalis purpurea*, из фамилије Plantaginaceae), има ружичасту круницу у облику звона, пигментисану цијанидином, са серијом љубичасто-црвених тачака концентрованог цијанидина у унутрашњости цвета, које усмеравају инсеката ка тучку (Слика 3.16). Слично је и код врста рода *Streptocarpus* (из фамилије Gesneriaceae), где се ознаке у виду линија настају концентрисањем пигмента. С друге стране, код рода *Papaver* (мак, булка), основни пигмент латица је цијанидин-3-софорозид или пеларгонидин-3-софорозид (у зависности од врсте), док ознаку формира други пигмент (много тамнији) – цијанидин-3-глукозид (Слика 3.16.).

Осим видљивих ознака, на цветовима често постоје и ознаке невидљиве за људско око, које формирају UV-пигменти, а које инсекти попут пчела могу детектовати. Први забележени пример таквих ознака је код врсте рудбекија, пупавица (*Rudbeckia hirta*, Asteraceae). Под дневним светлом њене латице изгледају униформно жуте. Међутим, под UV осветљењем, спољашњи делови латица светле јер рефлектују UV зраке, док су унутрашњи делови тамни јер апсорбују UV светлост (Слика 3.17.).



Слика 3.17. Цвет пупавице на видљивом светлу (лево) и под UV светлом (десно)

Хемијском анализом је утврђено присуство два типа пигмената – каротеноидног, који је равномерно распоређен и одговоран за жуту боју цвета на дневном светлу и UV рефлексију, и флавоноидног (смеша три водорастворна флавонола), који нема боју на дневном светлу али интензивно апсорбује у UV области. Каротеноидни пигмент служи да привуче пчелу са веће удаљености, а флавоноидни ствара ознаку која служи за навођење пчела које су слетеле на цвет до нектара.

3.2.4. Мирис цвета и преференције опрашивача

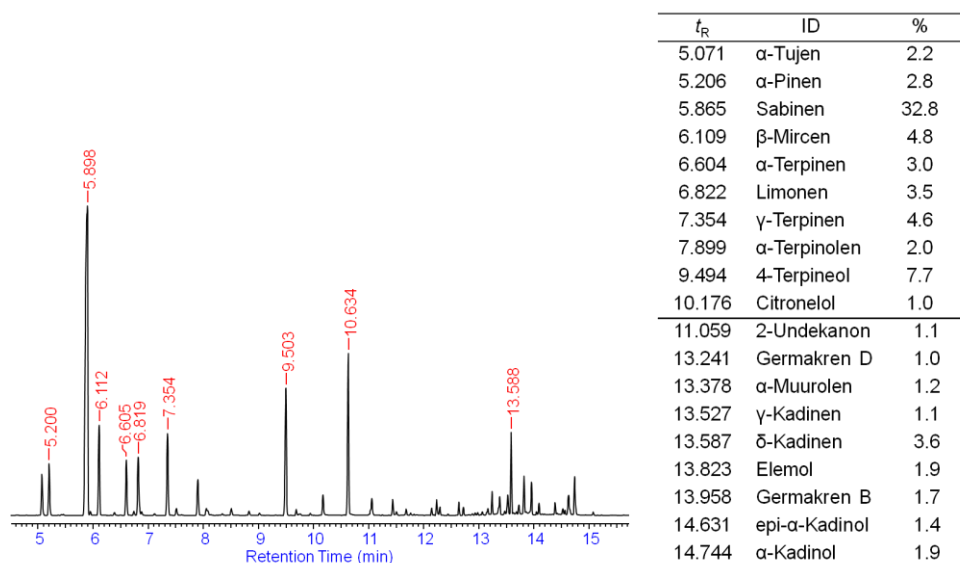
Мирис цвета често игра значајну улогу у привлачењу опрашивача. Пчеле су посебно осетљиве на мирисе, па многи цветови које оне опрашују испуштају мирисне компоненте. Мирис је од нарочитог значаја код врста које опрашују ноћни опрашивачи, попут слепих мишева и мољаца, будући да је визуелни сигнал у мраку одсутан. Инсекти су изузетно осетљиви на мале концентрације испарљивих једињења, па их често привлаче и врсте које човек не сматра нарочито мирисним.

Код многих биљних врста, интензитет мириса се мења у току дана у складу са активношћу опрашивача (диурналне варијације). На пример, код врста које опрашују дневни опрашивачи, мирис је најизраженији у подне,

док је код ноћних опрашивача најинтензивнији у сумрак. Поред тога, мирис може да варира и током животног циклуса биљке, тако да је његова најинтензивнија продукција у периоду када је полен зрео и биљка спремна за опрашивање.

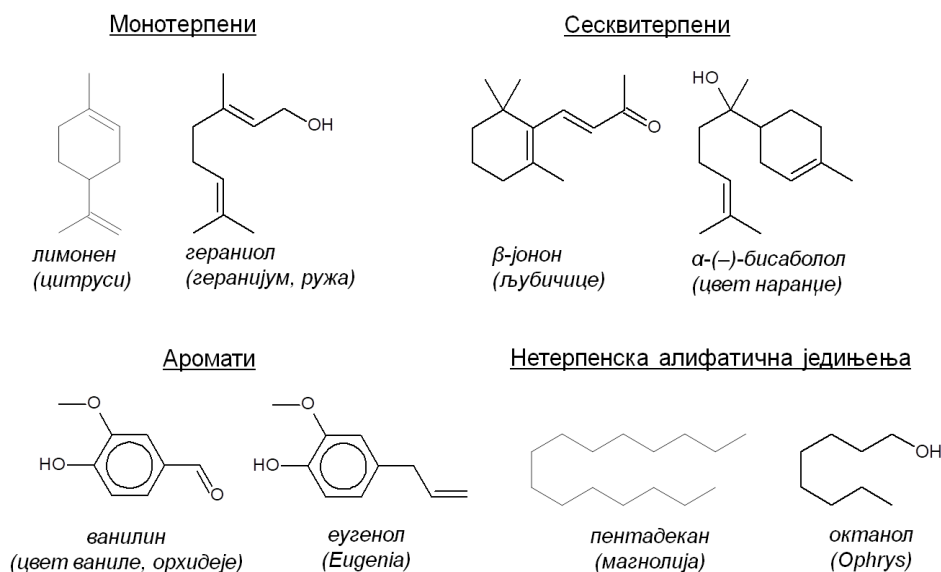
Поред цветова, и други делови биљке могу садржати мирисне компоненте. На пример, биљке из фамилије *Lamiaceae* (жалфија, мајчина душица, мента) имају жлезде на површини листова које луче ароматична етарска уља. Међутим, није сасвим јасно да ли ови мириси служе за привлачење опрашивача или испарљива једињења помажу биљци да се заштити од губитка влаге, стварањем микроатмосфере око листова.

Са становишта човека, цветни мириси се могу грубо поделити у две класе – пријатне и непријатне. „Пријатни“ мириси потичу од компонената етарског уља. Етарска уља су смеше испарљивих органских једињења, веома комплексног састава (Слика 3.18.).



Слика 3.18. GC-MS хроматограм етарског уља који илуструје комплексност његовог хемијског састава

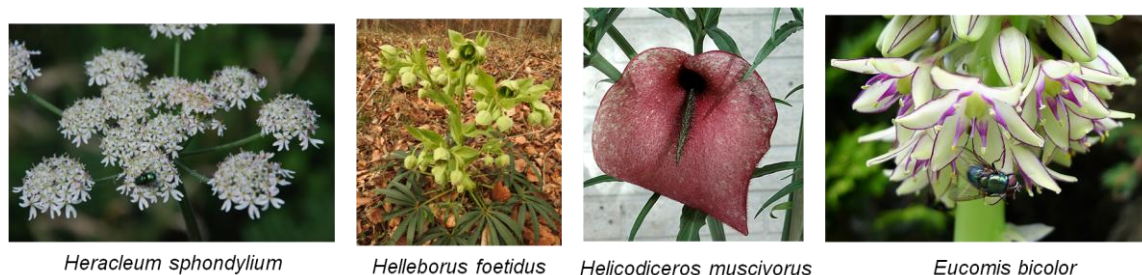
У састав етарских уља претежно улазе једињења из класе терпеноида (моно- и сесквитерпена), али такође могу садржати испарљиве аромате, као и оксигенована алифатична једињења попут алкохолâ, алдехидâ, кетонâ и естара (Слика 3.19.).



Слика 3.19. Врсте једињења које улазе у састав етарских уља

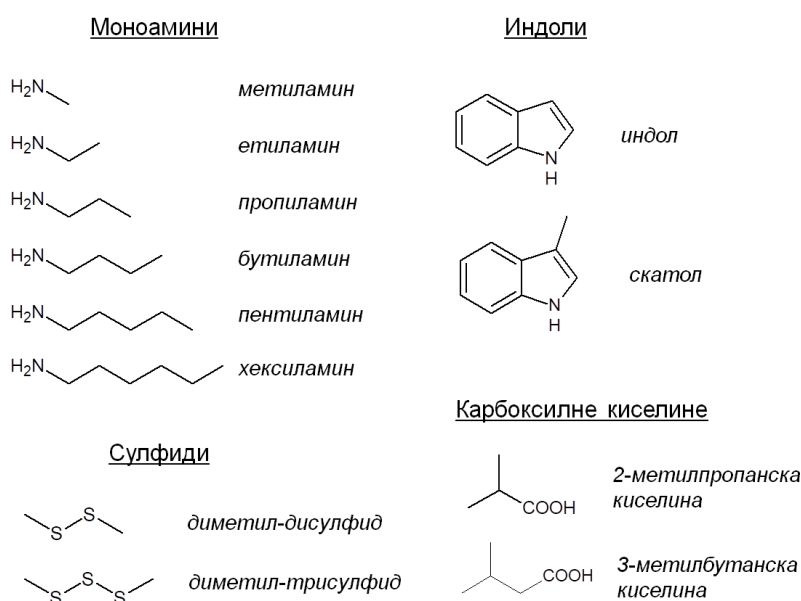
Иако је понекад само једна доминантна компонента одговорна за карактеристичан мирис цвета, чешће је у питању комбинација више компоненти. У неким случајевима, примећује се синергија, где једна компонента појачава или мења интензитет и дубину ароме главног носиоца мириса. Ова интеракција резултује сложенијим и изражајнијим мирисом од оног који би дала свака супстанца појединачно.

Неке биљке (претежно из сродних фамилија *Ариасеае* и *Агасеае*) имају мирис који је по људским мерилима непријатан, док за неке инсекте делује као атрактант. Примери укључују мечју шапу (*Heracleum sphondylium*, *Ариасеае*), смрдљиви кукурек (*Helleborus foetidus*, *Ранункуласеае*) *Helicodiceros muscivorus* (*Агасеае*), *Eucomis bicolor* (*Аспарагасеае*) и змијско грозђе, *Arum nigrum* (*Агасеае*) (Слике 3.20. и 3.22.). Њихов непријатан мирис имитира мирис измета или распадајућих протеина, што привлачи инсекте који се хране изметом или лешинама, и који служе као опрашивачи.



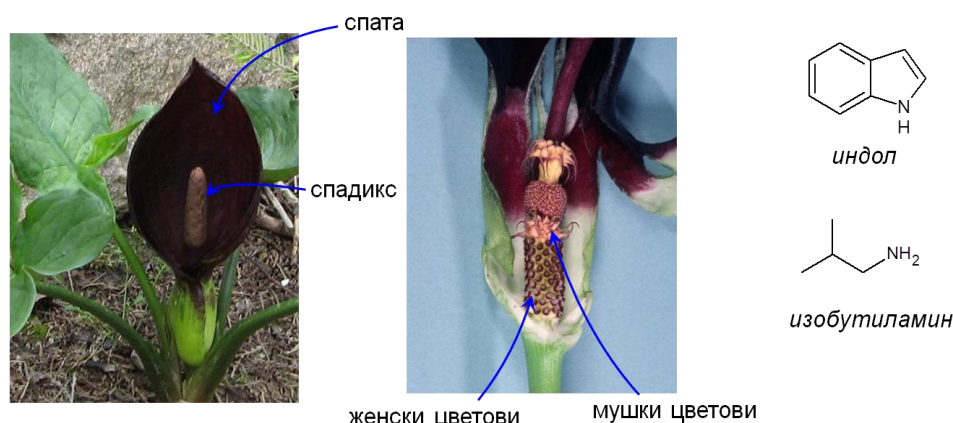
Слика 3.20. Представници биљака са „непријатним“ мирисом

Хемијски састав биљака са непријатним мирисима је слабије истражен. Главне компоненте су алифатични моноамини, који имају непријатан мирис на рибу. Затим, сулфидна једињења, као што је диметил-дисулфид и диметил-трисулфид, могу бити присутна код неких биљака и одговорна су за карактеристични мирис трулежи. Производи разградње триптофана – индол и скатол – који имају фекални мирис, нађени су такође код неких биљака, као и алифатичне карбоксилне киселине, попут 2-метилпропанске (изобутерне) киселине и 3-метилбутанске киселине, које имају кисео или ужегли мирис (Слика 3.21.).



Слика 3.21. Компоненте „непријатних“ мириса биљака

Занимљив је пример црни козлац (*Arum nigrum*, фамилија Araceae) (Слика 3.22.). Цветови ових биљака формирају шиљасту цваст у виду клипа (тзв. спадикс), који је обавијен љубичастом спатом (листоликим омотачем цвасти). Током ноћи, спата се отвара и излаже спадикс. Ћелијска респирација у спадиксу је необично интензивна, при чему се енергија не користи за синтезу АТФ-а, већ за производњу топлоте, што омогућава да спадикс буде до 15 °C топлији од околине. Ослобођена топлота убрзава испаравање амина одговорних за непријатан мирис трулежи – попут индола и изобутиламина (насталог из валина).



Слика 3.22. *Arum nigrum* – изглед репродуктивних органа и структуре носиоца мириса

Овај мирис привлачи балегаре и муве, који слећу на спадикс и упадају у „фишек” који формира спата. Због клизаве површине, остају заробљени око 24 h, док их биљка не ослободи. За то време, ови инсекти преносе полен на тучкове који се налазе у подножју цветне структуре, чиме се омогућава оплодња.

Цветни мириси као феромони

Мирисне компоненте цветова могу бити структурно сличне или исте као феромони инсеката. Ова сличност омогућава биљкама да „имитирају” природне сигнале инсеката, што резултује привлачењем опрашивача.

Феромони су укључени у скоро сваки аспект живота инсеката: храњење, парење, удруживање, полагање јаја, одбрану, маркирање путање. Нека од ових једињења су једноставни оксигеновани алифатични угљоводоници (алкохоли, естри, киселине), док су друга терпенске природе.

Биљке веома често користе чињеницу да су инсекти осетљиви на мирисна једињења и, у циљу искоришћавања инсеката, производе једињења која делују као феромони, помоћу којих успешно контролишу понашање инсеката. На тај начин, биљке привлаче опрашиваче или их чак обмањују, што им омогућава да остваре успешну полинацију без великих трошкова у ресурсима, попут производње нектара или других привлачних особина.

Воћна мушица *Dacus dorsalis* (syn. *Bactrocera dorsalis*) користи фенилпропаноид еугенол метил-етар као сексуални феромон. Овај феромон

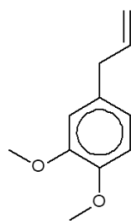
сигнализира присуство женки спремних за парење и доводи до окупљања мужјака. Цветови низа биљака, укључујући златну кишу (*Cassia fistula*, Fabaceae), производе исто једињење у циљу привлачења опрашивача (Слика 3.23.). Исто важи и за листове *Zieria smithii* (Rutaceae), у чијем етарском уљу заступљеност еугенол метил-етра може достићи до 85 %.



Cassia fistula



Zieria smithii



eugenol metil-etar



Dacus dorsalis

Слика 3.23. Продукција феромона од стране биљака у циљу привлачења опрашивача

Поред тога што делује као сексуални феромон, еугенол метил-етар је и феромон храњења за ове мушице. Када су изложене већим количинама овог једињења, оне почињу да једу у прекомерним количинама што доводи до смрти услед преједања. Ове чињенице искоришћене су за развој замки са метил-етар еугенолом, које су постале стандардни алат у борби против воћних мушица, посебно у азијским земљама попут Тајланда, Филипина и Индије. Ове замке играју кључну улогу у заштити усева попут манга, папаје, банана и других тропских плодова, који су веома осетљиви на напад мушица. Оваква метода контроле популације инсеката смањује потребу за агресивним хемијским пестицидима, што доприноси очувању екосистема и здрављу људи. Овај пример показује како се научна сазнања из еколошке биохемије могу успешно применити у пракси и искористити за еколошки прихватљиву заштиту биља у пољопривреди.

Следећи пример како биљке производе специфична једињења у сврху привлачења опрашивача је лучење етарског уља орхидеја из рода *Ophrys*.

Ово уље имитира сексуални феромон матица одређене врсте пчеле рода *Andrena* и тиме привлачи трутове. Ове орхидеје немају нектар, и у нормалним условима опрашивачи би брзо научили да их игноришу. Поред продукције ових атрактаната, оне су и облик и боју цвета прилагодили тако да подсећају на матице пчела рода *Andrena* (Слика 3.24.). Трутови, привучени изгледом и мирисом, покушавају да се паре са цветом, што доводи до тзв. псеудокопулације и преношења полена (Слика 3.24.).

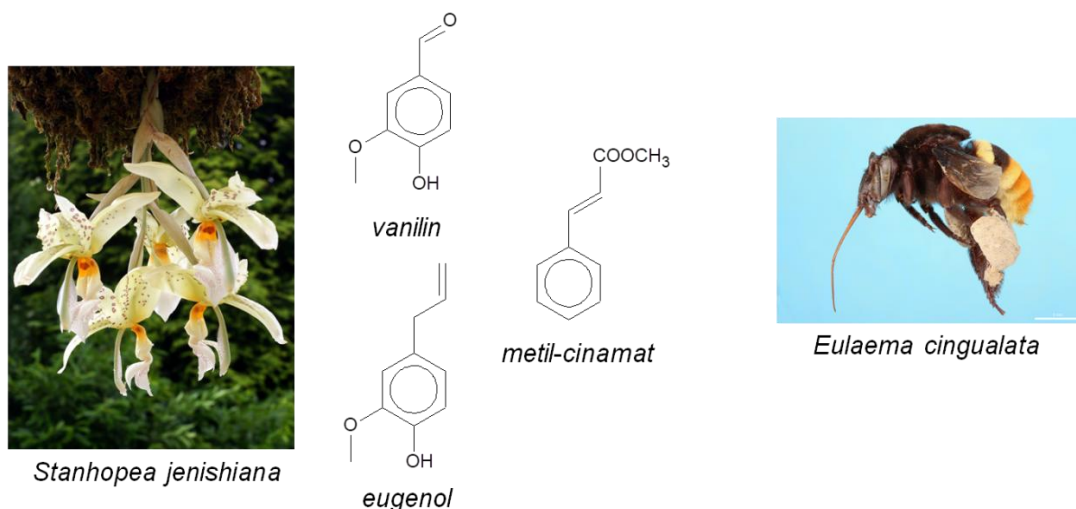
*Ophrys apifera**Ophrys bombyliflora**Andrena thoracica*

Слика 3.24. *Ophrys* орхидеје и пример псеудокопулације код *Andrena* пчела

Међутим, поставља се питање зашто орхидеје користе трутове за опрашивање, кад женке радилице углавном проводе више времена тражећи храну, због чега су ефикаснији опрашивачи. Претпоставља се да је то начин да се обезбеди већи генетски диверзитет, јер трутови прелазе већа растојања и могу донети полен из других заједница, док би радилице вероватније изазвале самоопрашивање, које је код орхидеја могуће, али непожељно. Специјализација у којој једна врста пчела опрашује једну врсту орхидеја помаже да се губици полена смање на минимум.

Постоје и примери мутуализма, где биљка и инсект успостављају однос узајамне користи, као што је случај код орхидеја *Stanhopea jenishiana* и пчела рода *Eulaeta* из тропских шума Централне и Јужне Америке. Наиме, орхидеје производе смешу једињења у које спадају еугенол, ванилин, цинеол, бензил-ацетат и метил-цинамат, које трутови ових пчела сакупљају из цветова дате орхидеје за време опрашивања (Слика 3.25.). Ова једињења трутови касније користе као феромоне агрегације (окупљања других трутова у ројеве) неопходне за процес парења. Тачан састав атрактанта које производи одређена врста орхидеје је специфичан и прилагођен врсти пчеле која је опрашује. Ова интеракција доноси

обострану корист: пчеле добијају средства за привлачење партнера, док орхидеје осигуравају своје опрашивање.



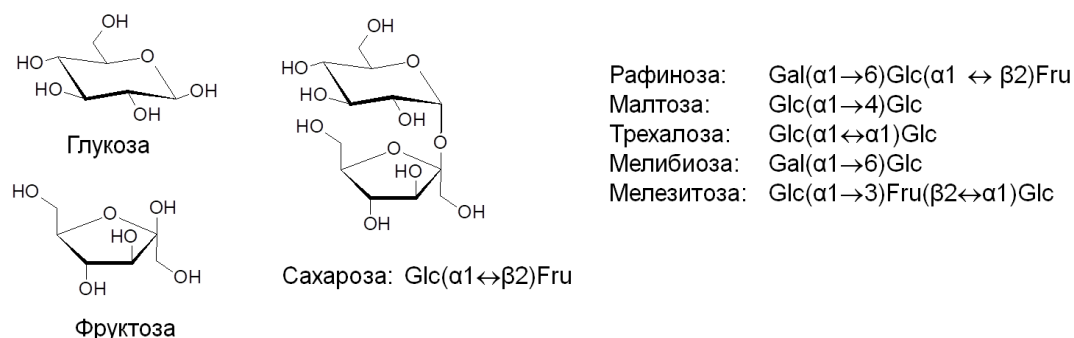
Слика 3.25. Пример мутуализма између орхидеја *Stanhopea jenishiana* које производе феромоне агрегације за *Eulaema* пчеле

3.2.5. Улога нектара

Нектар је слатки раствор који цветнице производе у циљу привлачења опрашивача или одбране. Као атрактант, нектар представља "награду" или мотив опрашивачима да посећују цветове одређене врсте. Одбрамбена улога нектара је везана за привлачење инсеката који штите биљку од биљоједа.

Нектар са функцијом атрактаната се синтетише у посебним жлездама – нектаријама, које се обично налазе у дну цвета. Када опрашивач покушава да дође до нектара, долази у контакт са репродуктивним органима, што омогућава трансфер полена.

Већина испитаних нектара је једноставан шећерни раствор. Нектар је веома слadak због високог садржаја моно- и дисахарида (15–75 %). Најчешћи шећери су глукоза, фруктоза и сахароза, док су олигосахариди попут рафинозе, малтозе, трехалозе, мелибиозе и мелезитозе присутни у траговима (Слика 3.26). Садржај шећера у нектару је таксономски зависан и могу се разликовати три велике групе: родови са доминантном сахарозом (*Berberus*, *Helleborus*), родови са подједнаким уделом сва три шећера (*Abutilon*) и фамилије са доминантном глукозом и фруктозом (*Brassicaceae*, *Apiaceae*, неке *Asteraceae*).



Слика 3.26. Шећери који улазе у састав нектара

Чини се да еволуција преферира биљке чији нектар садржи углавном глукозу и фруктозу, вероватно зато што их опрашивачи лакше усвајају у поређењу са сахарозом, која захтева разлагање. Однос шећера у нектару је углавном стабилан и не мења се током дана или кроз сезону. Иако су липиди богатији енергијом од шећера, ретко су присутни у нектару. Изузетак представљају одређене врсте из фамилија Scrophulariaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae и Orchidaceae. Солитарне пчеле из фамилије Anthophoridae, које не формирају друштвене заједнице, већ живе самостално, користе нектар богат уљем из ових биљака за исхрану својих потомака.

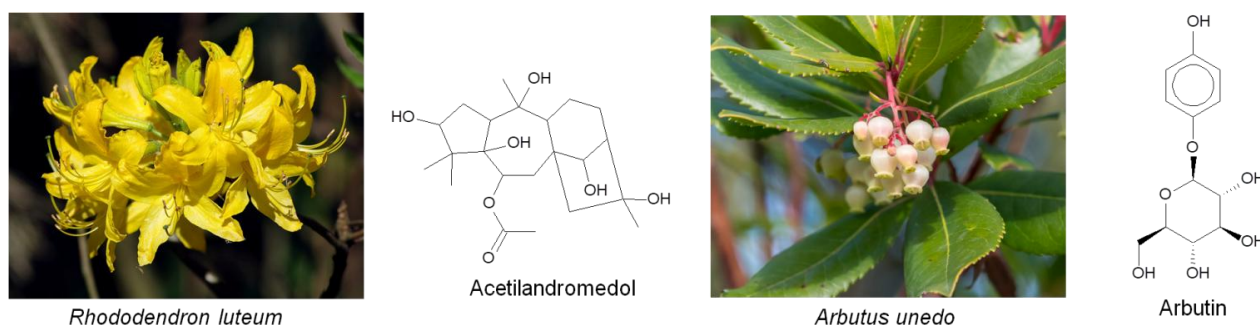
Аминокиселине су такође важне компоненте нектара, али је њихово присуство откривено релативно касно у истраживањима. Када је утврђено да се неки опрашивачи, нарочито лептири, хране готово искључиво нектаром, закључено је да он мора да садржи аминокиселине, како би задовољио њихове потребе за азотом. Садржај азота у нектару значајно варира међу биљкама. Старије дрвенасте фамилије, као што су Rosaceae, Myrtaceae, Saxifragaceae и Caprifoliaceae, имају мањи садржај азота у поређењу са млађим зељастим фамилијама, у које спадају Asclepiadaceae, Liliaceae, Campanulaceae, Fabaceae, Amaryllidaceae, Asteraceae.

Овај тренд је повезан са чињеницом да биљке са мањим садржајем азота обично опрашују пчеле, које азот добијају из других извора, попут полена, док биљке са већим садржајем азота чешће посећују лептири и мољци. У нектару су присутне све протеиногене аминокиселине, али њихов релативни удео варира. Десет аминокиселина које су есенцијалне за инсекте (аргинин, хистидин, лизин, триптофан, фенилаланин, метионин,

треонин, леуцин, изолеуцин и валин) присутне су у већој мери, а честе су и аспарагинска и глутаминска киселина.

Аминокиселински профил је врло конзистентан и карактеристичан за одређену врсту, због чега може да послужи и као хемотаксонски маркер (специфичан хемијски маркер за идентификацију одређеног таксона). Код хибридних врста, утврђено је да нектар садржи све аминокиселине од оба родитеља, што указује да је наслеђивање азотних једињења у нектару адитивно.

Поред аминокиселина, нектар неких врста може да садржи и токсине, који обично потичу из других делова биљке. На пример, у нектару *Rhododendron* врста детектован је токсични дитерпен ацетиландромедол (Слика 3.27.), у врсти *Sophora microphylla* алкалоиди, а у кресници (*Senecio jacobaea*) пиролизидински алкалоиди. Ова једињења могу бити присутна у довољним количинама да представљају опасност за пчеле, а када доспеју у мед, и за људе. Нека једињења, попут арбутина из *Arbutus unedo* (Слика 3.27.), галактозе из тулипана, и манозе из липе, токсична су само за пчеле.



Слика 3.27. Токсини нектара и примери биљака које их садрже

У неким случајевима, биљке производе халуциногене или наркотичке супстанце како би код инсеката изазвале зависност и блиску симбиозу. Пример је *Datura inoxia* (врста сродна татули, фам. Solanaceae), за чији нектар се претпоставља да садржи халуциногене тропанске алкалоиде. Уочено је да мољци, који опрашују ову биљку, након посете цвету, лете хаотично и показују све знаке зависности.

Осим на цвету, нектарије се код неких скривеносеменица налазе и на другим деловима биљке, као што су брактеје, листови, лисне дршке или стабљике (**екстрафлоралне нектарије**). Често се јављају код фамилија Fabaceae, Orchidaceae и Passifloraceae. Иако су веома сличне цветним

нектаријама и излучују нектар идентичног састава погодан за исхрану инсеката, оне не учествују у опрашивању. Њихова основна улога је привлачење мравва који се хране нектаром, а заузврат штите биљку од биљоједа (заштитна улога).

Пример су мрави рода *Crematogaster* и дрво *Acacia* које расте у Кенији. Биљка обезбеђује мравима храну у виду нектара излученог из екстрафлоралних нектарија, које су доступније од оних у цвету, и уточиште (специјализоване издубљене структуре). Заузврат, мрави агресивно нападају све животиње које угрожавају биљку. Међутим, у периоду цветања, ово може постати проблем – мрави ће покушати да отерају и сваког опрашивача. Због тога биљка почиње да синтетише репелент (по свему судећи, у полену) – једињење које упозорава мраве и тера их на повлачење. Када опрашивачи однесу полен са цвета, мрави се враћају и настављају своју одбрамбену функцију.

3.2.6. Нутритивна вредност полена

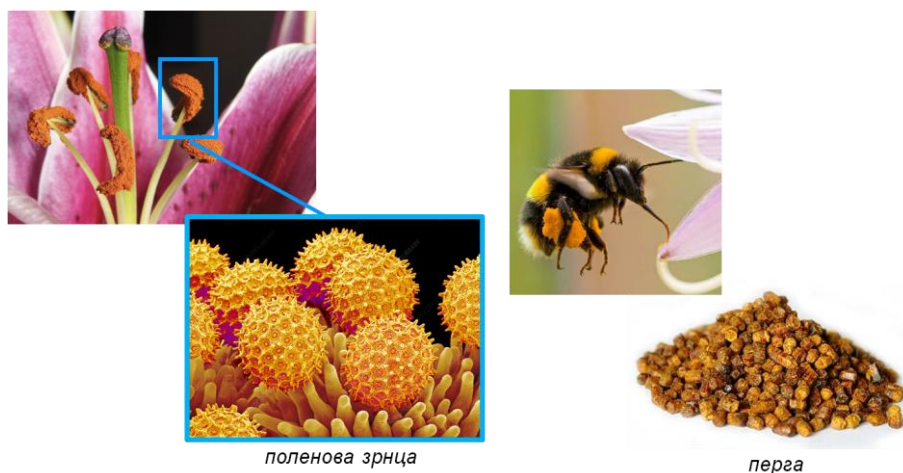
На крају, треба споменути и значај полена као хране. Он је веома хранљив, јер садржи 16–30% протеина, 1–7% скроба, 0–15% шећера и 3–10% масти. Такође, у састав полена улази и низ витамина и минерала у траговима. Поред тога, присутни су и различити секундарни биомолекули, укључујући каротеноидне пигменте (α - и β -каротен, лутеин, зеаксантин) и њихове епоксиде, а понекад и антоцијане, као и друге флавоноиде (нпр. изорамнетин). Поленова зрнца су обавијена омотачем од целулозе, протеина и воска, који штити генетски материјал и омогућава им да остану неоштећена чак и након више милиона година.

Многи инсекти који опрашују цветове сакупљају полен и користе га као храну. Пример су пчеле, које могу да варе полен и он представља значајан део њихове исхране (Слика 3.28.). С друге стране, лептири нису у стању да уносе чврсту храну, те могу да унесу полен само ако је претходно помешан са нектаром.

Пчеле сакупљени полен преносе до кошнице у специјализованим корпама на задњим ножицама, познатим као поленове корпице (*corbiculae*). По доласку у кошницу, уносе полен у саће, где га лагерују и додају ензиме.

Овај процес покреће ферментацију полена, при чему настаје перга, која представља важан извор хране за младе пчеле.

Иако је примарна улога полена пренос мушких полних ћелија, а његова употреба за исхрану представља губитак за биљку, то обично није проблем, јер биљке производе полен у већим количинама него што је потребно. У неким случајевима, биљке користе и мирис полена, који је различит од мириса цвета, за привлачење опрашивача.



Слика 3.28. Поленова зрнца, корпе на задњим ножицама пчеле за сакупљање полена (десно горе) и перга (десно доле)

ОДБРАНА БИЉАКА ОД ХЕРБИВОРА

04

Исхрана биљоједа биљним материјалом (хербиворија) представља један од најстаријих и најважнијих облика исхране у природи. За биљке хербиворија може да буде и штетна и корисна (штетна јер доводи до оштећења биљака, а корисна у случају када хербиворе једући плодове биљака помажу у расејавању њиховог семена), док је за биљоједе она искључиво корисна. Ова интеракција обликовала је еволуционе токове обе групе организама током стотина милиона година. Док су биљоједи усавршавали све сложеније начине како би користили биљке као храну, биљке су истовремено развијале различите механизме одбране да би смањиле или спречиле штету од храњења. Неки од ових механизма су развој физичких баријера и синтеза хемијских супстанци које одбијају биљоједе (фагорепеленти) или имају отровно деловање. Са друге стране, биљоједи су налазили начине да савладају те препреке и наставе да користе биљке као извор хране.

Физички одбрамбени механизми биљака укључују чврст епидермис, кутикуларне наслаге, бодље, трње и длачице, подземне складишне структуре, као и вегетативно размножавање испод површине земље (Слика 4.1.). Ови морфолошко-анатомске промене су често врло ефикасне у спречавању оштећења биљке.

Са друге стране, **хемијски механизми** укључују синтезу различитих токсина, иритантних супстанци и репелената, који циљано одбијају или спречавају напад одређене врсте биљоједа. На пример, неке биљке производе токсине који су смртоносни за инсекте, али не штете сисарима, или супстанце које су одбојне за једну врсту биљоједа, док су друге животиње на њих отпорне и не осећају њихов ефекат — понекад их чак могу и привлачити.



Слика 4.1. Физички одбрамбени механизми биљака од хербивора: бодље (лево), длаке (средина), бодље и чврст епидермис (десно)

4.1 БИЉНИ ТОКСИНИ

Крајем прве половине XX века, већ је било познато више од 1200 биљних врста које производе једињења токсична за хербиворне инсекте, позната као биљни инсектициди. Ова једињења, која су природно настала у биљкама као заштита од напада инсеката, послужила су као основ за развој савремених синтетских инсектицида у пољопривреди. Биљке такође производе и једињења која нису токсична само за инсекте, већ и за друге хербиворне животиње, укључујући кичмењаке.

Степен токсичности неке супстанце зависи од више фактора, од којих је најважнији **доза** — количина супстанце којој је организам изложен. Затим, различити организми могу имати различите нивое осетљивости на исту супстанцу. На пример, оно што је смртоносно за инсекте може бити безбедно за сисаре. Такође, здравствено стање и старост организма који се излаже отрову играју значајну улогу у осетљивости на токсин. На крају, механизам апсорпције, **способност детоксикације** и елиминације токсина из организма одређују коначни ефекат токсичне супстанце.

Токсини који штите биљке од биљоједа углавном се синтетишу превентивно и због тога спадају у групу једињења познатих као **фитоантиципини**. Ова једињења су константно присутна у биљкама, без обзира да ли је дошло до напада или није, и делују као прва линија одбране против потенцијалних нападача. Насупрот њима, биљке могу да синтетишу и **фитоалексине** – једињења која имају улогу у адаптивном одговору биљке

на стрес. Они се синтетишу само кад је биљка већ изложена нападу патогена или биљоједа.

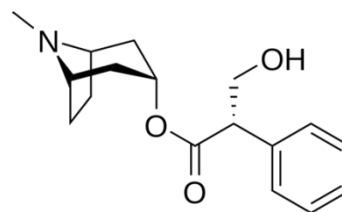
С обзиром да биљке токсине не користе за напад, већ искључиво као одбрану од хербивора, њихов примарни циљ је да избегну напад, а не да убију или озбиљно оштете биљоједа. Зато биљке често сигнализирају своју токсичност путем визуелних или олфакторних сигнала, као што су упадљиве боје, необичан изглед или јак мирис. Ови сигнали служе да **упозоре потенцијалног нападача** на присуство штетних или непријатних супстанци у биљци, како би он одустао од храњења и пре него што га започне.

Тако на пример, слачице – црна слачица (*Brassica nigra*) и бела, (*Sinapis alba*), из фамилије *Brassicaceae*, садрже изотиоцијанате – једињења токсична за већину инсеката. Ова једињења имају карактеристичан јак и оштар мирис, и претпоставља се да се у малим количинама непрекидно ослобађају, пружајући инсектима упозорење и одвраћајући их од напада на биљку.

Даље, цијанофорне биљке садрже HCN у форми цијаногених гликозида. Супстрати и ензими потребни за стварање HCN лоцирани су у различитим органелама и долазе у контакт тек при оштећењу биљног ткива. Ослобођени HCN је изузетно токсичан, али има карактеристичан и снажан мирис којим упозорава хербиворе.

Остали токсини, попут алкалоида, сапонина и кукурбитацина, углавном су тешко испарљиви (осим неколико једноставних алкалоида), па стога не могу одбијати биљоједе мирисом. Њихов сигнал упозорења је горак укус, али га животиње могу регистровати тек када почну да се хране.

Поред мириса и горког укуса, боја такође може бити знак упозорења на токсичност одређених делова биљке. Тако бобице велебиља (*Atropa belladonna*, *Solanaceae*), које садрже тропанске алкалоиде (хиосциамин, скополамин) изузетно отровне за већину сисара, имају љубичасто-црну боју (Слика 4.2.). Претпоставља се да ова боја, с једне стране, упозорава сисаре да их избегавају, док с друге стране, служи као атрактант за птице које се хране бобицама и разносе семе, јер тропански алкалоиди за њих нису токсични.



хиосцијамин

Слика 4.2. Упозоравајућа боја бобица велебиља на присуство токсичних алкалоида**4.1.1. Токсини са азотом**

Велики број биљних токсина карактерише присуство азота у молекулу. Овде спадају различити примарни и секундарни биомолекули, од веома једноставних непротеиногених аминокиселина, преко цијаногених гликозида, глукозинолата и алкалоида, до макромолекулских пептида и протеина (Табела 4.1.).

Табела 4.1. Примери токсина са азотом и њихова токсичност

Класа	Примери	Токсичност
Непротеиногене аминокиселине	L-DOPA (род <i>Muscina</i>)	инсекти
	β-цијаноаланин (род <i>Vicia</i>)	пацови: LD ₅₀ = 200 mg/kg
Цијаногени гликозиди	амигдалин (бадем <i>Prunus dulcis</i>)	универзални токсин човек: LD ₅₀ (HCN) ≈ 50 mg
Глукозинолати	синигрин (род <i>Brassica</i>)	говеда, инсекти
Алкалоиди	атропин (<i>Atropa belladonna</i>)	сисари: LD ₅₀ = 750 mg/kg
Пептиди	аманитин (<i>Amanita phalloides</i>)	сисари
Протеини	фитохемагутинин (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	инсекти: LD ≈ 0,5 mg
	рицин (<i>Ricinus communis</i>)	

Треба напоменути да је синтеза ових токсина скупа, будући да се мора уложити азот, који биљка мора да унесе из земљишта, за разлику од једињења на бази С, Н и О, која се могу синтетисати из продуката фотосинтезе.

Најједноставнији азотни токсини су **непротеиногене аминокиселине**, којих је до сада откривено најмање 300. Широко су распрострањене и пронађене у бројним биљним фамилијама, мада су нарочито заступљене у семену легуминоза (махунарке, Fabaceae). Присуство токсичних аминокиселина код махунарки служи као заштита семена од биљоједа, што је неопходно с обзиром на то да је њихово семе веома крупно

и хранљиво, те би представљало лак и привлачан плен за биљоједе. Ове аминокиселине могу бити директно токсичне или показивати антиметаболичко дејство, тако што ремете нормалну функцију једне од 20 протеиногених аминокиселина.

Један од најједноставнијих примера је **азетидин-2-карбоксилна киселина** (Слика 4.3.), која је пронађена у ђурђевку (*Convallaria majalis*, Liliaceae), бројним биљкама из фамилије Fabaceae, као и у малим количинама у шећерној репи. Може се сматрати аналогом пролина са контрахованим прстеном. Организам ово једињење може грешком уградити у протеине уместо пролина. Тако настали протеини (укључујући колаген, кератин, хемоглобин) имају абнормалну структуру и не могу обављати своју функцију, што може довести до смрти ћелије или организма, или до тератогених ефеката. Биљка која производи ово једињење заштићена је од његовог штетног дејства, јер њена пролин-tRNA-лигаза разликује азетидин-2-карбоксилну киселину од пролина.

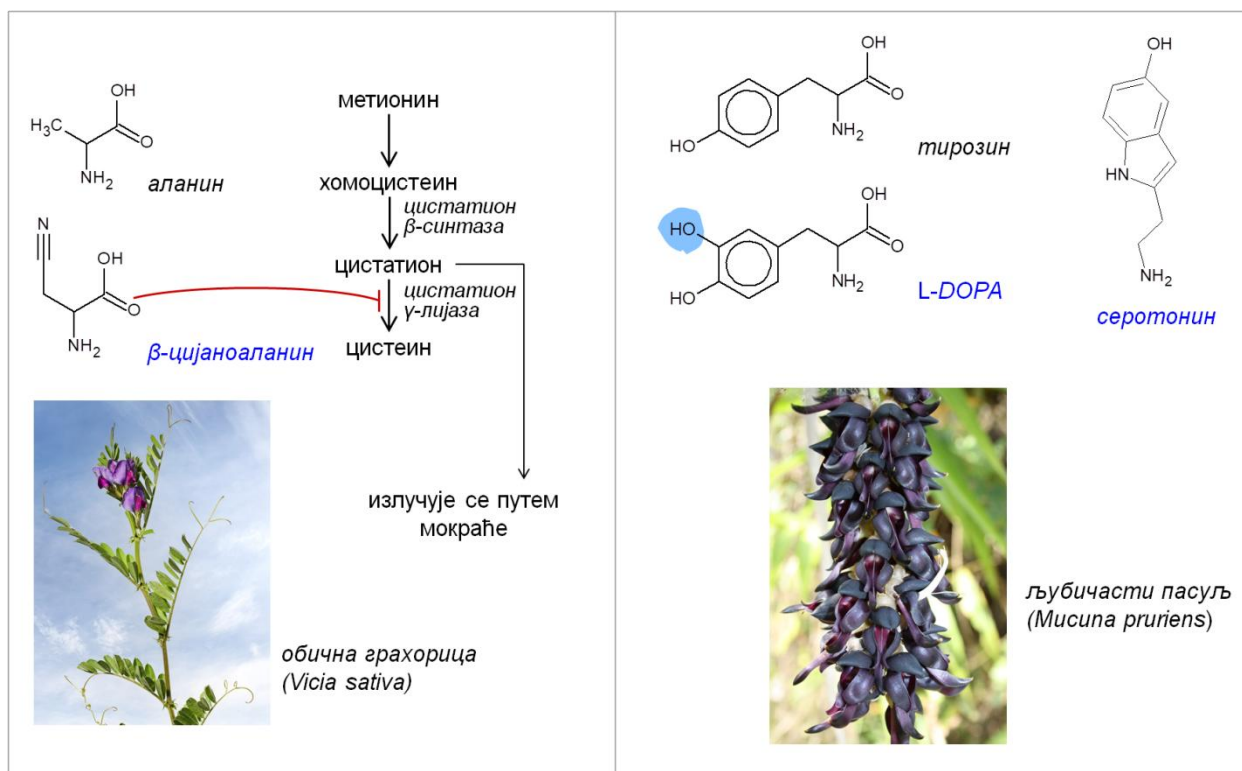
Други пример је **L-канаванин** (Слика 4.3.), који се може сматрати 5-окса-аналогом аргинина, и који је пронађен у неким легуминозама (укључујући и јестиви "jackbean" – *Canavalia ensiformis*). Ово једињење се уграђује у протеине уместо аргинина, што доводи до аберација у структури протеина. Важно је напоменути да су неки биљоједи (нпр. неки мољци и тврдокрилци) отпорни на канаванин захваљујући способности да га разграде (до урее, користећи аргиназу, а затим помоћу уреазе до амонијака, који се може искористити као извор азота) и/или да спрече његову уградњу у протеине (користећи високоселективну варијанту аргинин-tRNA лигазе).



Слика 4.3. Примери токсичних непротеиногенних аминокиселина и биљака које их садрже

У обичној грахорици (*Vicia sativa*, Fabaceae) је пронађен **β-цијаноаланин** (или његов γ-глутамил дериват), који штити биљку од хербиворних сисара (Слика 4.4.). Ово једињење инхибира конверзију метионина у цистеин ($\text{Met} \rightarrow \text{хомоцистеин} \rightarrow \text{цистатион} \rightarrow \text{Cys}$). Интермедијер код кога се реакција зауставља, цистатион, излучује се путем мокраће, чиме се губе залихе сумпора и азота у организму. β-цијаноаланин је токсичан за све сисаре непреживаре. На пацовима је доказано да, у концентрацији од 200 mg/kg, ако се даје интравенски, изазива конвулзије и смрт.

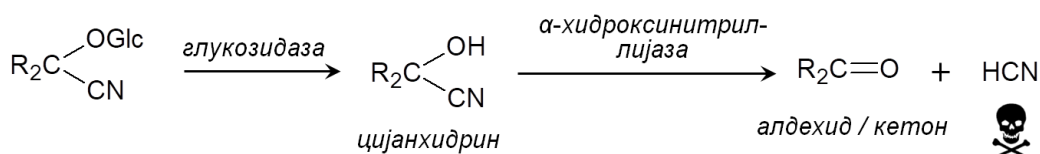
Код неких легуминоза, као што је љубичасти пасуљ (*Miscana pruriens*) пронађен је **3,4-дихидроксифенилаланин** (L-DOPA), аналог тирозина, који може бити присутан и у концентрацијама око 10 % (Слика 4.4.). Ова непротеиногена аминокиселина је нарочито токсична за инсекте, јер омета активност тирозиназе, ензима неопходног за очвврћавање кутикуле. За сисаре је релативно нетоксична, с обзиром да код њих она представља нормалан метаболит и прекурсор неуротрансмitera допамина (иако у већим количинама може бити токсична). Међутим, *Miscana pruriens* поред L-DOPA садржи и **серотонин** (5-хидрокситриптамин) (Слика 4.4.), који изазива екстреман свраб коже при контакту са длачицама које покривају чашице и махуне, због чега одбија и сисаре.



Слика 4.4. Примери токсичних непротеиногених аминокиселина и биљака које их садрже

Другу класу азотних токсина чине **цијаногени гликозиди** (CNG), који су пронађени у преко 800 биљних врста, посебно из фамилија Rosaceae, Fabaceae, Poaceae, Araceae, Asteraceae, Euphorbiaceae и Passifloraceae. Ови гликозиди сами по себи нису токсични, али приликом ензимске хидролизе дају цијановодоник (HCN), који инхибира цитохроме, укључујући комплекс IV електрон-транспортног ланца. Овај процес доводи до прекида ћелијског дисања и брзе смрти ћелија.

До хидролизе CNG доводе ензими из група глюкозидаза и α-хидроксинитрил лијаза (Слика 4.5.), који су просторно одвојени од цијаногених гликозида у биљци, тако да до ослобађања HCN долази само када се ткиво оштети и они дођу у контакт.



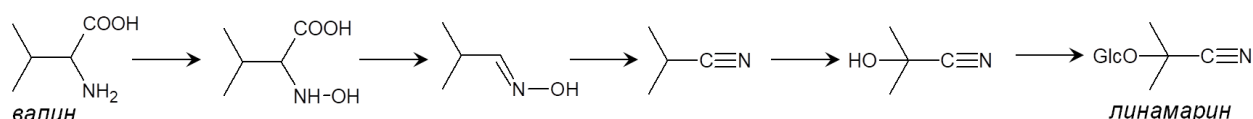
Слика 4.5. Разлагање цијаногеног гликозида до HCN

Биосинтетски прекурсори цијаногених гликозида су аминокиселине (Табела 4.2.).

Табела 4.2. Примери цијаногених гликозида, њихових прекурсора и биљака које их садрже

Аминокиселина	Цијаногени гликозид	Биљни извор
Фенилаланин	пруназин	семе вишња (<i>Prunus</i> sp.)
	амигдалин	семе бадема (<i>Prunus amygdalus</i>)
	самбунигрин	плод зове (<i>Sambucus nigra</i>)
Тирозин	дурин, тексифин	сирак (<i>Sorghum</i> sp.)
Валин	линамарин	лан (<i>Linum usitatissimum</i>)
		касава (<i>Manihot esculenta</i>)
		детелина (<i>Trifolium</i> sp.)
Изолеуцин	лотаустралин	лан, касава, детелина
Леуцин	хетеродендрин	акација (<i>Acacia</i> sp.)

Пример синтезе **линамарина** из валина дат је на Слици 4.6.



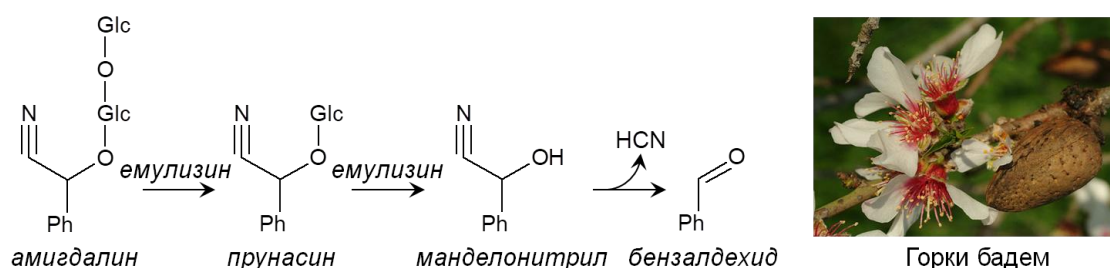
Слика 4.6. Синтеза линамарина из валина

Синтеза ових једињења захтева потрошњу органског азота који је за биљку веома драгоцен, што указује на њихову важност за преживљавање биљака. Међутим, губици су ипак релативно мали, јер се HCN ослобађа само приликом оштећења ткива.

Захваљујући универзалној токсичности, CNG пружају заштиту од широког спектра хербивора. На пример, код детелине (*Trifolium* sp., Fabaceae) и сличних врста, утврђено је да CNG штите младе биљке од мекушаца као што су пужеви и голаћи, нарочито у умереним подручјима, где су ти биљоједи активни у пролеће, током клијања биљака.

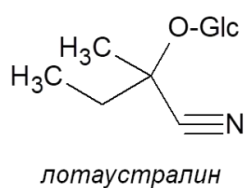
Животиње генерално преферирају биљке које не садрже цијаногене гликозиде и избегавају оне које их садрже. На пример, скакавци већ након првог залогаја одустају од храњења младим листовима сирка (*Sorghum* sp., Poaceae), јер садрже цијаногене гликозиде **дурин** и **тексифин**. Чини се да CNG више делују као репеленти, а не искључиво као токсини, јер у случају недостатка друге хране, хербиворе ипак конзумирају биљке које их садрже, али у мањим, безбедним количинама.

Горки бадем (*Prunus amygdalus*, Rosaceae) је један од најпознатијих извора цијаногених гликозида, специфично **амигдалина**, који може бити присутан у концентрацији до 1,8 %. Овај гликозид се налази и у коштицама других врста рода *Prunus*, укључујући брескве, кајсије, шљиве и вишње. Приликом хидролизе амигдалина, под дејством ензима емулзина, настаје пруназин, а затим цијаногено једињење манделонитрил, из кога се ослобађа цијановодоник (HCN) (Слика 4.7.). HCN може бити смртоносан ако се унесе у довољно великим количинама. Тако нпр. количина HCN из шест коштица горког бадема може бити довољна да угрози живот детета. Код гајеног бадема, услед мутације, амигдалин је одсутан, што га чини безбедним за јело.



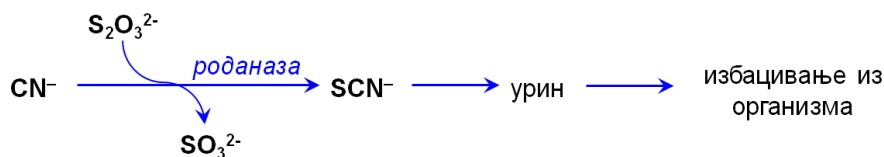
Слика 4.7. Разлагање амигдалина до HCN и слика горког бадема

Друге биљке као што је касава (маниока, *Manihot esculenta*, Euphorbiaceae), садрже **линмарин** и **лотаустралин** (Слике 4.6 и 4.8.), једињења која такође ослобађају HCN при разградњи. Корен и лишће ове биљке користе се као важан извор хране у многим деловима света, нарочито у тропским регионима Африке, Латинске Америке и југоисточне Азије. После пиринча и кукуруза, касава је трећи по значају извор угљених хидрата (скроба) у тропима, и представља главну храну за више од пола милијарде људи у земљама у развоју. Касава може да садржи и до 1 g HCN по килограму биљке, због чега је неопходно уклањање CNG пре конзумације. CNG се могу уклонити термичком обрадом, цеђењем, сушењем или ферментацијом.



Слика 4.8. Изглед биљке и корена касаве (*Manihot esculenta*) и структура њеног цијаногеног гликозида лотаустралина

Неке животиње, као што су говеда и овце, развиле су механизме за детоксикацију цијанида. У том процесу учествује митохондријални ензим **роданаза** (тиосулфат:цијанид сумпорттрансфераза), који претвара цијанид у мање токсичан тиоцијанат, који се затим излучује путем урина (Слика 4.9.).



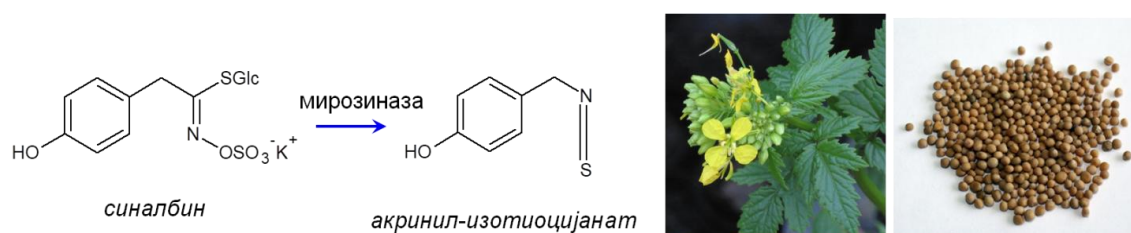
Слика 4.9. Детоксикација цијанида деловањем роданазе

Приликом константног излагања малим дозама CNG, може да се развије значајна толеранција. Тако је код неадаптиране овце LD₅₀ око 2–4 mg/kg телесне масе, док код адаптиране достиже и 15–50 mg/kg (тј. неколико грама по животињи). Код човека летална доза износи 80–120 mg. Код сисара је утврђено да до смрти може доћи само при акутном излагању великим количинама HCN (присутним код неких биљака). Са друге стране, ако се унесу мале количине, оне се детоксификују и избацују из организма, тако да не долази до акумулације. Међутим, константан унос високих али сублеталних количина HCN може имати штетне последице услед гоитрогеног деловања тиоцијаната, који супресује функцију штитне жлезде, што доводи до хипотиреоидизма и различитих неоролошких поремећаја. Овај ефекат је примећен у западној Африци, где је касава уобичајена намирница и просечна дневна доза HCN износи 35 mg, што је половина леталне дозе.

Трећу групу азотних токсина чине **глюкозинолати** – водорастворни S-гликозиди, који су биосинтетски блиски цијаногеним гликозидима. Карактеристични су за биљке реда Brassicales, посебно у фамилији

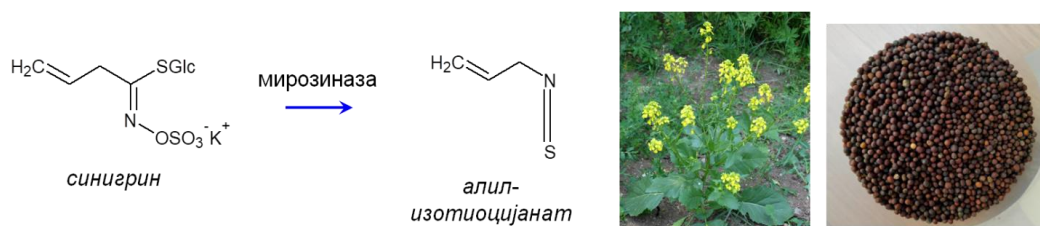
купусњака или крсташица (*Brassicaceae*). Дивље врсте које су богате овим једињењима могу изазвати токсичне ефекте код биљоједа, као што су гастроентеритис, повећана саливација, дијареја и иритација усне дупље. Токсичност се јавља услед цепања *S*-гликозидне везе под дејством ензима мирозиназе, која је просторно одвојена од глукозинолата у интактним ћелијама биљке. Када дође до оштећења биљног ткива, на пример услед напада хербивора, мирозиназа долази у контакт са глукозинолатима и разлаже их на изотиоцијанате, који су раније били познати и као сенф-уља. Ови изотиоцијанати делују као плилавци и изазивају иритације на кожи и слузокожи, што може довести до гастроинтестиналних проблема и других симптома. Глукозинолати су такође одговорни за карактеристичан горак или оштар укус поврћа као што су купус, келераба, броколи, карфиол, кељ (*Brassica oleracea*), ротквица (*Raphanus sativus*) и, нарочито, рен (*Armoracia rusticana*), црна слачица (*Brassica nigra*), бела слачица (*Sinapis alba*) и васаби (*Wasabia japonica*).

У белој слачици (*Sinapis alba*, *Brassicaceae*), чије семе се користи за производњу сенфа, присутан је глукозинолат синалбин који се у присуству мирозиназе преводи у акринил-изотиоцијанат (Слика 4.10.). Ово једињење има оштар укус и изазива иритацију у устима, а такође делује као рубифицијенс (изазива црвенило коже), што све заједно има репелентно дејство на биљоједе.



Слика 4.10. Глукозинолат синалбин присутан у биљци и семену *Sinapis alba* у присуству мирозиназе преводи се у акринил-изотиоцијанат

У црној слачици (*Brassica nigra*, *Brassicaceae*), чије семе се такође користи за производњи сенфа, заступљен је глукозинолат синигрин који се у присуству мирозиназе преводи у алил-изотиоцијанат (Слика 4.11.), који има љут и оштар укус и карактеристичан иритирајући мирис, због чега делује као природни репелент за биљоједе, а такође има и инсектицидно дејство.



Слика 4.11. Глукозинолат синигрин присутан у биљци и семену *Brassica nigra* у присуству мирозиназе преводи се у алил-изотиоцијанат

Поред тога, изотиоцијанати у слободној форми могу подлећи премештању ($\text{R}-\text{N}=\text{C}=\text{S} \rightleftharpoons \text{R}-\text{S}-\text{C}=\text{N}$), дајући тиоцијанате, који имају утицај на функцију штитне жлезде и доводе до хипертиреозидизма (гушавости) код сисара. Међутим, ако се уносе у малим, субтоксичним дозама, глукозинолати показују антиканцерогену активност, због чега могу имати значајну улогу у превенцији рака.

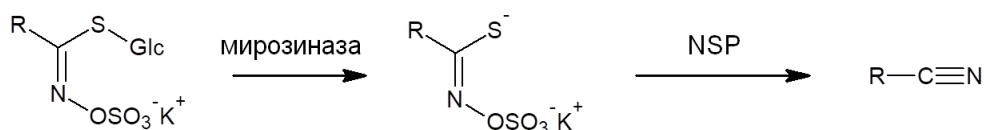
Неки инсекти, као што су одређене врсте лептира, мољаца, биљних ваши, мува и тврдокрилаца, развили су механизме адаптације на присуство глукозинолата у биљном ткиву и користе биљке које их садрже као храну.

Један од механизма адаптације је безбедно складиштење глукозинолата у организму инсеката, без активирања њихових токсичних својстава. Познато је да се штеточине, као што су пепељаста купусна ваш (*Brevicoryne brassicae*) или мали купусар (*Pieris rapae*), хране биљкама из фамилије Brassicaceae и складиште унете глукозинолате у својим ткивима (Слика 4.12.). Додатно, ови инсекти синтетишу ензим мирозиназу, који касније претвара ускладиштене глукозинолате у изотиоцијанате, и тиме се бране од предатора.



Слика 4.12. Инсекти адаптирани на присуство глукозинолата у биљкама

Други механизам укључује присуство тзв. *nitrile specifier* протеина (NSP), који преусмеравају хидролизу глюкозинолата, уместо ка изотиоцијанатима, ка нитрилима, који су мање токсични (Слика 4.13.).



Слика 4.13. Превођење глюкозинолата у мање токсичне нитриле деловањем *nitrile specifier* протеина (NSP)

Такође, код неких инсеката, механизам адаптације укључује присуство ензима глюкозинолат-сулфатазе (*SULF*), који уклања сулфатну групу са глюкозинолата, што спречава њихову конверзију у изотиоцијанате. Пример инсекта који користи овај механизам је купусни мољак (*Plutella xylostella*) (Слика 4.12.).

Још једна велика група азотних једињења, у коју спадају најпознатији биљни токсини, су **алкалоиди**. Алкалоиди имају базна својства, најчешће се синтетишу из аминокиселина (орнитин, лизин, хистидин, тирозин, фенилаланин, триптофан), мада постоје и они који имају изопреноидно порекло (стероидни, дитерпенски). Атом азота је у структури алкалоида најчешће смештен у прстену, па се алкалоиди могу класификовати према природи хетероцикличног прстена на пиролдинске, пиперидинске, хинолинске, изохинолинске, индолне, тропанске итд. Широко су распрострањени – пронађени су у око 20 % врста виших биљака. Многи алкалоиди показују интензивну биолошку активност. Добро познати примери алкалоида су кониин из екстракта кукуте (*Conium maculatum*, Ариасеае), који је изузетно токсичан (употребљен је за погубљење старогрчког филозофа Сократа), затим морфин из опијумског мака који има аналгетско деловање, кокаин из биљке кока (*Erythroxylum coca*, Еритрохулацеае) са психоактивним деловањем, кофеин из кафе (*Coffea* sp., Рубиасеае), пиперин из бибера (*Piper nigrum*, Риперасеае). Алкалоиди могу испољити физиолошко деловање путем инхибиције или активације ензима, утицаја на складиштење масти или шећера, везивања за нуклеинске киселине и инхибиције синтезе протеина, слабљења ћелијске мембране или цитоскелета, утицаја на неуротрансмисију итд.

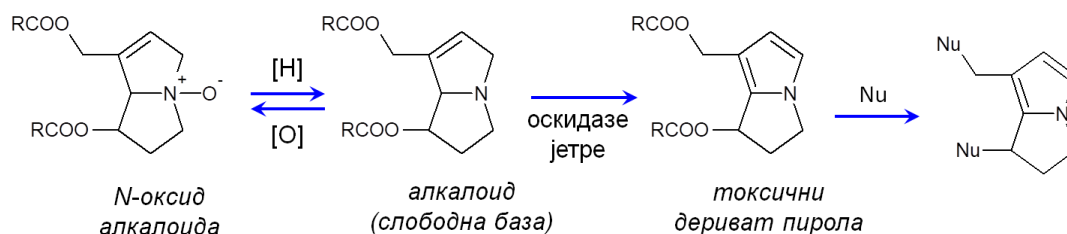
Алкалоиди играју кључну улогу у интеракцијама између биљака и околине, посебно у одбрани биљака од биљоједа и патогена, и инхибицији раста других биљака. Алкалоиди чине биљке мање привлачним или токсичним за хербиворе.

Две распрострањене коровске врсте, крстица (*Senecio vulgaris*, Asteraceae) и кресница (*Senecio jacobaea* синоним *Jacobaea vulgaris*, Asteraceae), заштићене су од хербивора захваљујући присуству серије пиролизидинских алкалоида (сенеционин, сенецифин, јакобин, јакон, јакозин) (Слика 4.14.) у лишћу, који су хепатотоксични за људе и животиње.



Слика 4.14. Структура сенеционина и слике биљака које га садрже

Пиролизидински алкалоиди потичу од аргинина, и најчешће се јављају у виду естара са једнобазним и двобазним киселинама. У биљкама су складиштени у виду нетоксичних *N*-оксида, који се већ при благим условима (нпр. у дигестивном тракту хербивора) редукују до слободне базе. Под дејством оксидаза из јетре настаје дериват пирола, који је потентни алкилујући агенс и реагује са доступним нуклеофилима у ћелији – нуклеинским киселинама и протеинима (Слика 4.15.).

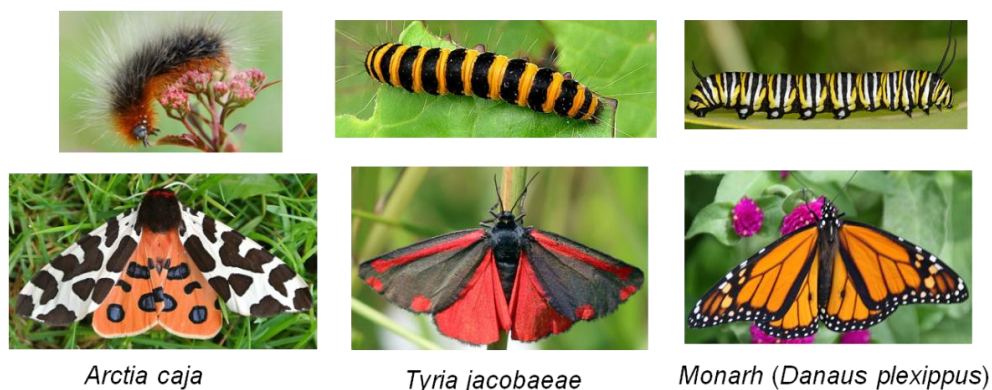


Слика 4.15. Метаболизам пиролизидинских алкалоида у организму хербивора. Nu – нуклеофил (протеин или нуклеинска киселина)

Дакле, у покушају да детоксификује ксенобиотик, организам заправо ствара много токсичније једињење. Последица продуженог излагања овом

ксенобиотику је иреверзибилно оштећење јетре (цироза). Животиње избегавају ове биљке због њиховог горког укуса. Међутим, након сушења, укус нестаје чинећи ове алкалоиде неприметним, што повећава ризик од тровања храном попут сена.

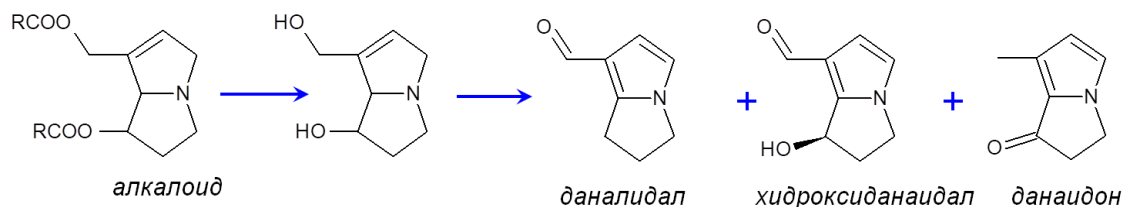
Међутим, одређени организми, као што су гусенице мољаца *Arctia caja* и *Tyria jacobaeae* (Слика 4.16), развили су механизме адаптације на пиролизидинске алкалоиде и без штетних последица се хране биљкама које их садрже. Утврђено је да су ови мољци способни да их безбедно складиште у свом организму (у форми слободне базе или *N*-оксида), па чак и да их преносе на потомство (јаја). Присуство ових токсичних једињења у гусеницама и одраслим инсектима одбија њихове потенцијалне предаторе, као што су птице, које су упозорене на опасност јарким бојама инсекта (упозоравајуће или апосематско обојење). Иначе, треба поменути да се *Arctia caja* храни и биљком црвени напрстак (*Digitalis purpurea*), из које преузима кардиотоничне гликозиде, још једну класу биљних токсина. Овај инсект прилагођава своју исхрану тако да у свом организму увек садржи довољне количине једног од одбрамбених токсина.



Слика 4.16. Врсте лептира које складиште пиролизидинске алкалоиде

Неки инсекти су у стању не само да складиште пиролизидинске алкалоиде и користе их за одбрану, већ и да их трансформишу и прилагођавају другим потребама. Откривено је да се лептир монарх (*Danaus plexippus*) такође храни врстама рода *Senecio* и другим биљкама које садрже сенецио алкалоиде (као што су припадници фамилије *Boraginaceae*). Мужјак монарха не складишти ове алкалоиде у оригиналном облику, већ их конвертује у данаидал, хидроксиданаидал и данаидон

(Слика 4.17.), чија смеша делује као феромон-афродизијак, а којом он прска антене женке како би је припремио за парење (вероватно у циљу заштите од предатора током парења).



Слика 4.17. Трансформација пиролизидинских алкалоида у организму лептира монарха

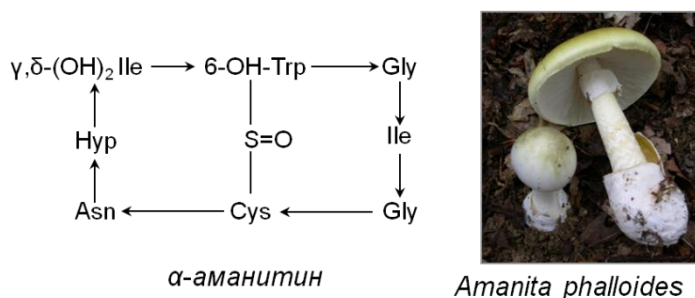
Други пример алкалоида који неке биљке користе за одбрану од биљоједа је никотин, пиридинско-пиролидински алкалоид (Слика 4.18.). Ово једињење, које продукују биљке из породице Solanaceae, нарочито дуван (*Nicotiana tabacum*), се лако апсорбује и у року од неколико секунди стиже до мозга, где се везује за никотинске ацетилхолинске рецепторе постсинаптичких неурона захваљујући својој структурној сличности са ацетилхолином. У почетку, рецептори су стимулирани, након чега следи дужа инхибиторна фаза која доводи до неуромускуларне блокаде и респираторне парализе. Пошто су холинергички путеви више заступљени код инсеката него код сисара и користе рецепторе нешто другачије структуре, никотин је за инсекте много токсичнији, због чега се некада користио у пољопривреди као инсектицид. У данашње време замењен је аналозима — неоникотиноидима, као што је имидаклоприд (Слика 4.18.).



Слика 4.18. Структура никотина и његовог аналога имидаклоприда, изглед биљке дуван (*Nicotiana tabacum*)

У токсине са азотом убрајају се и **пептидни** и **протеински** токсини.

Пептидну структуру имају токсини неких печурака. Ту спадају токсични принципи зелене пупавке (*Amanita phalloides*, Amanitaceae), укључујући **аматоксине** – бар 8 цикличних октапептида, од којих је најтоксичнији α -аманитин (Слика 4.19.). Они инхибирају RNK полимеразу II која је задужена за синтезу mRNK, што зауставља синтезу протеина и доводи до цитоллизе хепатоцита. Поред аматоксина, ту су и **фалотоксини** – бар 7 бицикличних хептапептида, који изазивају дигестивне проблеме, као и **фалолизини** – два или три протеина са хемолитичком активношћу.



Слика 4.19. Пептидни токсин печураке зелене пунавке

Иако биљни протеини најчешће нису токсични, неколико њих представља велику опасност за животиње. Први је **рицин** из семена рицинуса (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae) (Слика 4.20.). То је глобуларни хетеродимерни гликопротеин молекулске масе око 60–65 kDa. Субјединица А (само у присуству субјединице Б) представља рибозом-инктивирајући протеин (RIP), чије се дејство заснива на *N*-гликозид хидролазној активности. Он у рибозому откида остатак аденина на позицији 4324, неопходан за везивање фактора елонгације током транслације, што има за последицу иреверзибилну инактивацију рибозома. На овај начин рибозом постаје неспособан за синтезу протеина, а застој у продукцији протеина води до смрти ћелије. Један молекул рicina може инактивирати велики број рибозома (преко 1500 у минути). Токсично дејство испољава се након неколико сати до једног дана после уношења (орално, удахом или инјекцијом) и укључује мучнину, повраћање, дијареју, тахикардију, хипотензију и епилептичне нападе. Летална доза за човека је око 22 µg/kg телесне масе ако се унесе инјекцијом или инхалацијом, а орално око 1 mg/kg (што одговара 5–20 семенки рицинуса). Чак и у случају преживљавања, могућа су трајна оштећења органа. Са друге стране, уље

рицинуса је лековито и хранљиво, и већ миленијумима се користи као природни лек за различита обољења. Међутим, оно се производи посебним поступком хладног цеђења, након чега пролази додатне обраде, укључујући и термичку, које га ослобађају од отрова рицина.



Ricinus communis



Abrus precatorius



Glycine max



рицин



абрин



трипсин инхибитор

Слика 4.20. Протеински токсини и њихови биолошки извори

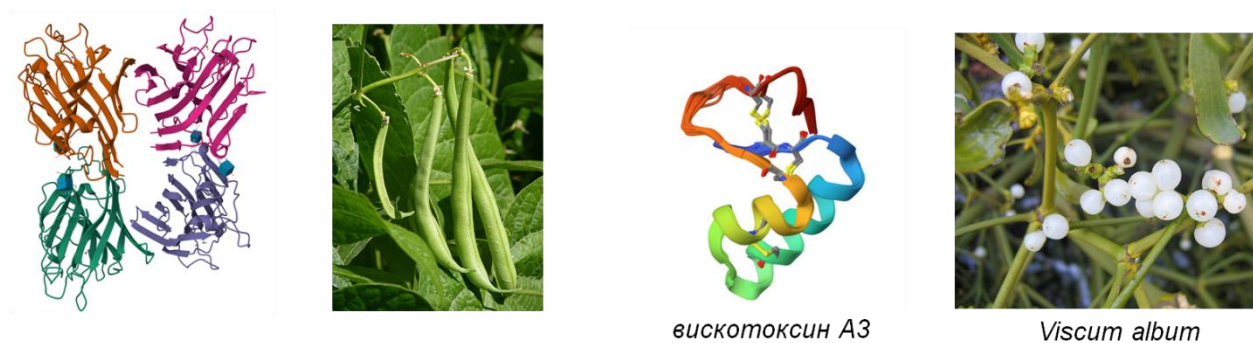
На сличан начин делује и протеин **абрин** из семена афричке биљке *Abrus precatorius* (Fabaceae) (Слика 4.20.). Симптоми, као што су мучнина, повраћање, дијареја, халуцинације, епилептички напади, отказивање органа, појављују се након неколико сати до неколико дана од уношења овог семена.

Печурка лудара (*Boletus satanas*, Boletaceae) садржи гликопротеин **болесатин**, који је такође инхибитор синтезе протеина, али путем другачијег механизма. Он није RIP протеин, већ ензим нуклеозид-трифосфат фосфатаза, што указује да механизам његовог дејства на синтезу протеина укључује хидролизу нуклеозид-трифосфата, попут GTP-а, који је неопходан за процес транслације.

У семену низа легуминоза, укључујући соју (*Glycine max*) (Слика 4.20.), откривени су протеини који делују као **инхибитори трипсина** – серинске протеазе у дигестивном тракту многих кичмењака, које учествују у варењу

протеина. Док сами по себи нису токсични, они отежавају варење протеина, чиме смањују нутритивну вредност хране и, претпоставља се, на тај начин одбијају хербиворе.

У многим биљкама, нарочито у семену легуминоза (укључујући и пасуљ, *Phaseolus vulgaris*, Fabaceae), присутни су протеини **фитохемаглутини** (РНА) (Слика 4.21.), који испољавају токсична дејства на биљоједу. Ови протеини се везују за угљене хидрате на површини еритроцита (РНА-Е протеин) или леукоцита (РНА-Л), доводећи до њихове агрегације односно коагулације. Поред тога, утичу и на митозу ћелија и мембрански транспорт. Доказано је да су ови протеини летални за инсекте, због чега они преференцијално једу семена биљака које их не садрже.



Слика 4.21. Протеински токсини и њихови биолошки извори

У биљкама рода *Viscum*, као што је имела (*Viscum album*) (Слика 4.21.) присутни су **ВИСКТОКСИНИ** (вискотоксин А₁, А₂, А₃, В, 1-PS, U-PS), катјонски протеини мале молекулске масе (око 5 kDa) из групе тионина (граде 3–4 дисулфидна моста), који имају цитотоксично деловање и штите биљку од напада биљоједа. Механизам деловања вискотоксина укључује интеракције са ћелијским мембранама, које доводе до повећане пропустљивости мембране и лизе ћелије. Управо због својих цитотоксичних својстава, екстракти имеле проучавају се као потенцијални терапеутски агенси у онкологији.

Иако многи токсини протеинске природе из биљака и гљива могу бити штетни по људско здравље, термичка обрада на 100 °C обично је довољна да их инактивира. Насупрот томе, олигопептидни токсини, као што је α-аманитин, не подлежу денатурацији јер немају терцијарну структуру, што значи да задржавају своју токсичност и након загревања.

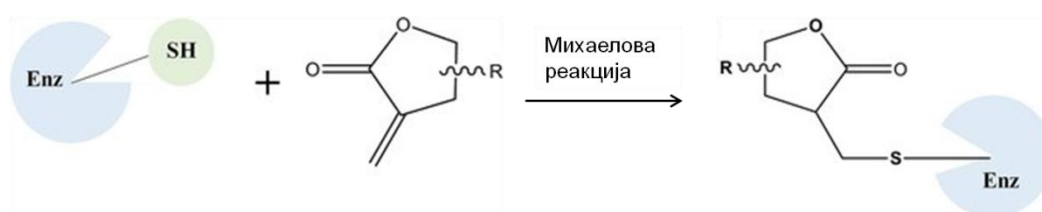
4.1.2. Токсини без азота

Преглед најзначајнијих класа токсичних једињења без азота и њихових представника, као и циљних организама на које испољавају токсичност, дати су у Табели 4.3. Ова једињења пружају биљкама заштиту од хербивора и патогена.

Табела 4.3. Примери токсина без азота и њихова токсичност

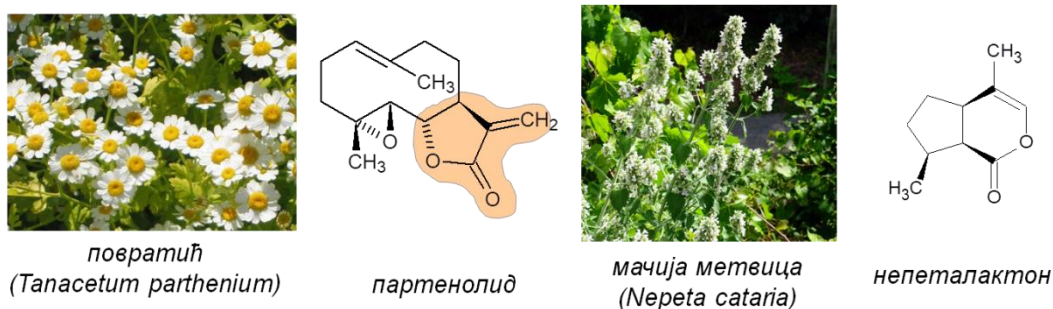
Класа	Примери	Токсичност
Иридоиди	аукубин (<i>Aucuba japonica</i>)	инсекти, птице
Сесквитерпенски лактони	хименовин (<i>Hymenoxys odorata</i>)	стока, инсекти
Кардиотонични гликозиди	оубаин (<i>Acokanthera ouabaio</i>)	инсекти, птице, сисари
Сапонини	(луцерка – <i>Medicago sativa</i>)	рибе, инсекти
Фуранокумарини	ксантотоксин (паштрнак – <i>Pastinaca sativa</i>)	инсекти
Изофлавоноиди	ротенон (<i>Derris</i> sp.)	инсекти, рибе
Хинони	хиперицин (<i>Hypericum perforatum</i>)	сисари (нарочито овце)
Полиацетилени	фалкаринол, фалкаринон, фалкариндиол (<i>Apiaceae</i>)	сисари
Афлатоксини	афлатоксин B ₁ (<i>Aspergillus flavus</i>)	сисари, птице
Једињења сумпора	алицин (бели лук – <i>Allium sativum</i>) (Z)-пропантхиаал-S-оксид (црни лук – <i>A. cepa</i>)	инсекти, птице, сисари

Сесквитерпени представљају терпеноиде изграђене од три изопренске јединице. Иако најчешће имају функцију фитоалексинâ (синтетишу се као одговор на микробиолошке инфекције), атрактаната (испарљиви сесквитерпени су компоненте етарских уља) или хормонску активност, део сесквитерпена служи и за одбрану од биљоједа. У том погледу, најзначајнији су **сесквитерпенски лактони**, који се изводе од гермакранолида као основног једињења. Горког су укуса, а у већим количинама могу изазвати алергијске реакције или испољити токсичне ефекте. Њихова активност се повезује са присуством α,β -незасићеног γ -лактонског система, који се лако ковалентно и иреверзибилно конјугује са –NH₂ и –SH групама протеинâ (Слика 4.22.).



Слика 4.22. Коњугација сесквитерпенских лактона са протеинима

Ако се ове групе налазе у активним центрима ензима, конјугација доводи до њихове инхибиције, што ремети метаболизам ћелије. Везивање за ензиме који су неопходни за ћелијску деобу је узрок њихове цитотоксичности. Такође, сесквитерпенски лактони се понашају као хаптени, јер којнугацијом са протеинима дају антигене који могу изазвати алергијски одговор. Ова једињења су нарочито заступљена у биљкама из фамилије Asteraceae. Пример је партенолид из повратића (*Tanacetum parthenium*) (Слика 4.23.).

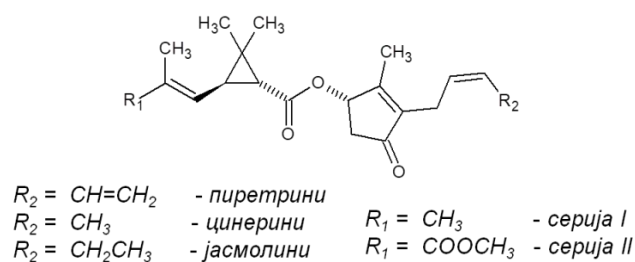


Слика 4.23. Представници терпенских токсина и биљке у којима се налазе

Иридоиди су такође одбојног, горког укуса. Представљају ирегуларне монотерпене са ириданским скелетом, насталим алтернативним увијањем гераниола. Јављају се слободни (нпр. непеталактон у мачјој метвици, *Nepeta cataria*, Lamiaceae) (Слика 4.23.) или у облику гликозида (аукубин, *Aucuba japonica*, Cornaceae), из којих се активно једињење ослобађа ензимском хидролизом гликозидне везе. Поред заштите биљке од биљоједа, ова једињења показују и антимикуробно дејство.

Још једна класа терпенских токсина су **пиретрини** – ирегуларни монотерпени са циклопропанским прстеном, који се јављају у неким врстама рода *Chrysanthemum* (Asteraceae), укључујући бувач (*C. cinerariifolium*) (Слика 4.24.) и *C. coccineum*. Најзначајнији представници су пиретрин I и II, цинерин I и II и јасмолин I и II (Слика 4.24.). Садржај ових једињења у цвету може достићи 0,7–2 %, односно 25–50 % у екстракту. Ова једињења се везују за натријумове канале у нервним ћелијама инсеката и спречавају њихово нормално затварање након деполаризације, због чега су веома токсична.

Пиретрин I је компонента са најпотентнијим инсектицидним деловањем, док пиретрин II има најјачи паралитички ефекат. У сублеталним дозама делују репелентно, због чега се понекад користе за заштиту других (нпр. украсних) биљака од штеточина. Иако су штетни за рибе, за сисаре и птице углавном нису токсични, због чега су се традиционално користили и за заштиту сухомеснатих производа од инсеката (нпр. у Далмацији). Развијен је и низ синтетичких инсектицида на бази пиретрина (тзв. пиретроиди), као што су тетраметрин, циперметрин и имипротрон, који имају већу активност и стабилност од природних пиретрина и моћно делују против широког спектра инсеката. Поред осталог, компонента су и *Raid* инсектицида и препарата за заштиту кућних љубимаца.



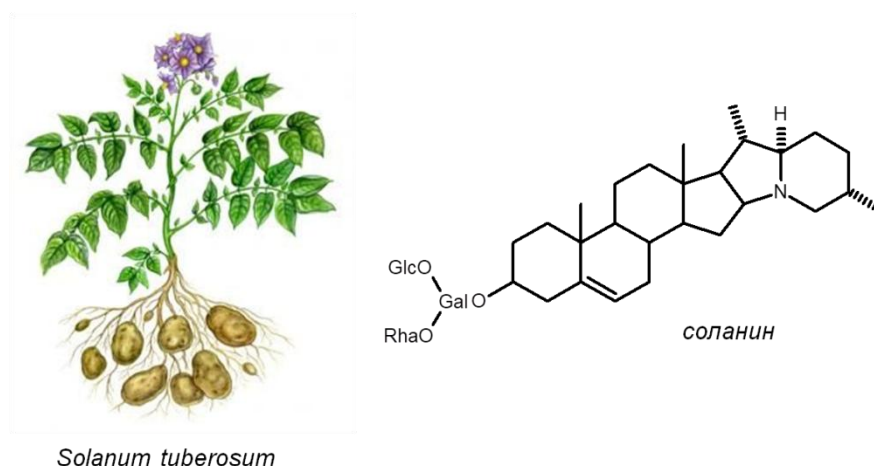
Chrysanthemum cinerariifolium

Слика 4.24. Представници пиретринских токсина и биљка која их садржи

Познато је да се и нека стероидна једињења могу понашати као биљни токсини. Стероиди су настали модификацијом тритерпенског скелета (губитком три метил групе) и карактерише их тетрациклични гонански скелет. У зависности од супституената на систему прстенова и бочног ланца, стероиди се могу поделити у више класа са специфичним биолошким активностима: стероли, жучне киселине, стероидни хормони, стероидни сапонини, кардиотонични гликозиди, итд. Према биолошком извору, деле се на стероиде инсеката (екдистероиди), кичмењака (холестерол, стероидни хормони – полни хормони, кортикостероиди), биљака (фитостероли, брасиностероиди, сапонини, кардиотонични гликозиди) и гљивичне стероиде (ергостероли).

Међу биљним стероидима, издвајају се три класе које могу испољавати токсично дејство: **стероидни алкалоиди**, **стероидни сапонини** и **кардиотонични гликозиди**.

Пример одбрамбене стратегије засноване на стероидним алкалоидима је синтеза **соланина** у кромпиру (*Solanum tuberosum*, Solanaceae) (Слика 4.25). Важно је напоменути да, с обзиром да садрже азот, стероидни алкалоиди могу да се убрајају и у токсине са азотом, о којима је било речи у потпоглављу 4.1.1. Истовремено, због своје структуре, припадају и групи стероидних токсина.

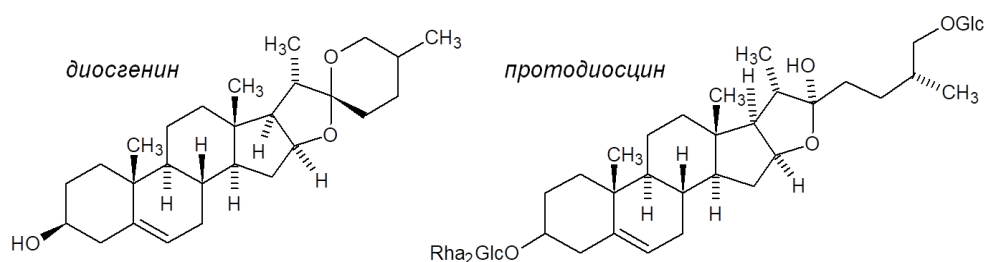


Слика 4.25. Стероидни алкалоид соланин и његов биолошки извор

Кртоле кромпира су богате скробом – значајним извором енергије, што их чини привлачним за биљоједе. У нормалним условима, када се кртоле кромпира налазе под земљом, оне су физички заштићене и недоступне већини биљоједа, па се соланин у њима налази у ниској концентрацији ($<0,2 \text{ mg/g}$), која није штетна за биљоједе. Међутим, када се кртоле налазе ван земље и изложене су светлости, оне постају лако видљиве и доступне биљоједима, због чега биљка прибегава синтези знатно већих количина соланина ($\geq 1 \text{ mg/g}$), које могу бити леталне за биљоједе који се нису адаптирали. Соланин испољава токсичне ефекте путем више механизма – нарушавањем структуре ћелијске мембране, инхибицијом ацетилхолинестеразе и поремећајем метаболизма митохондрија.

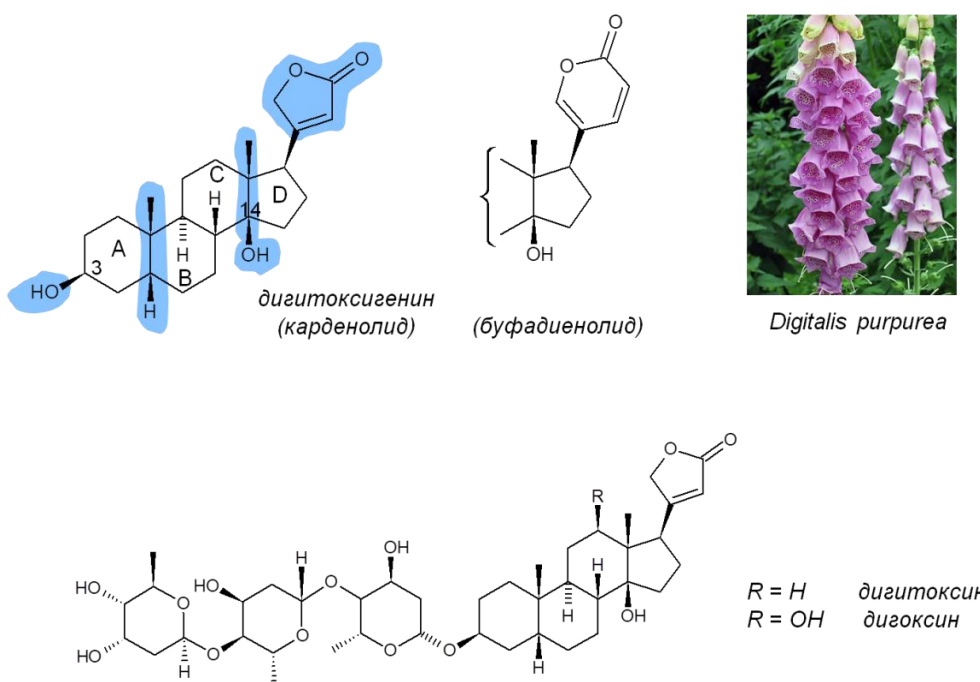
Сапонини су терпенски гликозиди амфипатичне природе и површински су активни, што их чини способним за формирање комплекса са липидима (попут холестерола) у ћелијској мембрани еритроцита, чиме повећавају њену пропустљивост и изазивају хемолизу. Иако су веома токсични када се директно инјектују (због чега су коришћени као отрови за стреле), релативно су безбедни када се уносе орално, тако да храна са

високим садржајем сапонина (пасуљ, сочиво, соја, спанаћ, овас) не представља здравствени ризик. Стероидни сапоници су мање заступљени у природи у односу на тритерпенске сапоници и најчешће се јављају у породицама Dioscoreaceae, Agavaceae и Liliaceae. У зависности од структуре бочног ланца, деле се на спирокетале (спиростанске сапоници), у које спада **диосгенин** (Слика 4.26.) и хемикетале (фуростанске сапоници), чији представник је **протодиосцин** (Слика 4.26.). Како често имају непријатан, горак или сапунаст укус, претпоставља се да им је примарна улога одбијање биљоједа, односно *anti-feedant* ефекат.



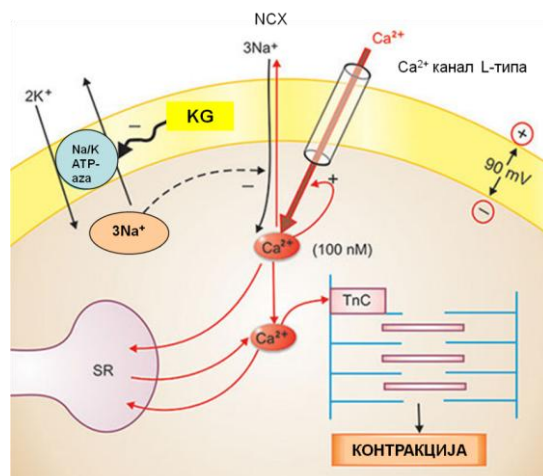
Слика 4.26. Представници стероидних сапоници

Кардиотонични гликозиди (KG) су стероиди са 23 или 24 C атома. Карактеристике их *cis* веза између прстенова А и В, и С и D, 14 β -ОН, гликозилована 3 β -ОН и незасићени лактонски прстен у позицији 17 β . Код карденолида (C23) присутан је мононезасићени γ -лактонски прстен, а код буфадиенолида (C24) динезасићени δ -лактонски прстен (Слика 4.27.).



Слика 4.27. Структуре кардиотоничних гликозида и биљка која их садржи

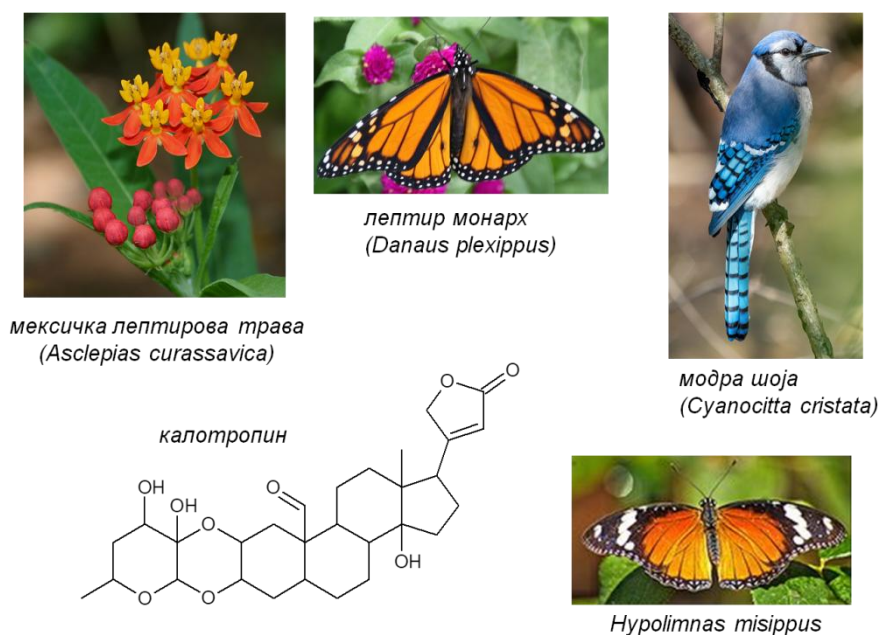
Кардиотонични гликозиди делују на срчани мишић, утичући на брзину, снагу и ритам контракција. Њихово дејство се заснива на инхибицији ензима Na,K-АТФ-азе, који иначе испумпава Na^+ из ћелија срчаног мишића и упумпава K^+ (Слика 4.28.). Инхибицијом Na,K-АТФ-азе повећава се концентрација Na^+ у ћелији, што инхибира NCX транспортер, чија улога је иначе да убацује Na^+ у ћелију, а испумпава Ca^{2+} . На тај начин се повећава и концентрација Ca^{2+} јона у саркоплазми, чиме се стимулише њихов транспорт у саркоплазматични ретикулум. При стимулацији акционим потенцијалом отварају се напонски контролисани Ca^{2+} канали у саркоплазматској мембрани, што омогућава инфлукс Ca^{2+} у ћелију. Инфлукс Ca^{2+} стимулише нагло ослобађање Ca^{2+} из саркоплазматског ретикулума (SR), који се везује за тропонин С, што резултује контракцијом. Повећана концентрација Ca^{2+} у SR услед деловања KG доводи до већег ослобађања Ca^{2+} и јаче контракције у поређењу са оном у одсуству KG. Због тога са KG примењују у терапији срчаних поремећаја у циљу повећања снаге контракција. Међутим, ако су присутни у већим дозама долази до спонтаног ослобађања Ca^{2+} из SR, тахикардије и фибрилације (брзих, неправилних и несинхронизованих контракција срчаног мишића). Због тога су животиње развиле способност да избегавају биљке које производе ова једињења.



Слика 4.28. Механизам деловања кардиотоничних гликозида (KG) на срчану контракцију. SR – саркоплазматични ретикулум, NCX – транспортер за Na^+ и Ca^{2+} , TnC – тропонин С

Један од најпознатијих представника биљака са кардиотоничним гликозидима је напрстак (*Digitalis purpurea*, Plantaginaceae), који је богат дигитоксином и дигоксином (Слика 4.27.). Дигитоксин је гликозид дигитоксигенина, где је шећерна компонента трисахарид од три β -D-дигитоксозе. Дигоксин се разликује од дигитоксина само по додатној ОН-групи у положају C12. У већим количинама ове супстанце изазивају мучнину, повраћање, дијареју, брадикардију, халуцинације, конвулзије и смрт.

У вези са кардиотоничним гликозидима, треба поменути одличан пример коеволуције биљке (мексичка лептирова трава, *Asclepias* sp., Asclepiadaceae), хербиворне животиње (лептира монарха, *Danaus plexippus*) и птице предатора (модра шоја, енгл. *blue-jay*, *Cyanocitta cristata* bromia). *Asclepias* биљке у својим ткивима производе неколико карденолида (укључујући калотропин), који су токсични и горког укуса, због чега служе као пасивна заштита од хербивора (Слика 4.29.).



Слика 4.29. Пример коеволуције и мимикрије у природи – лептир монарх се храни мексичком лептировом травом из које узима токсични калотропин, складишти га и користи за одбрану од предатора (модра шоја). Лептир *Hypolimnys misippus* користи мимикрију (сличан изглед као монарх) због чега га такође модра шоја избегава

Међутим, гусеница лептира монарха се адаптирала и развила механизме за безбедно складиштење ових једињења у свом организму. Захваљујући чињеници да већина других животиња избегава ову биљку,

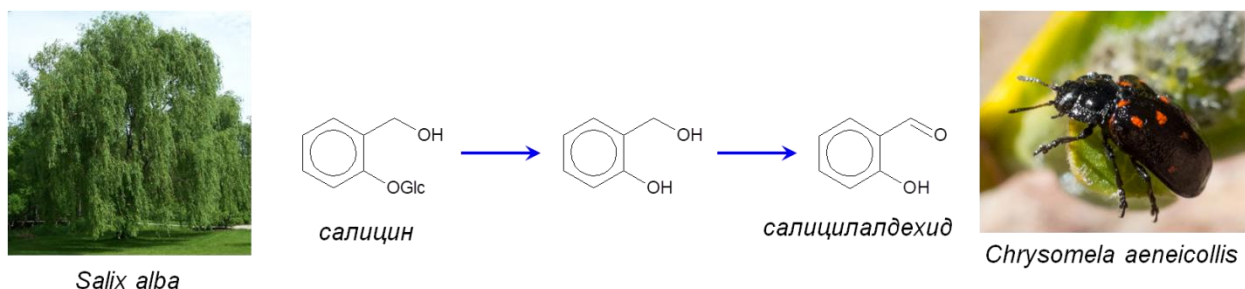
Asclepias постаје фаворизована храна за монарха. Када се гусеница трансформише у лептира, он задржава у свом телу кардиотоничне гликозиде. Када модра шоја први пут покуша да поједе лептира монарха (што ће он преживети захваљујући необично жилавој кутикули), он испушта горке гликозиде који терају птицу на повраћање. Птица ће од тада потпуно избегавати монархе, и све друге лептире сличних боја, чак и ако се у њиховом телу не налазе токсини. Уочено је да су неки лептири (нпр. *Hypolimnas misippus*) (Слика 4.28.) научили да имитирају боје монарха (мимикрија), чиме постижу заштиту од птица-грабљивица, иако се не хране биљкама *Asclepias*, нити акумулирају карденолиде. Са друге стране, неке птице (*Icterus abeillei*, *Pheucticus melanocephalus*) адаптирале су се на присуство ових једињења у лептирима (додуше, на јединке из хладнијих крајева, које садрже мање токсина).

Као што је раније поменуто, лептири монарси, поред врста *Asclepias*, које им служе као извор карденолида, као храну користе и биљке богате сенецио алкалоидима. Пример у ком један биљојед користи две различите групе токсина из биљне хране као одбрану од предатора је прилично необичан. Ово се може објаснити тиме што алкалоиди, осим за заштиту од хербивора, служе и као прекурсори феромона (код сенецио алкалоида) или као заштита од ендопаразита (као што је случај са карденолидима). Поред тога, ова стратегија значајно смањује вероватноћу да предатор развије резистенцију на обе класе алкалоида.

Још једна класа секундарних биомолекула која може да испољи токсична деловања су **биљни феноли**. Биљни феноли представљају разноврсну групу универзално присутних једињења у биљкама, и могу бити шикиматног, ацетогенинског или мешовитог порекла. Обухватају низ класа, укључујући просте феноле, хиноне (бензо-, нафто- и антрахиноне), фенолне киселине (бензоеве и фенилпропенске), кумарине, флавоноиде, лигнане, лигнине, стилбене итд.

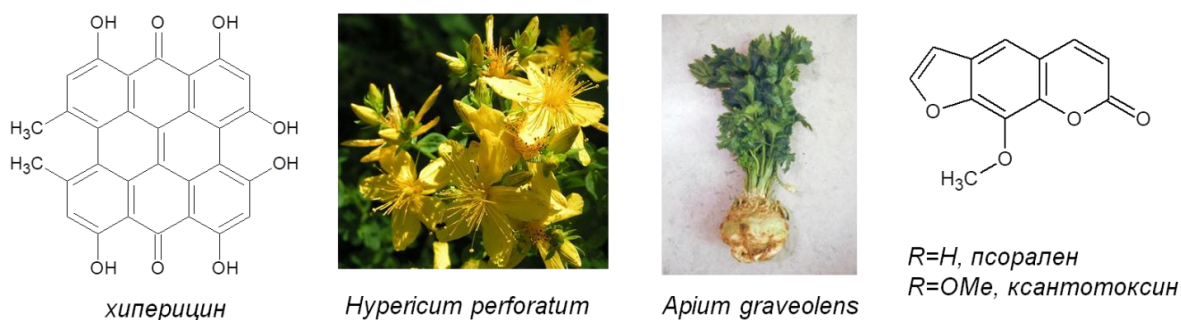
Пример **простог фенола** који одбија биљоједе због горког укуса је салицин из коре врбе (*Salix* врсте, Saliceae) (Слика 4.30.). Међутим, тврдокрилци *Chrysomela aeneicollis* адаптирали су се да користе ово једињење за своје потребе – хидролизују га и конвертују у салицилалдехид,

који представља главну компоненту њиховог одбрамбеног секрета. С друге стране, неки предатори научили су да мирис ових једињења користе за проналажење *Chrysomela* инсеката којима се хране.



Слика 4.30. Салицин – представник простих фенола горког укуса, биљка која га садржи, и адаптирани тврдокрилац који га преводи у салицилалдехид

Нека фенолна једињења имају фотосензибилизаторско деловање због чега могу да буду токсични за биљоједе. Пример је **антрахинон** хиперицин из кантариона (*Hypericum perforatum*, Hypericaceae) (Слика 4.31.). Ако животиње унесу довољну количину хиперицина, постају подложне развоју опекотина при излагању сунчевој светлости, због чега може доћи до некрозе коже која је праћена инфекцијама.

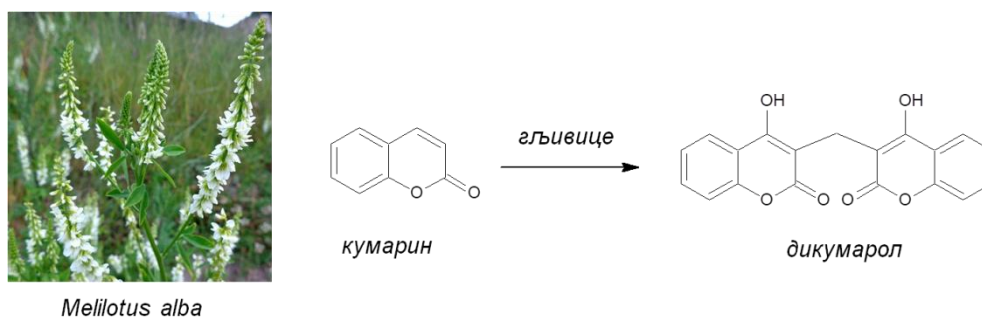


Слика 4.31. Фенолна једињења са фотосензибилизаторским деловањем и њихови биолошки извори

Фотосензибилизаторско дејство показују и линеарни **фуранокумарини**. Примери су псорален из целера (*Apium graveolens*, Apiaceae), першуна (*Petroselinum crispum*, Apiaceae) и смокве (*Ficus carica*, Moraceae), и ксантотоксин из паштрнака (*Pastinaca sativa*, Apiaceae) (Слика 4.30.). Веома су токсични за инсекте. Тако на пример, ксантотоксин изазива 100 %-тни морталитет ларви инсеката при излагању светлости. За сисаре су најчешће безбедни, мада при већим концентрацијама могу довести до фотодерматитиса, стварања пликова и алергијске реакције. Ови

ефекти су нарочито видљиви у случају када сисари конзумира нпр. целер заражен гљивицама, јер њихово присуство за биљку представља стрес који индукује повећање концентрације фуранокумарина у биљци као одбрамбеног механизма.

Нека од кумаринских једињења, као што је дикумарол који настаје у сену трансформацијом кумарина из биљке кокотац (*Melilotus alba*, Fabaceae) (Слика 4.32.) под дејством микроорганизама, представљају снажне антикоагулансе и могу изазвати фатално унутрашње крварење код хербивора. Они спречавају превођење неактивне форме витамина К у активну, која је неопходна за синтезу коагулационих протеина.



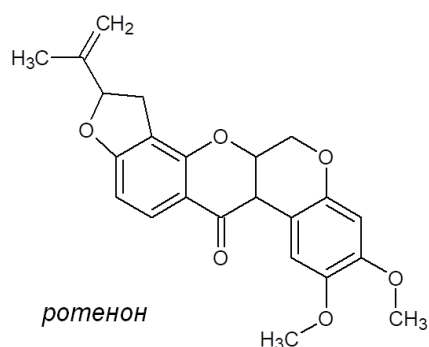
Melilotus alba

Слика 4.32. Превођење кумарина из *Melilotus alba* у дикумарол под дејством гљивица

Додатно, код глодара кумарини пролазе кроз детоксикациони процес у јетри, где их ензим CYP2A5 метаболише и ствара хепатотоксичне производе. Код људи, овај процес катализује изоформа CYP2A6, која производи метаболите мање штетне за јетру.

У токсичне деривате биљних фенола спадају и **ротеноиди**, који настају циклизацијом и пренилацијом изофлавона, а могу се наћи у корену многих биљака из фамилије Fabaceae, као што је *Derris elliptica* из Југоисточне Азије (Слика 4.33.). Иако су за сисаре само благо токсични ако се унесу орално, изразито су токсични за инсекте и акватичне организме због лакше апсорпције кроз трахеје и шкрге у поређењу са дигестивним трактом. Ротенон (Слика 4.33.), један од главних ротеноида, инхибира пренос електрона са Fe-S кластера комплекса I електрон-транспортног ланца митохондрија на убихинон, блокирајући производњу АТР-а, који је неопходна за ћелијске функције, што доводи до смрти. Ротенон се због овог

дејства примењује као ефикасан инсектицид, али је истовремено и веома токсичан за акватичне организме, што ограничава његову примену у близини водених екосистема.



Derris elliptica

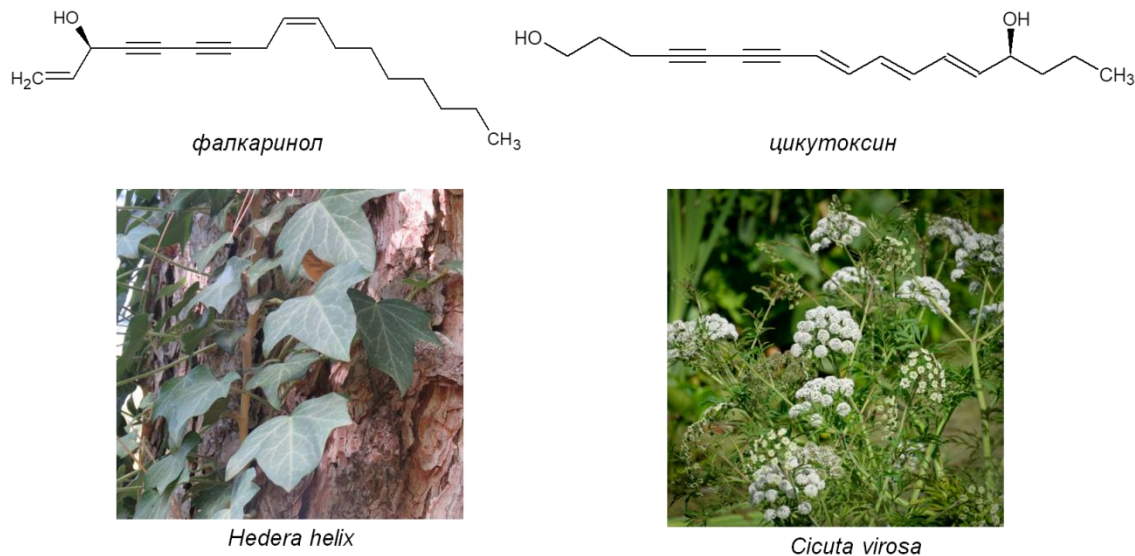
Слика 4.33. Инсектицид rotenone и биљка која га садржи

У многим биљкама, нарочито у фамилијама Asteraceae и Apiaceae, пронађени су и **полиацетиленски** токсини са неуобичајеном структуром са троструким везама. Сам назив „полиацетилени” је донекле неодговарајући, јер класа обухвата и једињења са само једном $C\equiv C$ везом. Већина ацетиленских природних производа изводи се од три масне киселине – крепенинске ((*Z*)-октадец-9-ен-12-инска киселина), стеаролне (октадец-9-инска киселина) и тариринске киселине (октадец-6-инска киселина) – које настају из уобичајених незасићених масних киселина.

Док су код неких врста конститутивно присутне и представљају антифунгалне фитоантиципине (нпр. код корена шаргарепе, *Daucus carota*, Apiaceae), у другима (нпр. фамилије Apiaceae и Solanaceae) се синтетишу приликом стреса, тј. представљају фитоалексине. Многе биљке које садрже алифатичне C_{17} -полиацетилене (фамилије Apiaceae и Araliaceae) изазивају алергијски контактни дерматитис и иритације коже. За већину ефеката одговоран је фалкаринол (Слика 4.34.), за кога се претпоставља да је веома јак алкилујући агенс и реагује са нуклеофилним ($-SH$ и $-NH_2$) групама протеина дајући антигене конјугате (хаптен-протеин комплексе).

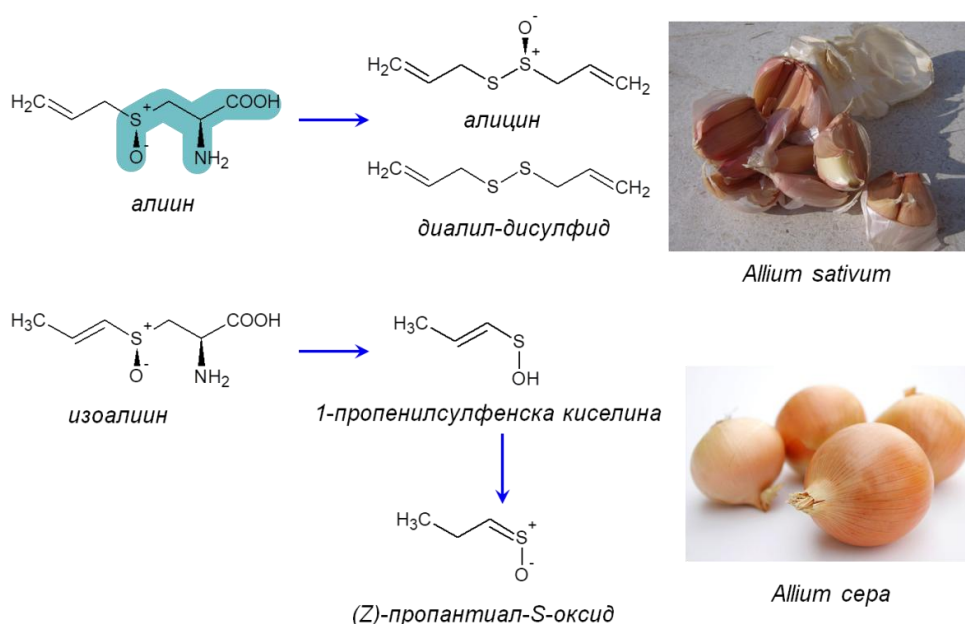
Примери биљака са полиацетиленским токсинима су бршљан (*Hedera helix*, Araliaceae), у коме је присутан фалкаринол који изазива контактни дерматитис, и барска кукута (*Cicuta virosa*, Apiaceae), у којој се налази цикутоксин који је за сисаре екстремно токсичан (Слика 4.34.).

Циклутоксин је антагонист GABA рецептора и доводи до поремећаја у централном нервном систему. Долази до дрхтавице, епилептичких напада, константног повраћања и конвулзија, што води респираторној парализи и смрти.



Слика 4.34. Примери полиацетиленских токсина и њихови биолошки извори

Сумпорна једињења могу имати значајну улогу у одбрани биљака од хербивора. Пример за то су деривати *S*-алк(ен)ил-цистеин-сулфоксида, који се налазе у врстама рода *Allium*, попут белог и црног лука. У белом луку (*Allium sativum*) присутан је алиин (*S*-алил-цистеин-сулфоксид) (Слика 4.35.). Када се ткиво белог лука оштети (на пример, жвакањем или сецкањем), алиин ступа у контакт са ензимом алииназом, што доводи до стварања алицина и других сумпорних једињења, као што су тиоли (RSH) и полисулфиди (RS_nR'), где R може бити метил-, пропил-, 1-пропенил- или алил-, док n може имати вредности од 1 до 4. Ова једињења дају карактеристичан интензиван мирис и укус белом луку, који делују одбојно на хербиворе и на тај начин штите биљку.



Слика 4.35. Примери сумпорних одбрамбених једињења и њихови биолошки извори

Црни лук (*Allium cepa*) користи сличан механизам за одбрану. Главни дериват у његовом случају је S-1-пропенил-цистеин-сулфоксид (изоалиин). Када се ткиво црног лука оштети, активира се ензим алииназа, који претвара изоалиин у 1-пропенилсулфенску киселину (Слика 4.35.). Ово једињење се затим, уз деловање синтазе лакриматорног фактора, конвертује у (Z)-пропантисал-S-оксид — испарљиво једињење које изазива сузење и пецкање очију (лакриматорни фактор), што одбија хербиворе.

У биљне токсине без азота спадају и неке **органске киселине**, као што су флуоросирћетна (CH_2FCOOH) и оксална киселина ($(\text{COOH})_2$).

CH_2FCOOH је присутна у афричкој биљци гифблаар (*Dichapetalum cymosum*) и биљкама рода *Gastrolobium* које расту у Западној Аустралији (Слика 4.36.). Ово једињење се у организму претвара у флуороацетил-СоА, који се укључује у Кребсов циклус и преводи у флуороцитрат деловањем цитрат синтазе. Флуороцитрат се чврсто везује за аконитазу (следећи ензим Кребсовог циклуса, који конвертује цитрат у изоцитрат) и инхибира је, чиме се зауставља Кребсов циклус и продукција енергије у ћелији. То доводи до тахикардије или брадикардије, хипотензије, грчева, епилептичних напада, коме и смрти. LD_{50} за човека је 2–10 mg/kg.

Оксална киселина је присутна у многим биљкама, а међу уобичајеним намирницама заступљена је у першуну и спанаћу (око 1–2%). Њена

токсичност долази до изражаја само када је у растворном облику (у виду Na^+ или K^+ -соли, али не Ca^{2+} -соли) и у високим концентрацијама ($\geq 10\%$ суве масе), као што је то случај у биљкама *Rheum rhabarbarum* и *Rumex acetosa* (Слика 4.36.). Механизам деловања ове киселине није у потпуности разјашњен, али се претпоставља да може инхибирати сукцинат-деhidрогеназу, ензим електрон-транспортног ланца. Поред тога, у реакцији са металним јонима, оксалат може допринети настанку камена у бубрегу.

*Dichapetalum cymosum**Gastrolobium spinosum**Rheum rhabarbarum**Rumex acetosa*

Слика 4.36. Биљке које садрже органске киселине као одбрамбена једињења

4.1.3. Механизми детоксикације код животиња

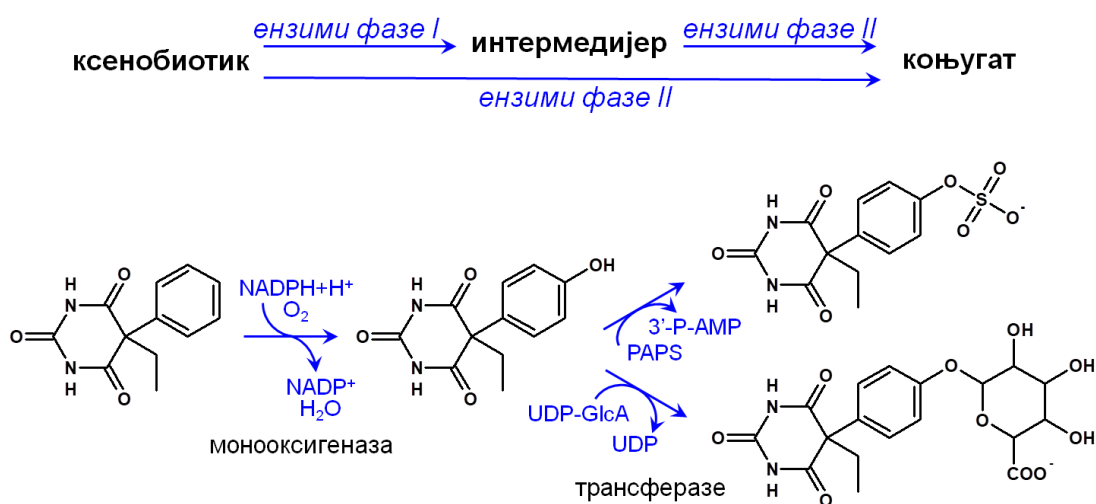
Организам животиње реагује на унесене биљне токсине тако што покушава да смањи њихове штетне ефекте и елиминише их кроз процес детоксикације. Детоксикација је скуп биохемијских реакција којима се потенцијално штетна једињења инактивирају, деградирају или трансформишу у облик који се лакше избацује из организма. Нарочито када су токсини липосолубилни, потребно је да се преведу у водорастворну форму која се лакше може излучити, што се постиже конјугацијом (везивањем) са другим молекулима, попут глукуронске киселине или сулфата. Ако механизам детоксикације није у стању да адекватно обради или елиминише токсичне супстанце, долази до интоксикације која резултује различитим здравственим проблемима.

Процес детоксикације састоји се из две фазе (Слика 4.37.).

Фаза I подразумева биохемијске реакције, попут оксидације, редукције и хидролизе, које једињење припремају за наредни корак – конјугацију. Најважнији ензими фазе I су монооксигеназе (оксидазе мешовитих функција), које се налазе у ендоплазматском ретикулуму

хепатоцита и најчешће користе цитохром Р450 као носач електрона. Ови ензими уводе ОН групу у молекул – преводе ароматична једињења у одговарајуће феноле, а алифатична једињења у алкоhole, чинећи их реактивнијим и спремним за конјуговање у следећој фази.

Фаза II: У овој фази долази до конјугације, где се токсин или његов метаболит из фазе I везује за молекул шећера или сулфатну групу. Овде су кључни ензими трансферазе, који врше пренос одређене функционалне групе/молекула и захтевају енергију. Код сисара и других кичмењака, најчешћи конјугати су глукуронозиди и сулфати, мада се јављају и деривати аминокиселина (нарочито глицина и орнитина).



Слика 4.37. Механизми детоксикације ксенобиотика код кичмењака. PAPS - 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосулфат

Код инсеката и других бескичмењака, главни конјугати су глукозиди (формирани под дејством глукозилтрансферазе), иако су пронађени и сулфати и фосфати.

У последњој фази, конјуговани ксенобиотици се излучују путем урина или жучи. Једињења са два или више алифатичних или ароматичних прстенова пролазе кроз ентерохепатичну циркулацију (јетра → жуч → дуоденум → илеум → портална вена → јетра) пре него што се на крају излуче фецесом. При томе, може доћи до додатног метаболизма од стране цревне микробиоте и реапсорпције метаболита у крв. Флавоноиди се, на пример, разлажу на низ малих ароматичних фрагмената под утицајем цревних бактерија.

Треба поменути да, за исто једињење, могу постојати значајне међу- и унутарспецијске варијације у процесу детоксикације. Пример међуспецијских разлика је метаболичка судбина бензоеве киселине: сисари, водоземци, рибе и инсекти излучују је као конјугат са глицином (хипурична киселина), птице и гмизавци као конјугат са орнитином (орнитурична киселина), а паукови и стоноге као конјугат са аргинином (Слика 4.38.).



Слика 4.38. Метаболити бензоеве киселине код различитих врста животиња

Пример интраспецијске варијације је метаболизам бетанина, главног пигмента цвекле, код људи. Бетанин подлеже метаболичким променама о организму човека при чему настају различити декарбоксиловани, дегликозиловани и дехидрогенизовани метаболити који се излучују путем урина. Међутим, примећено је да код око 14 % одраслих Британаца бетанин не може да се метаболише, већ се излучује непромењен путем урина након конзумације цвекле. Ова појава се назива "бетурија".

Ако детоксикациони механизми нису успели да се изборе са одређеним токсином, било због његове специфичне структуре или високе концентрације, токсично једињење остаје активно у организму и доводи до штетних последица.

ФАГОАТРАКТАНТИ И ФАГОРЕПЕЛЕНТИ

05

У претходном поглављу описани су различити секундарни биомолекули које биљке синтетишу ради одбране од биљоједâ, као што су токсини (алкалоиди и др.) или супстанце непријатног или иритирајућег укуса и/или мириса (глукозинолати, цистеин-сулфоксиди итд.). Ова једињења су некада сматрана отпадним производима метаболизма без значаја за биљку. Тек су истраживања средином XX века, нарочито радови Френкела (1959), а потом и Ерлиха и Рејвена (1964), показала да она заправо играју кључну улогу у понашању инсеката при одабиру хране и утичу на коеволутивне процесе између биљака и њихових опрашивача и предатора.

Специфична хемијска једињења из биљака која привлаче биљоједе да поједу биљку или њене делове називају се фагоатрактанти, док се она која одвраћају биљоједе и значајно смањују вредност биљке као хране називају фагорепеленти.

Секундарни метаболит који делује као репелент за већину биљоједа може постати атрактант (стимулант храњења) за одређеног биљоједа који се адаптирао на овај хемијски изазов. Ова адаптација омогућава прилагођеном биљоједу да искористи биљку која производи дати секундарни метаболит као специфичан извор хране, чиме стиче значајну предност у односу на неадаптиране хербиворе. Последица ове специфичне адаптације на одређене секундарне метаболите је да се прилагођене хербиворе обично хране малим бројем биљних врста, најчешће сродних – из истог рода, трибуса или фамилије – које имају сличан хемијски састав, иако не нужно и сличну морфологију. Међутим, ова стратегија има и своје недостатке, јер неки инсекти постају зависни од појединих супстанци и нису способни да се хране биљкама које те супстанце не садрже.

У овом поглављу ће бити размотрене биохемијске основе преференције хербивора за одређену биљну храну.

5.1. ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ИЗБОР ХРАНЕ КОД ИНСЕКТА

Велика већина инсеката су биљоједи и могу користити своје хеморецепторе (чула укуса и мириса) за разликовање биљака. Њихове стратегије избора биљне хране условљене су, с једне стране, садржајем и односом хранљивих материја у биљци, а с друге стране, способношћу адаптације инсекта на одбрамбене хемијске супстанце из биљке. Релативни значај ова два фактора варира од инсекта до инсекта. Адаптације на одбрамбене супстанце биљака, које су се развиле код инсеката током еволуције, омогућавају им да искористе ресурсе у свом окружењу, који нису доступни другим врстама, чиме смањују конкуренцију.

5.1.1. Нутритивна вредност биљне хране

Као и свим другим животињама, и инсектима је храна неопходна као извор енергије и градивног материјала (нарочито биомолекулâ које не могу сами да синтетишу – есенцијалних аминокиселина, витамина, стеролâ). Биљке генерално представљају субоптималну храну за хербиворе. Наиме, биљно ткиво се састоји од разређеног раствора хранљивих материја у матриксу несварљивих структурних биомолекула, као што су целулоза и лигнин. Поред тога, однос нутријената у биљкама често се значајно разликује од нутритивних потреба самих биљоједа, што додатно компликује њихово храњење.

Уколико се упореди хемијски састав инсеката и биљака, уочава се да је садржај четири од седам макроелемената (S, Na, P, N) и три микроелемента (Cu, Zn, Fe) у биљкама значајно нижи него у инсектима, док је садржај Mg, Ca, K и Mn исти или виши у биљкама. Такође калоријска вредност ткива хербиворних инсеката је тек мало виша од оне у биљкама, док су све биљке међусобно сличне по калоријској вредности. То значи да, у моменту када инсект унесе довољно Mg, Ca, K, Mn и калорија, и даље није задовољио потребе за S, Na, P, N, Cu, Zn и Fe, те мора унети још хране. Ово

је нарочито важно у контексту азота, јер се у биљкама он у значајном делу налази у неорганској форми (коју животиње не могу да искористе), или токсичној форми (алкалоиди), што додатно смањује садржај и искористивог азота. Услед тога је нутритивна вредност биљака, а самим тим и количина коју инсект мора да конзумира да би задовољио своје потребе, пре свега одређена садржајем и врстом азотних једињења. Ове особине варирају у зависности од врсте биљке, дела биљке и фазе развоја, што све заједно чини храњење хербивора сложеним и захтевним процесом. Експериментално је утврђено да полифагни инсекти, уколико имају избора (односно, ако нису ограничени присуством токсина), преференцијално нападају биљке са средњим до високим садржајем N. С друге стране, биљке веома богате азотним једињењима, као што су махунарке, морају да производе низ различитих одбрамбених једињења како би се заштитиле.

С обзиром да су, грубо гледано, све биљке релативно сличне по хранљивој вредности (профилу примарних биомолекула – угљених хидрата, протеина и масти), најчешће су садржај искористивог азота и присуство секундарних биомолекула кључни фактори који утичу на избор хране код хербивора.

Разумевање нутритивних потреба инсеката и њихове способности да се адаптирају на хемијске одбрамбене механизме биљака од кључног је значаја за развој стратегија управљања популацијама инсеката штеточина у пољопривреди. Овакав приступ може допринети ефикаснијој и одрживијој заштити усева од инсеката, уз смањену употребу хемијских пестицида.

5.1.2. Фагорепеленти инсеката

Фагорепеленти (енгл. *feeding deterrent*) обухватају низ класа секундарних биомолекула биљака, од терпеноида, преко фенола (хинона и флавоноида), до једињења са азотом (алкалоиди, цијаногени гликозиди) и сумпором (глукозинолати, цистеин-сулфоксиди) (Табела 5.1.). Већина ових класа већ је обрађена у поглављу 4.1. *Биљни токсини*. Ова једињења могу инхибирати храњење, смањити искористивост хране и испољавати директну токсичност.

Табела 5.1. Примери фагорепелената, биљака које их садрже, и инсеката на које испољавају репелентно дејство

Инсект	Биљка	Фагорепеленти
Мрави		
<i>Atta cephalotes</i>	<i>Astronium graveolens</i>	монотерпен: β -оцимен
Тврдокрилци		
<i>Leptinoarsa decemlineata</i>	<i>Solanum demissum</i>	алкалоид: демисин
<i>Monochamus alternatus</i>	<i>Pinus densiflora</i>	угљоводоник: етан
<i>Scolytus multistriatus</i>	<i>Carya ovata</i>	хинон: југлон
Мољци		
<i>Heliothis zea larva</i>	<i>Gossypium barbadense</i> (памук)	терпеноид: госипол флавоноиди: кверцетин-гликозиди
<i>Operophtera brumata</i>	<i>Quercus robur</i> (храст)	флавоноиди: танини
<i>Spodoptera ornithogallii</i>	<i>Vernonia glauca</i>	сесквитерпенски лактон: глауколид А

С обзиром да инсекти могу брзо да развију резистенцију према једној класи одбрамбених једињења, биљке често прибегавају коришћењу више различитих класа. Тако нпр. биљка дуван (*Nicotiana tabacum*) садржи танине и алкалоиде (никотин) као заштитна једињења. Танини смањују сварљивост хране, док никотин делује као снажан нервни токсин за већину инсеката, што значајно отежава развој резистенције, јер инсекти морају истовремено да се адаптирају на два различита механизма деловања.

Даље, експериментално је потврђено да је искористљивост биљне хране која садржи фагорепеленте смањена (субоптимална), иако се инсект адаптирао на присуство тих једињења. Тако је доказано да неки инсекти вишеструко боље расту на вештачкој подлози (без одбрамбених супстанци) него на биљкама које су им уобичајена храна.

То указује да фагорепеленти увек, бар у извесној мери, штите биљку од хербиворних инсеката, јер адаптација инсекта не елиминише у потпуности негативне ефекте ових хемијских једињења.

Фагорепеленти који нису обрађени раније у овом уџбенику су једињења која смањују искористивост односно нутритивну вредност хране (**антинутријенти**). Ова једињења делују путем ометања дигестије (нпр. спречавањем хидролизе протеина до аминокиселина) или апсорпције

нутријената. Примери антринутријената су кондензовани танини (инхибирају дигестију протеина), гополин из памука (инхибира протеазе и амилазе – ензиме задужене за варење протеина и скроба), рутин и др. Инсекти се могу борити против ових једињења изменом секвенце и структуре дигестивних ензима, тако да они постану отпорни на инхибицију, затим променом рН у гастроинтестиналном тракту, апсорпцијом секундарних биомолекула тако да не ометају процесе у цревима, полимеризацијом полифенола итд. Дobar пример је ларва мољца *Helicoverpa armigera* (кукурузна совица), који може да се храни великим бројем врста биљака захваљујући развијеним механизмима толеранције на различите репеленте. Један од ових механизма је полиморфизам гена за дигестивне ензиме. Наиме, овај инсект има широк спектар различитих гена који кодирају дигестивне протеазе. Када дође у контакт са биљком која садржи одређене инхибиторе протеаза, долази до активације специфичних гена који кодирају протеазе отпорне на те инхибиторе. Тако овај инсект може да мења ензиме у свом пробавном тракту у зависности од биљке коју конзумира. Такође, *H. armigera* има способност да мења рН вредност у дигестивном тракту чиме смањује ефикасност одбрамбених супстанци као што су танини, а поседује и ензиме који му омогућавају да метаболише и елиминише токсичне биљне метаболите. Захваљујући свим овим механизмима, *H. armigera* ефикасно одолева различитим одбрамбеним механизмима биљака и може да се храни широким спектром биљака.

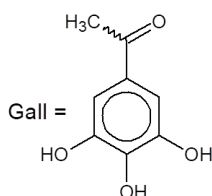
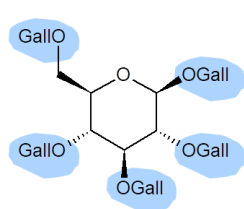
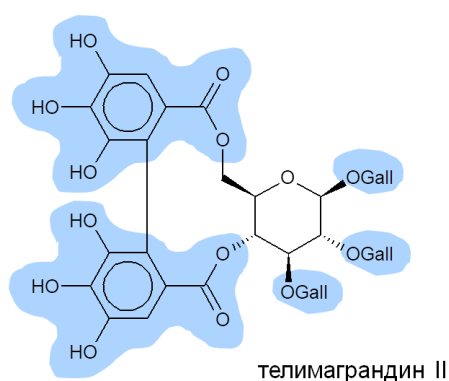
Фенолна једињења из групе **танина** су најраспрострањенији антинутријенти и представљају једну од најважнијих баријера против биљоједа код голосеменица и скривеносеменица. Ова једињења су у лишћу дрвенастих биљака присутна у високим концентрацијама. Танини обухватају две класе биљних фенола. Хидролизабилни танини представљају деривате галне киселине (у случају галотанина) или њеног димера, хексахидроксидифенске киселине (код елагитанина), са шећером – глукозом. Кондензовани танини, с друге стране, представљају олигомере флаванолних јединица (Слика 5.1.).

Све танине карактерише способност везивања за протеине што је кључно за њихову одбрамбену функцију у биљкама. Када инсекти или друге

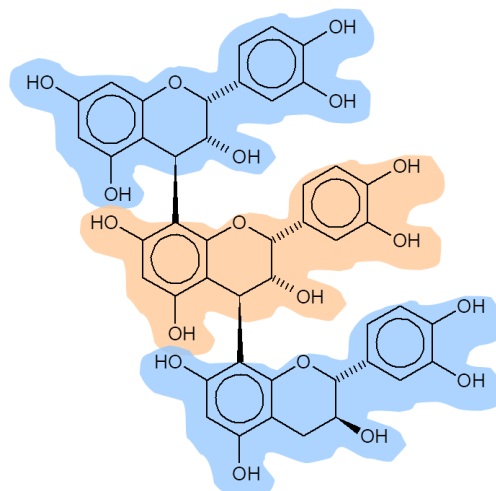
животиње поједу биљке које садрже танине, ови молекули се вежу за протеине из хране или за ензими у дигестивном тракту. Ово везивање је често толико јако да је ирверзибилно и доводи до денатурације и таложења протеина. Протеини везани за танине се тешко хидролизују на аминокиселине, јер дигестивни ензими не могу на њих да делују. Као резултат, апсорпција аминокиселина из хране је смањена. Овај процес сврстава танине у ефикасна одбрамбена једињења која смањују сварљивост биљне хране и чине биљку непривлачном за храњење.

Танини такође имају и адстрингентно дејство, које настаје као последица њихове интеракције са протеинима, а које ствара осећај опорости у устима. Овај осећај је непријатан за сисаре, птице, гмизавце, а вероватно и за инсекте, због чега избегавају храну која га изазива. Поред тога, танини могу изазвати лезије у гастроинтестиналном тракту, што додатно смањује привлачност и безбедност биљака које их садрже као извора хране.

• хидролизабилни танини



• кондензовани танин



Слика 5.1. Примери хидролизабилних и кондензованих танина

Пример фагорепелентног деловања танина забележен је код ларве мољца малог мразовца (*Operophtera brumata*), која се храни лишћем храста лужњака (*Quercus robur*, Fagaceae). Уочено је да се ларве нормално хране

лишћем храста до средине јуна, када нагло прелазе на друге врсте дрвета. Ова појава није могла да се објасни променом нутритивне вредности лишћа, јер није било значајних промена, нити активношћу предатора. Испитивања хемијског састава листа храста показала су да се садржај хидролизабилних танина не мења током времена, али да значајно расте садржај кондензованих танина средином јуна. Ово указује да су ларве адаптиране на присуство танина само до извесне границе, али да не толеришу прекомерне количине танина.



Operophtera brumata



Quercus robur

Слика 5.2. Пример инсекта адаптираног на присуство танина и биљка којом се храни

Ефикасност танина у инхибирању варења протеина зависи од рН вредности, а највећа је у киселој средини. У цревима ларве *O. brumata*, рН износи око 9,2, што може представљати покушај адаптације на високе концентрације танина.

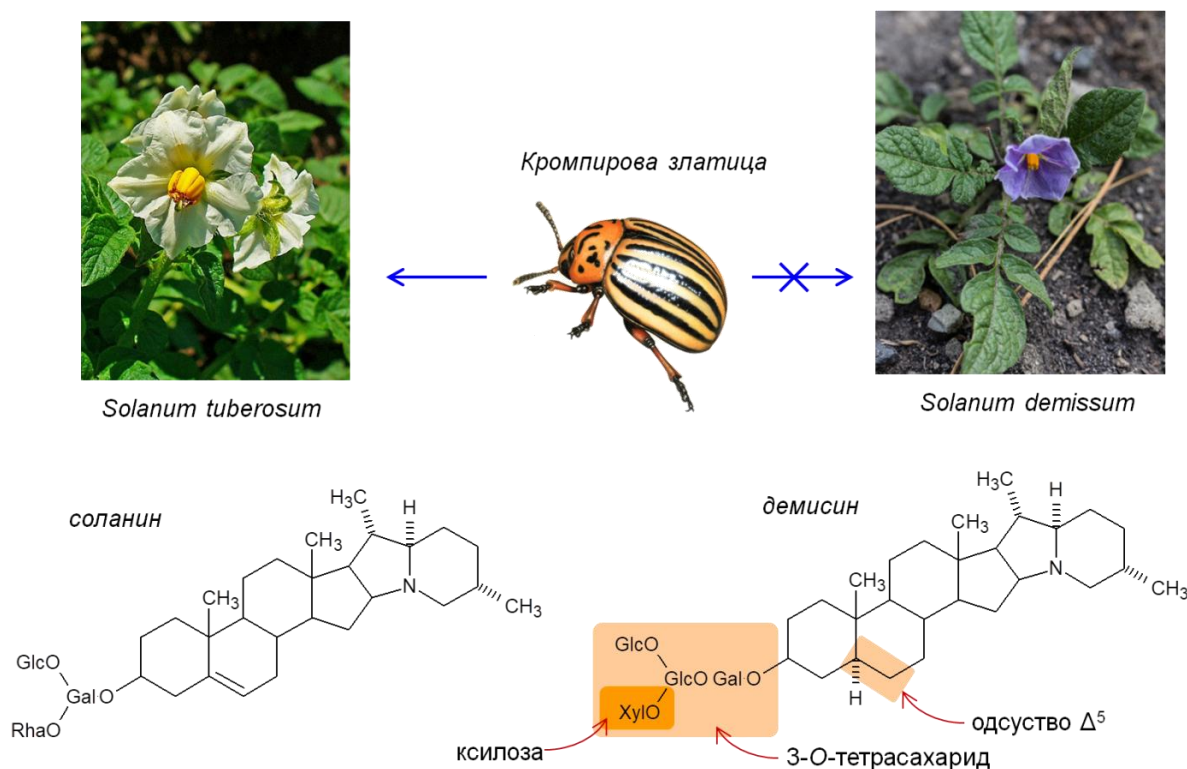
Инсекти су генерално осетљиви на присуство танина у биљци. Од бар 110 Lepidoptera врста (лептира и мољаца), које се хране храстом на почетку јуна, само 65 врста се може наћи на овој биљци у августу, и то са мањом бројношћу. Разлог за то је што биљка, као одговор на предацију, интензивира синтезу танина и повећава жилавост листа, како би спречила потпуну дефолијацију услед храњења инсеката. Када се смањи број инсеката, храст обнавља уништено лишће, регенеришући укупну фотосинтетичку површину до нивоа довољног за сакупљање залиха за зимске месеце.

Танини и слична једињења, која се синтетишу у великим количинама и представљају генералне репеленте, карактеристична су за дуговечне биљке, које су много чешће предмет дуготрајних напада од стране хербивора. С друге стране, једногодишње и теже уочљиве биљке (нпр.

Brassicaceae), које хербиворе ређе нападају, користе специјализоване одбрамбене хемикалије, које се производе у малим количинама (глукозинолате, алкалоиде).

Биљоједи могу временом развити одређени степен отпорности на специфичне репеленте, као што су алкалоиди. Ипак, чак и мале структурне промене у овим једињењима могу отежати или онемогућити процес детоксикације код биљоједа, што омогућава биљци да поново успостави своју заштиту. Један од занимљивих примера адаптације хербивора на фагорепеленте и утицаја структуре секундарног биомолекула на фагорепелентно дејство је интеракција кромпирове златице (*Leptinotarsa decemlineata*) и кромпира (*Solanum tuberosum* и других *Solanum* врста, Solanaceae). Кромпирова златица је добро адаптирана на алкалоид соланин, главни репелент гајеног кромпира, због чега се несметано храни овом биљком и доводи до оштећења листа кромпира. У Северној Америци и континенталној Европи сматра се за велику штеточину, јер узрокује озбиљно смањење приноса кромпира. Међутим, неке самоникле јужноамеричке *Solanum* врсте производе неке друге алкалоиде на које се ова штеточина није адаптирала. Тако нпр. дивљи кромпир *S. demissum* садржи демисин, као главни алкалоид у листу (Слика 5.3.). Ово једињење структурно је веома слично соланину, али је очигледно довољно различито да одбија иначе адаптиране кромпирове златице.

Испитивањем других сродних алкалоида из *Solanum* врста, откривено је да су три структурна елемента кључна за репелентно дејство: присуство С-3 везаног тетрасахарида, присуство ксилозе у склопу поменутог тетрасахарида и одсуство Δ5 двоструке везе (Слика 5.3.). Соланин, код кога ова три услова нису испуњена, неактиван је према кромпировој златици, док је томатин (главни алкалоид парадајза), који задовољава све услове, активан као демисин. Експериментално је потврђено да увођење 2 mmol/kg томатина у лишће кромпира доводи до смањења храњења кромпирове златице за 50 %, док 3 mmol/kg резултује 100 %-тном смртношћу ларви. Претпоставља се да токсично дејство има везе са ометањем апсорпције стерола или биосинтезе хормона екдисона.

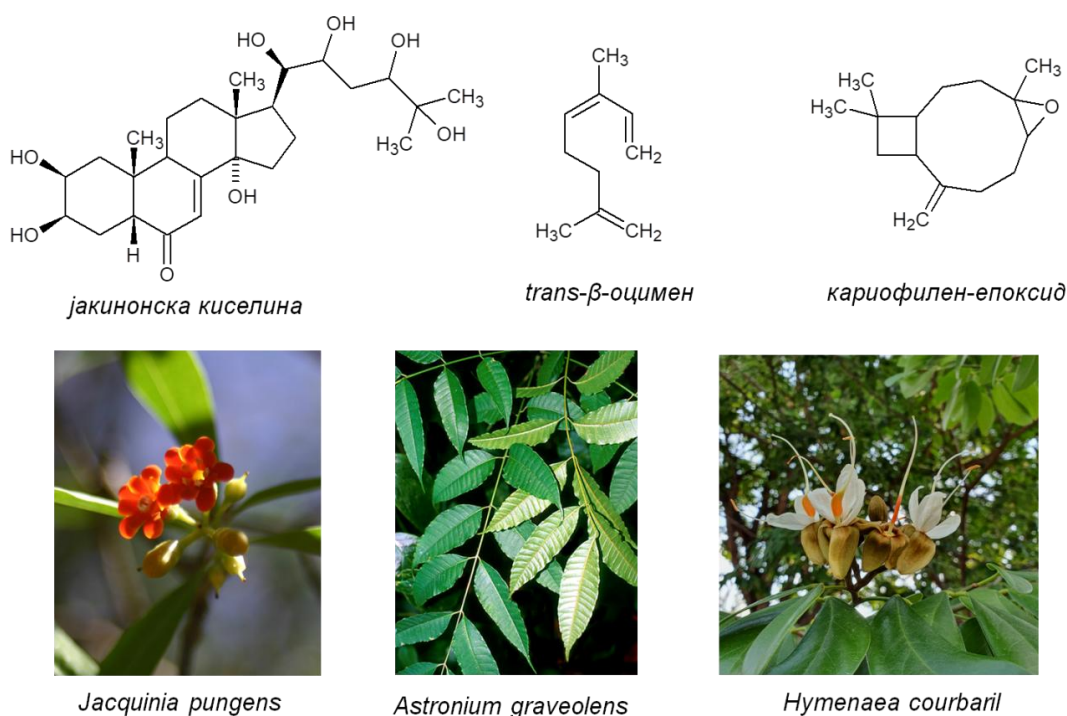


Слика 5.3. Кромпирова златица је успешно адаптирана на присуство соланина у *S. tuberosum*, док на присуство демисина из *S. demissum* није

Док већина биљака производи супстанце које су директно одбојне или штетне за биљоједе, неке биљке су развиле другачију стратегију за одбрану. Такав пример су тропске биљке попут *Jacquinia pungens* (Theophrastaceae), *Cordia alliodora* (Boraginaceae) и *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) (Слика 5.4.), који имају посредан начин одбране од мравобаштована (leaf-cutter ants, родови *Atta* и *Acromyrmex*). Ови мрави се не хране директно биљкама, већ секу делове листова и односе их у колонију, где служе као подлога за развој гљивица рода *Lepiotaceae* којима се ларве мраве хране. За биљку је веома важно да се одбрани од ових инсеката јер, захваљујући чињеници да за собом остављају мирисне трагове за навођење других мраве до хране, као и чињеници да је већ начето лишће нарочито привлачно за њих, лако може доћи до масовног напада и потпуног уништења биљке.

Сами мрави су веома неселективни у избору хране захваљујући томе што су отпорни на већину секундарних биомолекула који иначе одбијају хербиворне инсекте. Због тога су биљке морале да развију алтернативне

системе заштите. Наиме, оне продукују антифунгална једињења, која самим мравима не штете, али би довела до уништења гајених гљивица у колонији. Примери ових једињења су монотерпен β -оцимен, сесквитерпени кариофилен-епоксид, спатуленол и ласидол-ацетат, и тритерпен јакинонска киселина (Слика 5.4.). Мрави региструју хемијске сигнале које им шаље гљивица, као одговор на подлогу на којој је засејана, те су научили да препознају једињења која гљивицама не пријају (путем мириса, у случају испарљивих компоненти као што су β -оцимен и кариофилен-епоксид, или укуса, код неиспарљивих сескви- и тритерпена) и избегавају биљке које их садрже.



Слика 5.4. Примери тропских биљака и једињења које оне производе за одбијање leaf-cutter мравца

5.1.3. Фагоатрактанти инсеката

Биљке производе и фагоатрактанте (фагостимуланте) – хемијске супстанце које стимулишу инсекте да их конзумирају (Табела 5.2.). То значи да су током еволуције инсекти развили механизме препознавања специфичних хемијских сигнала из биљака које бирају као храну. Ове супстанце указују инсектима да је одређена биљка за њих погодан извор ресурса, било да су то хранљиве супстанце или неки други ресурси које инсект може да искористи, нпр. за репродукцију, одбрану или опстанак.

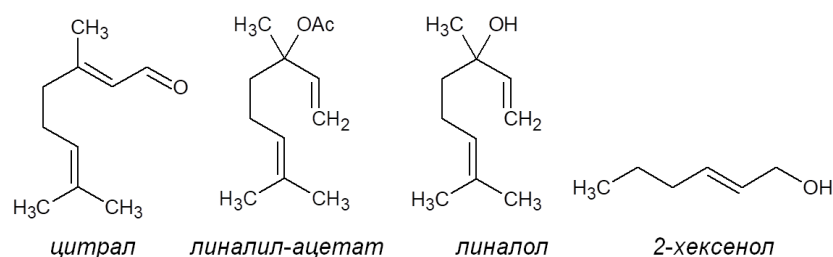
Често се дешава да једињења која биљке синтетишу у циљу своје одбране, захваљујући адаптационим механизмима неких хербиворних инсеката, постану за те инсекте фагоатрактанти. Већина класа природних производа може испољавати атрактантна својства: моно-, сескви- и тритерпени, иридоиди, кумарини, флавоноиди, алкалоиди, глюкозинолати. Неки од ових молекула су чак високо токсични за већину организама. У већини случајева, у интеракцији између биљке и инсекта учествује више једињења.

Табела 5.2. Примери фагоатрактаната, биљака које их садрже, и инсеката на које испољавају атрактантно дејство

Инсект	Биљка	Атрактанти
Биљне ваши		
<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brassica campestris</i>	глюкозинолати: синигрин
<i>Acyrtosiphon spartii</i>	<i>Sarothamnus scoparius</i>	алкалоиди: спартеин
Тврдокрилци		
<i>Agasicles</i> sp.	<i>Alternanthera phylloxeroides</i>	флавонони: 6-метоксилутеолин-7-О-рамнозид
<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	<i>Citrullus lanatus</i> (лубеница)	тритерпени: кукурбитацини
<i>Scolytus mediterraneus</i>	<i>Prunus</i> spp.	флавоноиди: таксифолин, пиноцембрин, дихидрокемферол
<i>Scolytus multistriatus</i>	<i>Ulmus europea</i>	флавоноиди: катехин-7-О-ксилозид тритерпени: лупеил церотат
Лептири		
<i>Papilio ajax</i>	<i>Foeniculum vulgare</i> (морач)	етарска уља
<i>Pieris brassicae</i>	<i>Brassica campestris</i>	глюкозинолати
Мољци		
<i>Bombyx mori</i>	<i>Morus nigra</i> (дуд)	флавоноиди, етарска уља
<i>Ceratonia catalpa</i>	<i>Catalpa</i> spp.	иридоидни гликозиди
<i>Serodes partita</i>	<i>Papaya capensis</i> (дивља шљива)	квебрахитол

Према избору биљака које користе као храну, инсекти се могу поделити на монофагне – хране се само једном врстом биљке (или неколико сличних врста из истог рода), олигофагне – хране се са неколико

Олфакторни атрактанти



Специфични фактори грижења



Слика 5.6. Фагоатрактанти за свилену бубу (*Bombyx mori*) из биљака рода *Morus*

Друга група једињења која привлачи ларве свилене бубе су фактори грижења. Овде спадају шећери (сахароза и инозитол) и фитостерол ситостерол, који су есенцијални делови исхране инсеката и у принципу могу деловати као стимуланси храњења за све инсекте. Међутим, друга два фактора грижења, флавоноиди морин и изокверцитрин (кверцетин-3-О-глукозид) (Слика 5.6.), мање су уобичајена у биљкама (морин се скоро искључиво јавља у дуду) и не представљају основне компоненте исхране. Следи да она, заједно са етарским уљем листа, представљају основу специфичног привлачења свилене бубе од старне дуда. Фагоатрактантна улога флавоноида није неуобичајена – познато је дејство 6-метоксилутеолин-7-О-рамнозида на *Agasicles* тврдокрилце, катехин-7-О-ксилозида на *Scolytus multistriatus* тврдокрилце, 2,3-дихидрокемферола, таксифолина и пиноцембрина на *Scolytus mediterraneus* итд. Већ мале измене у структури ових једињења доводе до губитка фагоатрактантног дејства. На пример, замена 3-О-везане глукозе у изокверцитрину рамнозил-или рутозил-остатком већ има супротан ефекат – активира рецепторе за репеленте, и инсект престаје да се храни.

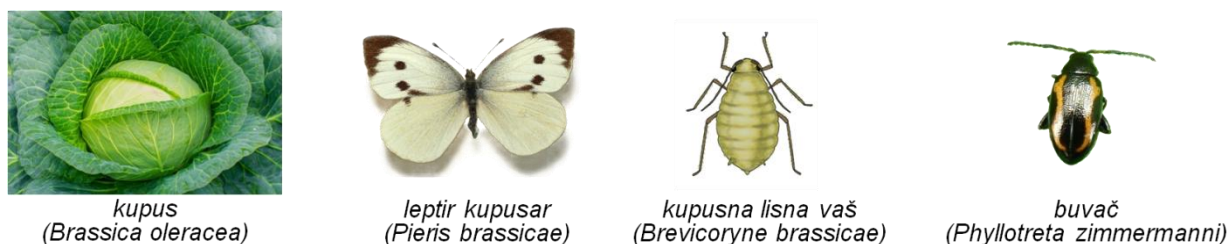
Последња фаза храњења је гутање, које је стимулисано уобичајеним супстанцама као што су неорганска једињења – силикати и фосфати – и компонента ћелијског зида – целулоза. Ова једињења представљају баластне

(несварљиве) материје и обезбеђују оптималну конзистенцију хране за процес варења.

Поставља се питање зашто свилена буба ограничава исхрану на овако мали број биљних врста? Овоме је свакако допринело то што су током векова, људи гајили свилене бубе и хранили их искључиво листовима дуда како би се производила свила високог квалитета. То је довело до високе специјализације у исхрани и нетолеранције према секундарним метаболитима других биљака. Познато је, на пример, да фурфурал из чемпреса *Taxodium distichum* већ у ниским концентрацијама (1 ppm) инхибира раст овог инсекта и доводи до смањења популације, што је уочено при покушају гајења свилених буба у објектима грађеним од чемпреса. Чини се да је овај ефекат бар делимично резултат антимикуробног деловања фурфурала, који нарушава цревну микробиоту свилене бубе, што потом омета процес варења и апсорпције хране.

Глукозинолат синигрин, који се налази у биљкама из фамилије **купусњача** (Brassicaceae), је један од добро познатих примера репелената који су постали атрактанти за неке адаптиране инсекте. Као што је раније помињено (4.1.1.), при оштећењу биљног ткива, глукозинолати долазе у контакт са ензимом мирозиназом и граде испарљиве изотиоцијанате, који имају оштар, иритирајући укус и мирис, због чега су одбојни за већину животиња, а на инсекте делују и токсично, што јасно указује на њихову одбрамбену функцију.

Међутим, неки олигофагни инсекти, укључујући лептира купусара (*Pieris brassicae*), купусну лисну ваш (*Brevicoryne brassicae*) и бувач (*Phyllotreta spp.*) (Слика 5.7.), адаптирали су се на присуство глукозинолата и за њих су ова једињења постала фагостимуланси. Експериментално је утврђено да ови инсекти конзумирају и храну коју иначе не једу, ако се у њу додају ова једињења. Такође, утврђено је и да радије умиру од глади него што прихватају храну без синигрина. Ово указује да синигрин није само фагостимулант за њих, већ им је постао неопходан за одређене физиолошке процесе. На пример, код лептира купусара синигрин делује као стимулант за полагање јаја – лептири су спремни да положије јаја чак и на филтер-папир ако је натопљен синегрином.



Слика 5.7. Олигофагни инсекти који се хране биљкама из фамилије *Brassicaceae*

Купусна ваш (*Brevicoryne brassicae*) најчешће напада купус, броколи, карфиол, кељ и репу. Поред тога што наноси велике штете овим биљкама хранећи се њима, такође преноси и биљне вирусе, због чега представља опасну штеточину за усеве и доводи до озбиљних економских губитака у пољопривреди.

Код неких инсеката механизам фагоатрактантног деловања је сложенији, у смислу да зависи од комбинације више различитих једињења у биљци. На пример, купусна лисна ваш (Слика 5.7.) као храну бира само зрело лишће купуса јер има оптималан садржај и синигрина и нутритената (младо лишће купуса избегава јер има превисоку концентрацију синигрина, иако је концентрација нутријената оптимална, а старо лишће у фази сушења избегава због ниског садржаја нутријената, иако је концентрација синигрина оптимална).

Сложени механизам фагоатракције уз помоћ више различитих једињења јавља се и код монофагног инсекта *Phyllotreta armoraciae* (horseradish flea beetle) из рода *Phyllotreta* која се храни само реном (*Armoracia rusticana*) (Слика 5.8.).

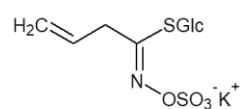
Храњење *Phyllotreta armoraciae* је контролисано синигрином, глукозинолатом који је атрактант за више врста инсеката, и флавоноидним гликозидима – кемферол-3-О-ксилозилгалактозидом (рустозидом) и кверцетин-3-О-ксилозилгалактозидом, који су фагоатрактанти само за *Phyllotreta armoraciae*. Дисахаридна јединица ових флавонолних гликозида, ксилогалактоза, карактеристична је за рен и не јавља се ни у једној другој *Brassicaceae* врсти (Слика 5.8.). Синергистичко фагостимулаторно дејство ова два гликозида и синегрина потврђено је експериментално.



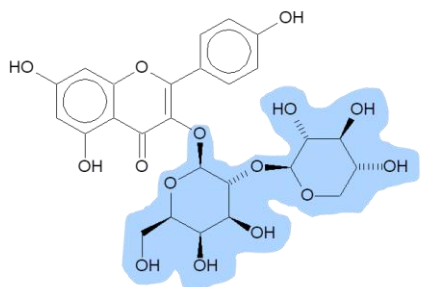
Phyllotreta armoraciae



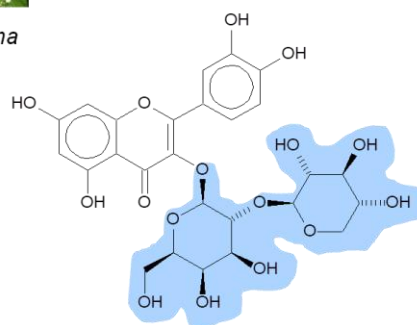
Armoracia rusticana



синигрин



кемферол-3-О-ксилозилгалактозид



кверцетин-3-О-ксилозилгалактозид

Слика 5.8. Фагоатрактанти за *Phyllotreta armoraciae* из рена

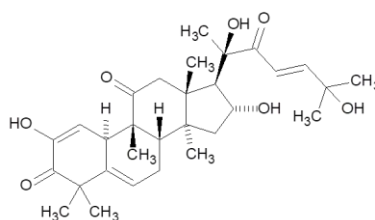
Да би се заштитиле од инсеката који су способни да се адаптирају на одређени репелент, неке врсте прибегавају синтези више различитих репелената. Тако на пример, биљка горка огњица (*Iberis amara*, Brassicaceae), поред глюкозинолата, синтетише и репелентна једињења из групе кукурбитацина (Слика 5.9.). Олигофагни инсект *Phyllotreta nemorum* (Слика 5.9.) адаптирана је на глюкозинолате и прихвата као храну рен (*Armoracia rusticana*) и репу (*Brassica rapa*), које их садрже, али избегава лишће горке огњице због присуства куркубитацина у овој биљци.



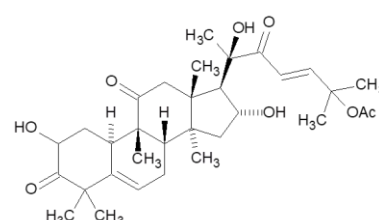
Phyllotreta nemorum



Iberis amara



куркубитацин (I)



куркубитацин Б

Слика 5.9. *Phyllotreta nemorum* се не храни биљком горка огњица због присуства куркубитацина као репелената

Кукурбитацини су токсична стероидна/тритерпенска једињења горког укуса, која су заступљена у фамилији Cucurbitaceae, али ретка у

фамилији Brassicaceae. Захваљујући присуству две врсте одбрамбених једињења, *I. amara* има предност над осталим врстама – инсекти адаптирани на остале Brassicaceae врсте, тј. на глукозинолате, биће одбијени присуством кукурбитацина, а инсекте адаптиране на Cucurbitaceae врсте, односно на кукурбитацине, одбијаће глукозинолати.

У неким другим Brassicaceae врстама (*Chieranthus* и *Erysimum* врстама), поред глукозинолата, пронађени су кардиотонични гликозиди, који их штите од штеточина адаптираних на глукозинолате, као што су *Phyllotreta undulata* и *P. tetrastigma*.

Примери адаптације инсеката на више различитих класа репелентних једињења су ретки. Такав је, на пример, лептир монарх (*Danaus plexippus*), који се храни биљкама из породица Asclepiadaceae (нпр. *Asclepias currasavica*) и Аросунасеае (нпр. *Senecio bicolor*) (Слика 5.10.), од којих прве садрже токсичне алкалоиде, а друге кардиотоничне гликозиде. Ове биљке пружају лептирима монарсима природну заштиту од предатора, јер захваљујући усвајању алкалоида и карденолида из ових биљака, лептири постају токсични за предаторе и самим тим непожељни као плен.



Danaus plexippus на биљци
Asclepias currasavica



Danaus plexippus на биљци
Senecio bicolor

Слика 5.10. Пример олигофагног инсекта (лептир монарх) и биљака којима се храни

Још један пример адаптације олигофагних инсеката на више различитих једињења, су поткорњаци (Scolytinae), који су специјализовани за дрвенасте биљке, најчешће четинаре, као што су борови (*Pinus spp.*) и смрче (*Picea spp.*). Они су еволутивно прилагођени токсичним супстанцама које четинари производе, попут терпенских једињења која се налазе у смоли дрвета, и чак користе мирис испарљивих терпена за проналажење ових биљака. Поткорњаци су озбиљна претња шумама јер нападом слабе

или уништавају стабла, правећи тунеле у кори и уносећи симбиотске гљивице које разграђују фенолна одбрамбена једињења, као што су танини и лигнини, омогућавајући им лакши продор у дрво и обезбеђивање хране.

У неким случајевима, иначе олигофагни инсекти могу постати монофагни, односно ограничити се на једну врсту, ако су остале врсте недоступне на одређеном станишту. Тако нпр. лептир ластин реп (*Papilio machaon*) се у Енглеској храни само кожом пукавицом (*Peucedanum palustre*, *Apiaceae*), док у континенталној Европи прихвата и друге врсте из породице *Apiaceae* (*Daucus carota*, *Angelica sylvestris*) које у Енглеској не расту (Слика 5.11.).



Papilio machaon



Peucedanum palustre



Daucus carota



Angelica sylvestris

Слика 5.11. Пример олигофагног инсекта *Papilio machaon* и биљаке којима се храни

У поређењу са олифагним инсектима, који се најчешће јављају, полифагни инсекти су знатно ређи. Они имају много шири избор хране, јер једу сваку доступну биљку. Такви су скакавци (*Acrididae spp.*), као што је египатски скакавац (*Anacridium aegyptium*) (Слика 5.12), који насељава Северну Африку и делове Блиског истока и храни се широким спектром биљака, укључујући траве, цвеће и пољопривредне усеве. Када је доступност хране смањена, ови скаквци се окупљају у велике ројеве, што је резултат адаптације који им омогућава да се организовано крећу у потрази за храном. У таквим ситуацијама, ројеви ефикасно нападају усеве, чинећи велике штете и остављајући за собом опустошене области.

У полифагне инсекте се убрајају и мрави из родова *Atta* и *Acromyrmex* (енгл. *leaf-cutter ants*) (Слика 5.12.), који секу и сакупљају лишће разних биљака како би га користили за гајење гљивица, којима се касније хране.

*Anacridium aegyptium**Atta cephalotes***Слика 5.12.** Примери полифагних инсеката

5.2. ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ИЗБОР ХРАНЕ КОД ХЕРБИВОРНИХ КИЧМЕЊАКА

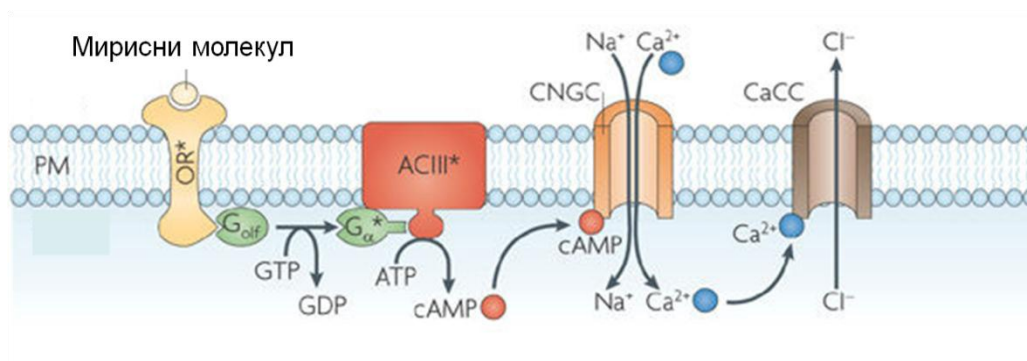
Као и код инсеката, и код кичмењака на избор хране утичу како нутритивне вредности, тако и хеморецепција, односно укус и мирис. Због тога, животиње често игноришу биљке које немају пријатан укус и избегавају биљке непријатног укуса.

Рецептори чула **мириса** (олфакторни рецептори) су код кичмењака најчешће смештени у слузници носа. Код човека се они налазе у малом региону горњег задњег дела носа, заштићени од директног контакта са околином низом набора. Око 4×10^7 рецептора густо је паковано на површини од 5–10 cm², на трепљама и филаментима везаним за неуроне и уроњеним у слузницу носа. Ови неурони директно су везани за одговарајући центар у мозгу и способни су за пренос велике количине информација (~100 Mb/s). Постоји велики број различитих рецепторских протеина (кодираних у око 500–750 гена), који су селективни за одређене мирисне молекуле, при чему један олфакторни неурон синтетише само један тип ових протеина.

Различити мирисни молекули могу да активирају структурно различите олфакторне рецепторе. То значи да један мирисни молекул може да активира више различитих рецептора, а један рецептор може да буде активиран са више различитих мирисних молекула. Ово омогућава разликовање више од 10 000 различитих мириса помоћу 10–200 рецептора.

Везивање мирисног молекула (одоранта) за рецептор мириса (OR) доводи до генерисања акционог потенцијала на неурону. Сами рецептори су G-протеин-зависни мембрански протеини слични родопсину. Приликом

везивања одоранта за рецепторски протеин, долази до конформационе промене (OR^*), активирања G-протеина ($G_{olf} \rightarrow G_{\alpha}^*$), који даље активира аденилат циклазу ($ACIII^*$), која конвертује ATP у cAMP. cAMP отвара јонске канале у мембрани неурона (CNGC), што омогућава улазак Na^+ и Ca^{2+} у ћелију. Повећана концентрација Ca^{2+} отвара калцијум-зависне канале за хлоридне јоне (CaCC) што омогућава излазак Cl^- јона из ћелије. Све ово доводи до деполаризације и формирања акционог потенцијала (Слика 5.13.).



Слика 5.13. Генерисање акционог потенцијала на неурону везивањем одоранта за рецептор мириса (OR)

Да би мирис заиста био регистрован, потребно је истовремено активирање већег броја рецептора. Међутим за сензацију различите мириса потребна је активација различитог броја рецептора, тачније чуло мириса није једнако осетљиво за све мирисе. На пример, за детекцију етил-меркаптана, на који је чуло мириса веома осетљиво, потребно је везивање свега 40 молекула овог једињења, док је за неке друге мирисе то далеко више. Животиње које имају осетљивије чуло мириса од човека поседују већу површину олфакторног епитела (нпр. 170 cm^2 код пса) и гућу инервацију (100 пута више рецептора по cm^2).

Други тип хеморецептора су рецептори за **укус** или густаторни рецептори, који су смештени у чулним квржицама на површини језика (и, у извесној мери, на непцу, епиглотису и у желуцу). Преко одговарајућих пора долазе у контакту са храном у устима која се раствора у пљувачци. Људски језик садржи у просеку 2000–8000 ових рецептора. Познато је пет типова рецептора, који региструју пет основних укуса, а који су по природи јонски канали (слано и кисело) или G-протеин-зависни протеини (слатко,

горко, умами). Као и у случају чула мириса, и густаторни рецептори су веома осетљиви – NaCl у концентрацијама изнад 0,05 % даје слан укус, а горк укус алкалоида бруцина региструје се већ при концентрацији изнад 0,0001 % (1 ppm). Способност регистровања веома ниских концентрација горких супстанци и одбојност према горком укусу у тесној су вези са функцијом ове компоненте чула укуса као заштитног механизма од тровања – многа токсична једињења (алкалоиди) и антинутријенти (танини) су горка. Кисео укус је подношљив само у извесној мери, јер је такође део механизма заштите од незреле или покварене хране (која често има кисео укус). Слан укус је привлачан јер стимулише унос соли и, уопште, хране. Он додатно слаби горчину, а појачава слаткоћу хране. Сладак укус највише стимулише унос хране, јер указује на присуство угљених хидрата који су животињама важни као главни извор енергије. Последњи тип укуса, умами, признат је тек од 1985. године, и изражен је код сира, соја соса (и уопште хране са далеког истока), парадајза, пасуља, ферментисане хране, моносодијум-глутамата, нуклеотида итд. Овај укус стимулише унос хране, јер указује на присуство протеина.

У новије време, утврђено је постојање још низа хеморецептора у устима – CD36 (региструје масне киселине), CaSR (региструје Ca^{2+}), TRPV1 и TRPA1 (ноцицептори, региструју високу температуру али и супстанце оштрог, љутог укуса), TRPM8 (региструје хладноћу, али и једињења "хладећег" укуса, као што је ментол). Даље, не треба заборавити да, поред укуса, у формирању сензорног осећаја у устима учествују и мирис, текстура (коју региструју механорецептори и мишићни неурони), температура (регистрована терморецепторима), па чак и звук.

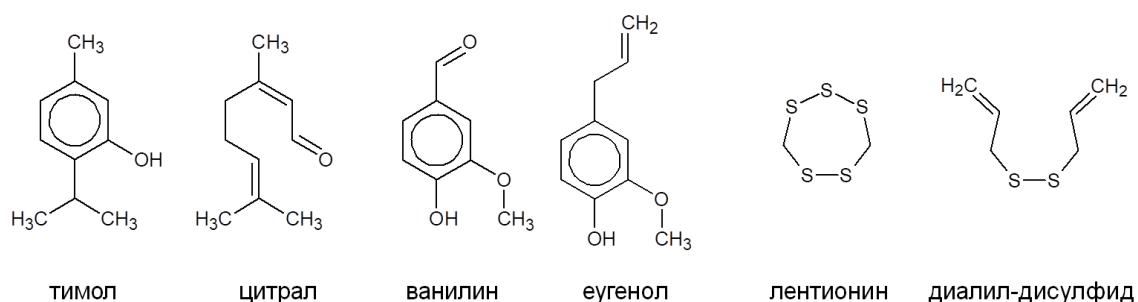
Из свега наведеног, закључује се да је избор хране од стране човека и других сисара веома сложен феномен, јер укључује низ органолептичких фактора – укус, мирис, боју и механичка својства. Мирис и укус хране заједно стварају арому, која представља комплексно искуство настало интеграцијом информација које долазе из чула укуса и мириса, а које мозак обрађује. Арома је, дакле, сложен и интегрисан сензорни феномен који има снажан утицај на избор хране код сисара, привлачећи их ка неким намирницама или их одвраћајући од других. Осетљивост и селективност

животиња према различитим укусима показује извесне варијације, како унутар врсте, тако и између различитих врста.

У последњих пола века постигнут је значајан напредак у испитивању мирисних компоненти хране, највише захваљујући развоју технике гасне хроматографије са масеном спектрометријом (GC-MS), која омогућава ефикасно развајање испарљивих једињења и њихову идентификацију. У Табели 5.3. дати су главни носиоци ароме уобичајеног воћа и поврћа, а на Слици 5.14. структуре неких од ових једињења.

Табела 5.3. Главне компоненте ароме воћа и поврћа

ВОЋЕ	Главне компоненте ароме
јабука (<i>Malus domestica</i> , Rosaceae)	етил-2-метилбутират
банана (<i>Musa</i> spp., Musaceae)	амил-ацетат, амил-пропаноат, еугенол
кокос (<i>Cocos nucifera</i> , Arecaceae)	α -ноналактон
грејпфрут (<i>Citrus</i> $\times$ <i>paradisi</i> , Rutaceae)	(+)-нуткатон, 1- <i>p</i> -ментен-8-тиол
лимон (<i>Citrus</i> $\times$ <i>limon</i> , Rutaceae)	цитрал
мандарина (<i>Citrus reticulata</i> , Rutaceae)	метил- <i>N</i> -метилантранилат, тимол
дуња (<i>Cydonia oblonga</i> , Rosaceae)	етил-2-метил-2-бутеноат
бресква (<i>Prunus persica</i> , Rosaceae)	ундекалактон
крушка (<i>Pyrus</i> spp., Rosaceae)	етил-2- <i>trans</i> -4- <i>cis</i> -декадиеноат
малина (<i>Rubus</i> spp., Rosaceae)	1-(<i>p</i> -хидроксифенил)-3-бутанон
ванила (<i>Vanilla</i> spp., Orchidaceae)	ванилин
ПОВРЋЕ	
паприка (<i>Capsicum annuum</i> , Solanaceae)	2-изобутил-3-метоксипразин
краставац (<i>Cucumis sativus</i> , Cucurbitaceae)	2,6-нонадиенал
бели лук (<i>Allium sativum</i> , Alliaceae)	диалил-дисулфид
црни лик (<i>Allium cepa</i> , Alliaceae)	дипропил-дисулфид, пропантиол
печурке	лентионин (1,2,3,5,6-пентатиепан)



Слика 5.14. Структуре одабраних мирисних компоненти воћа и поврћа

Носиоци мириса код биљне хране најчешће су једињења из групе терпена и терпеноида, фенилпропаноиди, алифатични алкохоли, алдехиди, естри, као и амини и сумпорна једињења. Међутим, није увек једноставно дефинисати компоненту одговорну за карактеристичан мирис одређене биљке, јер мирис не мора нужно потицати од доминантних компоненти. Тако код лимуна, лимонен чини 70 % смеше испарљивих компоненти, али арома заправо потиче од цитрала, чији је удео мањи од 5 %. Објашњење за ово лежи у томе да нека једињења испољавају сензацију мириса већ у траговима (нпр. 2,6-нонадиенал даје карактеристичну арому краставца иако је присутан у траговима, јер је за њега праг мириса свега 0,1 µg/kg), док је за друге потребна много већа концентрација. У неким случајевима (јабука, лимун, кокос) мирис биљке се може приписати једној компоненти, док у другима (касија) мирис потиче од синергије већег броја једињења. Такође, постоје и биљке (као што су јагода и рибизла) код којих није било могуће утврдити главне одоранте, јер је код сваке изоловано преко стотину испарљивих једињења.

Однос између ароме и хемијске структуре неког једињења је изузетно сложен и није увек могуће предвидети арому на основу самих структурних карактеристика молекула. Чак и најмање промене у структури, као што су замена функционалних група, оксидација или редукција, отварање прстена, или промена конфигурације, могу довести до значајних промена у сензорним својствима.

Ово представља велики изазов за научнике који се баве истраживањем ароме јер, иако постоје одређена правила која могу указивати на то како ће молекул мирисати (нпр. неке групе молекула имају тенденцију да дају слатке, а друге горке мирисе), често је немогуће предвидети тачан мирис без експерименталних анализа.

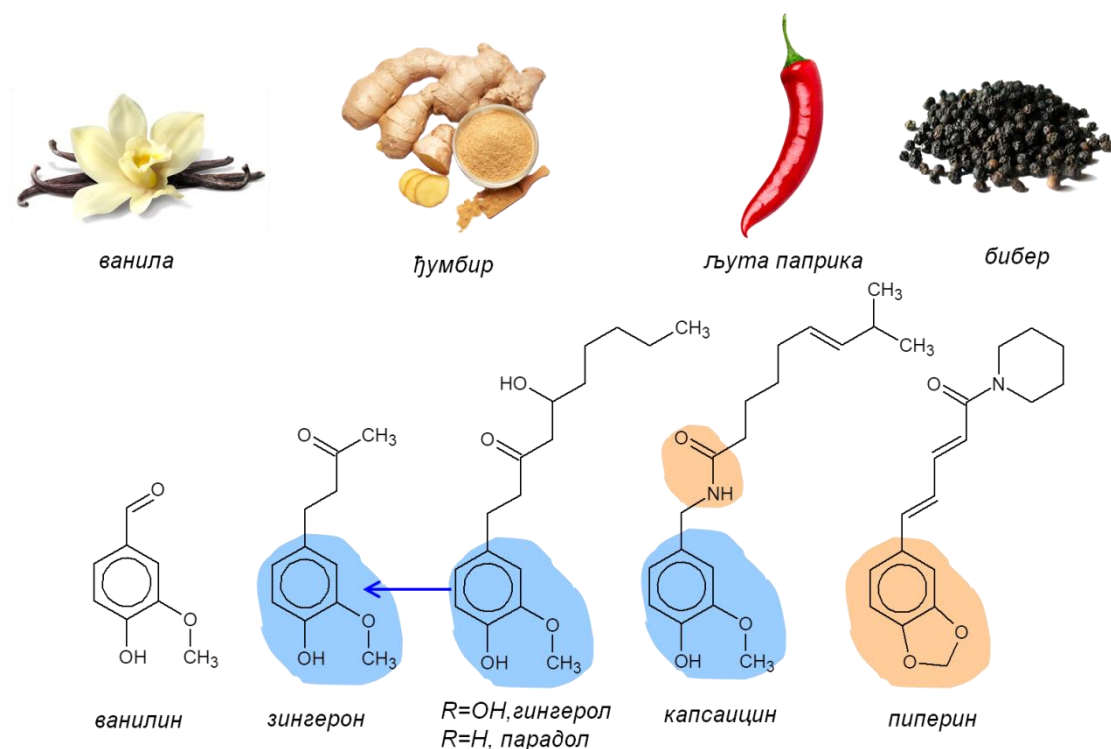
Пример су ноналактон и ундекалактон (Слика 5.15.), који имају сличне хомологне структуре, али веома различите мирисе – ноналактон даје мирис кокосу, а ундекалактона брескви. Ова разлика у мирисима долази због разлике у начину на који се ови молекули везују за рецепторе у носу.



Слика 5.15. Једињења сличних структура која имају потпуно различите мирисе

Такође, стереоизомери могу имати различите мирисе због различитог просторног распореда атома у молекулу. На пример, D-лимонен има мирис цитруса (лимуна или наранџе), док L-лимонен има мирис четинара (Слика 5.15.). Ова разлика у мирису указује да је распоред атома у простору од пресудног значаја за интеракцију са рецептором.

На примеру ванилина и његових аналога се такође може илустровати како модификације у структури могу довести до потпуно различитих сензација (Слика 5.16.).

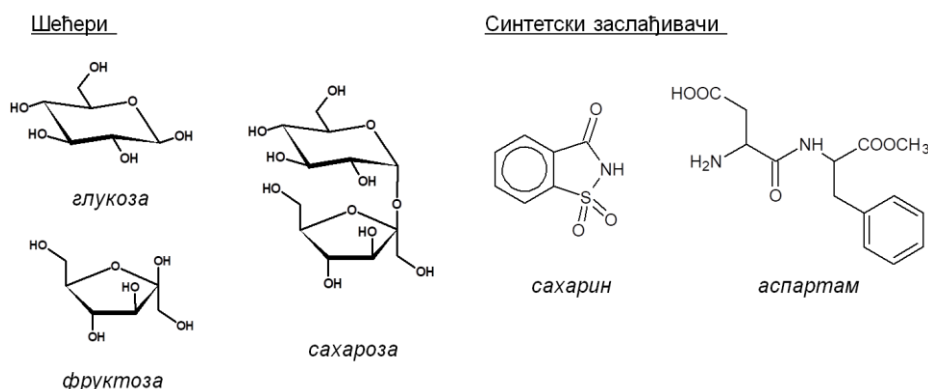


Слика 5.16. Структурни елементи различитих биомолекула који омогућавају везивање за ванилоидне рецепторе (TRPV1) и одговорни су за љут укус

Ванилин је мирисна компонента из махуна ваниле (Слика 5.16.), која има пријатан, слadak, ароматичан мирис. Међутим, када се кондензује са ацетоном и подвргне редукцији двоструке везе, настаје зингерон, љуто-

слаткасти принцип ђумбира. Зингерон се не налази у свежем ђумбиру, већ настаје током сушења или кувања корена ђумбира, услед трансформације љутих принципа – гингерола и парадола, природно присутних у биљци (Слика 5.16.). Слична једињења љутог укуса налазе се и у љутој паприци (капсаицин) и биберу (пиперин) (Слика 5.16.). Уочава се да сва ова једињења у структури имају 4-хидрокси-3-метоксифенил-групу, која омогућава везивање за ванилоидне рецепторе (TRPV1). Ови рецептори, који представљају катјонске канале, између осталог спадају у ноцицепторе и задужени су за детекцију потенцијално опасних високих температура – активирају се изнад 43 °C. Везивање наведених секундарних биомолекула доводи до активације TRPV1, што узрокује осећај врелине и бола (**љут укус**). Међутим, степен активације рецептора, а самим тим и интензитет љутине нису исти за сва ова једињења. Тако се ванилин, преко 4-хидрокси-3-метоксифенил групе, везује само површно за један део TRPV1, али због недостатка одређених структурних елемената (који су присутни код капсаицина), не може потпуно да активира рецептор, чиме се објашњава зашто не изазива јак осећај љутине. Насупрот томе, молекули као што су капсаицин, гингерол и пиперин имају структуре довољно компатибилне са TRPV1 рецептором, због чега га снажно активирају, што региструјемо као изражени осећај љутине. Пиперин је ипак мање љут од капсаицина, јер га његова 3,4-диметоксифенил група чини мање оптималним лигандом, због чега слабије активира TRPV1.

Сладак укус биљних ткива најчешће потиче од смеше три уобичајена угљена хидрата: глукозе, фруктозе и сахарозе, која су заступљена у различитим односима (Слика 5.17.). Сахароза је доминантна у већини биљака, и представља транспортни, а често и складишни шећер. Акумулира се у великим количинама у стабљици шећерне трске (*Saccharum spp.*, Poaceae) и шећерне репе (*Beta vulgaris ssp. esculenta convar. altissima*, Chenopodiaceae).



Слика 5.17. Структуре природних и синтетских заслађивача

Сахароза се најчешће користи као стандард слаткоће (односно додељује му се вредност 1,00) (Табела 5.4.). Већина природних моно- и олигосахарида показује слатак укус, али не сви – трисахарид рафиноза је, на пример, безукусан.

Синтетисан је и низ органских једињења (вештачких заслађивача), типично много слађих од сахарозе (Табела 5.4.), у циљу постизања жељеног укуса хране без повећања калоријске вредности: сахарин (E954), аспартам (E951) (Слика 5.17.), ацесулфам К (E950), цикламат (E952) итд. Међутим, за многа од ових једињења сумњало се да повећавају ризик од појаве канцера, те им је употреба ограничена или забрањена.

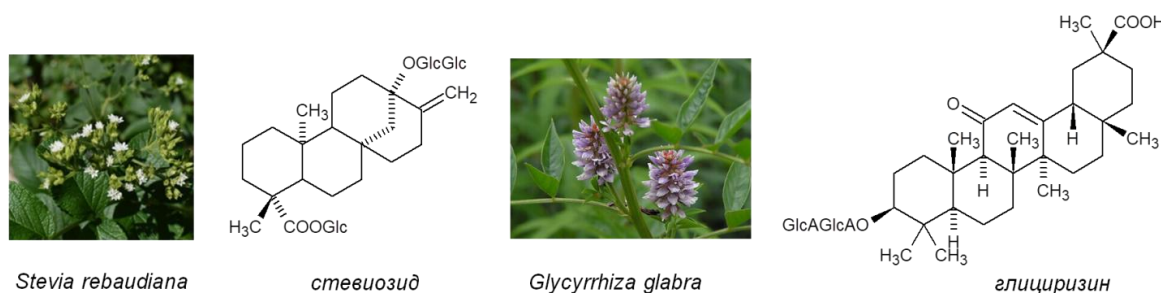
Табела 5.4. Слаткоћа природних и синтетских заслађивача

Једињење	слаткоћа
рафиноза	0
лактоза	0,16
малтоза	0,33–0,45
глюкоза	0,74–0,8
сахароза	1,00
фруктоза	1,17–1,75
На-цикламат (синт.)	30–50
глициризин	30–50
ацесулфам К (синт.)	180–200
аспартам (синт.)	180–250
стевиозил-гликозиди	250–300
На-сахарин (синт.)	300–675
сукралоза (синт.)	650
неохесперидин DC	1500–1800
тауматин	2000
лугдунам (синт.)	2,25–3·10 ⁵

Слаткоћа биљака не потиче искључиво од угљених хидрата – низ једињења, укључујући алдехиде, кетоне, аминокиселине, протеине, терпеноиде, као и неке неорганске соли (BeCl₂, Pb-ацетат), могу имати слатак укус. Пример су дитерпеноидни стевиол-гликозиди (стевиозиди, ребаудиозиди и дулкозиди) из америчке биљке стевије (*Stevia rebaudiana*,

Asteraceae) (Слика 5.18.). Лишће биљке је 30–45 пута слађе од сахарозе, а изоловани гликозиди – 250–300 пута. Ова једињења су термо- и рН-стабилна, нису токсична, немају калоријску вредност, не могу да ферментишу и не повећавају садржај глукозе у крви. Због тога данас имају велику примену у прехранбеној индустрији.

Други пример је тритерпенски сапонински гликозид глициризин из слатког корена (сладић, ликорица, *Glycyrrhiza glabra*, Fabaceae) (Слика 5.18.). Ово једињење је 30–50 пута слађе од сахарозе, мада изазива другачију сензацију од сахарозе, која се спорије јавља али и дуже задржава.

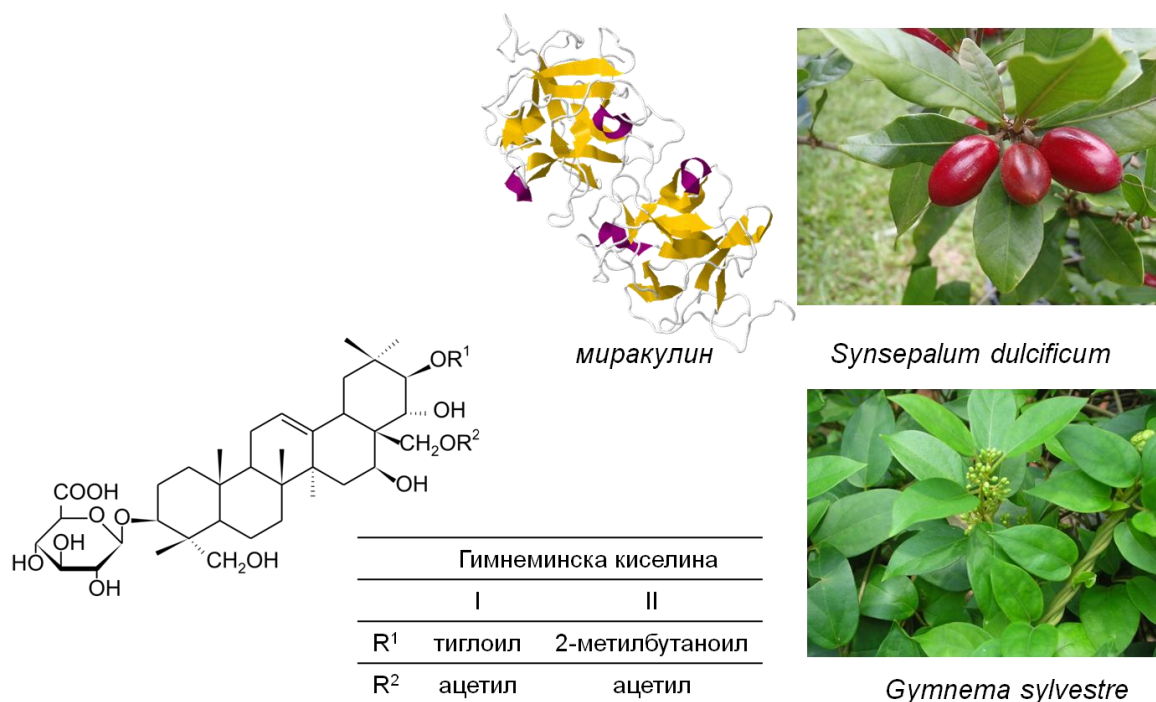


Слика 5.18. Терпенска једињења слатког укуса и њихови природни извори

Мале структурне промене у једињењу могу довести до промене укуса из слатког у **горко** и обрнуто. Познато је да су нека једињења (нпр. маноза) горко-слатка, и да су неки модификовани шећери (пентаацетил-глукоза) заправо горки. Све ово указује на сличност рецептора за слатко и горко. Они представљају производе експресије две фамилије гена рецептора укуса – TAS1R (слатко) и TAS2R (горко). У TAS2R генима могу да се јаве одређени полиморфизми (варијације) који утичу на осетљивост рецептора према горким супстанцама. Тако је на пример познато да међу људима постоје разлике у доживљају горчине прокеља и других биљака из фамилије Brassicaceae. Горчина у прокељу потиче од глюкозинолата, и појединци са специфичним варијантама TAS2R рецептора (нарочито TAS2R38) осећају ове супстанце као изразито горке. С друге стране, особе са другачијим верзијама истог рецептора можда уопште неће приметити горчину, јер њихови рецептори не препознају глюкозинолате као горке. Ови феномени илуструју да генетика има знатан утицај на доживљај укуса хране, а самим тим и на прехранбене навике појединца.

Различите врсте организама могу да имају значајно различиту перцепцију слаткоће одређених супстанци. На пример, док је за човека и мајмуне из Африке и Азије (подред Catarrhini) аспартам слadak, мајмуни из Централне и Јужне Америке (подред Plathyrrhini) не региструју овај укус. Такође, припадници фамилије Felidae (мачке) уопште не региструју слadak укус захваљујући мутацији на гену TAS1R2.

Познато је да се у биљкама могу наћи и **једињења која модификују укус** других супстанци. На пример, тетрамерни гликопротеин миракулин из тропске биљке *Synsepalum dulcificum* (Sapotaceae) (Слика 5.19.) сам по себи нема укус, али мења перцепцију киселог укуса у слатки. На пример, након уноса овог једињења, лимун постаје слadak као наранџа (ефекат траје око 1 сат). Претпоставља се да се миракулин реверзибилно везује за рецепторе за слатко и мења им структуру тако да их активирају и киселине. С друге стране, смеша пентацикличних тритерпена – гимнеминских киселина из *Gymnema sylvestre* (Asclepiadaceae) (Слика 5.19.) реверзибилно инхибира слadak (и донекле, горак) укус већине природних и вештачких заслађивача (док потенцира укус аспартама и тауматина). Елиминацијом слатког укуса биљка заправо одвраћа хербиворе, као што је лептир *Prodenia eridania*.



Слика 5.19. Једињења која сама немају укус али модификују укус других супстанци и њихови биолошки извори

Преференција **сисара-биљоједа** за одређену храну најбоље су испитане на **домаћим животињама**. У циљу испитивања одговора на основне укусе, животињама су давани водени раствори репрезентативних једињења – NaCl (слано), сахароза/глукоза (слатко), сирћетна/лимонска киселина (кисело), кинин (горко) и танини (аstringентно). Утврђено је да при ниским концентрацијама, животиње прихватају наведене растворене супстанце. Пораст концентрације постепено доводи до њиховог одбацивања, осим у случају слатког укуса. Притом је вода горког укуса – која опонаша биљне токсине – прва одбачена, при концентрацијама нижим за неколико редова величине од киселе и слане воде. Шећери недвосмислено представљају главне фагоатрактанте код испитиваних преживара. Притом, природа шећера може утицати на одговор – овце преферирају глукозу над сахарозом, док код телади важи обрнуто. Говеда (*Bos primigenius*, Bovidae) и овце (*Ovis aries*, Bovidae) позитивно реагују и на одређене органске киселине присутне у трави, укључујући лимонску и шикими киселину. С друге стране, танини у високим концентрацијама у значајној мери одбијају животиње. На пример, пораст садржаја ових једињења са 4,8 % на 12 % доводи до 70 %-тног смањења уноса махунарке леспедезе (*Lespedeza cuneata*, Fabaceae) од стране говеда. Исто тако, уочено је да говеда и јелени избегавају лишће папрати у августу и септембру, када садржај танина порасте изнад 5 %. Одбојност животиња према биљкама са високом концентрацијом танина може се објаснити њиховим адстрингентним укусом. Кумарини, који дају пријатан мирис свеже покошеном сену, горког су укуса и представљају репеленте за овце. Оне одбијају да једу детелину у којој је концентрација ових једињења прешла 0,5 %. Међутим, дејство им је краткотрајно јер брзо испаравају. Такође, овце и јелени избегавају биљке које садрже цијаногене гликозиде.

Чини се да етарска уља немају значајног утицаја на избор биљне хране. Иако је утврђено да неки монотерпенски алкохоли (линалол, α -терпинеол) инхибирају дигестивне процесе код преживара, још увек није јасно да ли преживари избегавају храну богату овим једињењима. Слично важи и за изофлавооне. Ова једињења, захваљујући свом фитоестрогеном деловању, могу штетно утицати на репродуктивну способност животиња

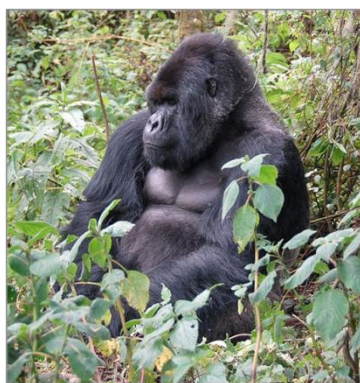
које се хране детелином *Trifolium subterraneum*. Међутим, није уочена преференција преживара према сортама детелине које не садрже изофлавононе. Очигледно, они немају довољно одбојан укус да би спречили храњење животиња. Међутим, и поред тога што немају фагорепелентно дејство, присуство ових једињења ипак представља вид заштите биљке, будући да смањује популацију биљоједа.

Судећи по бројним доказима, алкалоиди предстаљају значајне фагорепеленте, захваљујући својој токсичности и чињеници да, у већини случајева, имају горак укус. На пример, на ливадама које се користе за испашу домаћих животиња, алкалоидне биљке (нпр. *Senecio jacobaea*, Asteraceae, која садржи пиролизидинске алкалоиде) остају нетакнуте. Код врсте *Lupinus angustifolius* (Fabaceae), код које се јавља полиморфизам (разлике у једном гену узрокују присуство/одсуство лупинина и спартеина), животиње ће пасти само примерке без алкалоида, док ће избегавати оне са алкалоидима.

Код **дивљих животиња** се такође уочава значајна селективност у избору хране. Пример је планински горила (*Gorilla beringei beringei*, Hominidae) (Слика 5.20.), који живи у кишним шумама Конга, и храни се са само тридесетак врста скривеносеменица, иако има на располагању стотине врста. Оно што је додатно необично је да значајан део тих одабраних врста садржи фагорепелентна једињења која, бар за човека, имају непријатан, горак укус. Једна од ових биљака је чак и прекривена жарним длакама, слично коприви. Поставља се питање, зашто горила преферира ове врсте биљака од више стотина доступних? Одговор вероватно лежи у чињеници да ове биљке не садрже једну одређену класу одбрамбених секундарних биомолекула – кондензоване танине – на које горила није адаптиран, те би конзумирање других врста, богатих овим једињењима, значајно смањило сварљивост и нутритивну вредност хране или довело до токсичних ефеката.

Детаљнија корелација између избора хране и хемијског састава биљака којима се храни урађена је код мајмуна црно-бели гвереза (*Colobus guereza*, Cercopithecidae) (Слика 5.20.) из шума Уганде. На основу добијених резултата, утврђено је да садржај танина представља кључни фактор у

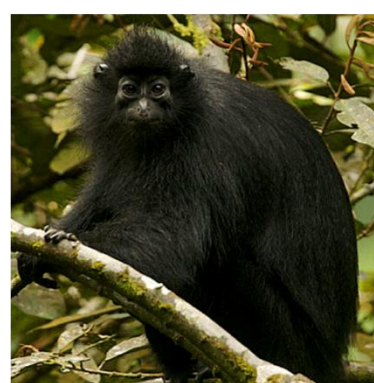
избору биљне хране овог мајмуна, и да ће биљке са преко 0,2 % танина вероватно бити одбачене. С друге стране, уочено је да садржај алкалоида има мали утицај на храњење, што указује на присуство механизма за детоксификацију алкалоида код ових мајмуна. Неки од резултата показују да се избегавање одређених биљака не може објаснити само преко утицаја танина, и указују на могуће присуство још неких, за сада неидентификованих репелената.



Gorilla beringei beringei
(Kongo)



Colobus guereza
(Uganda)



Colobus satanas
(Kamerun)

Слика 5.20. Врсте афричких мајмуна који у исхрани избегавају биљке богате танинима

Сродна врста мајмуна, црни колобус (*Colobus satanas*, Cercopithecidae) (Слика 5.20.), живи у Камеруну, у пределу са знатно сиромашнијим земљиштем. Локалне биљне врсте, сличне онима из Уганде, производе двоструко већу количину танина, како би се заштитиле од хербивора. Последица тога је да колобус избегава лишће скоро свих врста које расту у изобиљу, и приморан је да се храни много ређим врстама. Будући да оне нису довољне да задовоље његове нутритивне потребе, они се хране и врстама које иначе избегавају, мада само семенкама (у којима је садржај танина низак).

На избор биљне хране код **птица** утичу изглед, односно боја биљака (поседују нарочито осетљиво чуло вида), али такође и укус и мирис. Одређени природни производи (нарочито биљни феноли) делују репелентно на птице. Раније (у поглављу 4.1.2.) је поменут пример модре шоје (*Cyanocitta cristata bromia*), која брзо учи да избегава лептире монархе (*Danaus plexippus*) који садрже горке карденолиде са еметичким дејством. Добро је познат и случај сирка (*Sorghum* spp., Poaceae), где птице не једу

варијетете богате танинима, док варијетете специјално гајене у циљу снижавања садржаја ових једињења једу. С друге стране, код зимовки (*Pyrrhula* spp.) (Слика 5.21.), није пронађена корелација између избора хране и садржаја танина у биљци. Уместо тога, код ове врсте, селективност при избору цветних пупољака одређених варијетета крушке (*Pyrus* spp., Rosaceae) (Слика 5.21.) заснива се на разлици у концентрацији простих фенолних киселина (одбија варијетете са већим садржајем ових једињења), за које је експериментално потврђено да делују репелентно. Фагорепелентно дејство на птице имају и фенолне смоле – смеше различитих класа одбрамбених фенолних једињења, које се налазе у смолним жлездама и каналима код многих биљака. Може се претпоставити да ова једињења, захваљујући антимикуробном дејству, нарушавају цревну микробиоту птица и тиме ометају нормално варење. Код канадске гуске (*Branta canadensis*, Anatidae) (Слика 5.21.), јасно се уочава инверзна корелација између фреквенције конзумирања биљке и садржаја растворљивих фенола. Од биљака са најнижом концентрацијом фенола, гуска ће преферирати оне са највишим садржајем растворљивих шећера (нпр. *Zostera marina*, Zosteraceae) (Слика 5.21.).



зимовка



канадска гуска



Pyrus spp.



Zostera marina

Слика 5.21. Примери селективности при избору хране код птица

Занимљиво је поменути да птице немају ванилоидне рецепторе (TRPV1). Због тога не осећају љут укус чили паприке (*Capsicum* spp., Solanaceae) и нису иритиране њиме, те се слободно хране овом биљком и

разносе семе (које остаје неоштећено јер птице немају зубе). Сисари због љутог укуса избегавају ову биљку.

На избор биљне хране код **човека** утиче много више фактора него што је то случај код других животиња. Поред сензорних својстава и садржаја нутријената, велики значај имају и технике припреме хране, навике, као и културолошки, социјални, психолошки и здравствени аспекти. Рани људи су у својој исхрани користили широк спектар биљака, тј. били су полифагни, што се може видети из остатака хране у неолитским насељима. Исто важи и за данашња примитивна племена, као што су Бушмани из Африке или Веде из Шри Ланке. Тек са развојем цивилизације и урбанизацијом, човек је прешао са полифагије на олигофагију, и то првенствено захваљујући култивацији биљака, којом је обезбеђен висок принос и лакша доступност одређених врста биљака. Захваљујући техникама селекције, укрштања и, у новије време, генетског инжењеринга, човек је успео да самоникле врсте прилагоди својим потребама. С једне стране, постигнуто је смањење садржаја или потпуно уклањање штетних једињења. На пример, док дивљи кромпир (*Solanum tuberosum*, Solanaceae) често садржи горке и токсичне (потенцијално леталне) соланум алкалоиде, северноамерички Индијанци су селекцијом створили култиваре у којима су ова једињења скоро одсутна. Такође, селекцијом је добијен култивар бадема (*Prunus dulcis*, Rosaceae) – слатки бадем – који, за разлику од горког, не садржи цијаногени гликозид амигдалин. С друге стране, гајењем и селекцијом побољшана су жељена својства култивисаних биљака (већи садржај шећера и привлачнији изглед), као што су јабука, крушка и јагода. У неким случајевима, селекцијом су формирані варијетети са значајно другачијим органолептичким својствима од дивљег варијетета. Такав је случај дивљег купуса (*Brassica oleracea*, Brassicaceae), од кога су селекцијом настали култивари као што су кељ (var. *Acerphala*), кинески броколи (var. *Alboglabra*), карфиол (var. *Botrytis*), купус (var. *Capitata*), прокељ (var. *Gemmifera*), келераба (var. *Gongylodes*) и броколи (var. *Italica*).

Технике припреме хране које укључују термичку обраду биљних намирница значајно утичу на укус и конзистенцију биљног ткива, као и на прихватљивост одређених биљака у исхрани. На пример, кромпир, једна од

данас најважнијих намирница за људе, у сировом стању није сварљива због присуства резистентног скроба. Приликом кувања и печења скроб из кромпира се денатурише, грануле скроба упијају воду и омекшавају, и постају доступније за деловање дигестивних ензима. Даље, термичка обрада има кључну улогу у елиминацији токсина из многих биљака (соланина из кромпира, фитохемаглутинаина из пасуља, цијаногених гликозида линмарина и лотаустралина из касаве, инхибитора трипсина из соје), јер омогућава њихову разградњу или деактивацију. На тај начин, биљке које су у сировом стању токсичне, постају јестиве. На крају, при повишеној температури у биљкама се одиграва низ реакција (Мајарова реакција, ШтрекEROва деградација, карамелизација), којима се формира карактеристична арома хране. Такође, додавање млека у црни чај и кафу неутралише опор укус који потиче од танина.

Као и код других животиња, и за човека је слadak укус веома привлачан, док кисео, горак и аstringентан, ако су изражени, делују одбојно, мада у умереним количинама могу побољшавати укус хране. Док животиње готово увек избегавају горку храну, код човека, временом и навикавањем, овај укус може постати и пожељан (нпр. код горких флороглуцинола из пива или флавоноида из грејпфрута). Исто важи и за адstringентност, нпр. код црног вина или дуње (*Cydonia oblonga*, Rosaceae), киселост (род *Citrus*), као и за специфичан иритирајући укус и мирис глукозинолата (породица Brassicaceae) и алкил-сулфида (род *Allium*).

ИНТЕРАКЦИЈЕ ИЗМЕЂУ ВИШИХ БИЉАКА

06

Биљке које расту на истим стаништима ступају у различите међусобне интеракције како би обезбедиле свој опстанак. Ове интеракције могу бити такмичарске (компетитивне) и синергистичке. Код првих се биљке надмећу за простор и ресурсе попут воде, светлости и хранљивих материја, а код других се, кроз одређене механизме као што је симбиоза (нпр. са микоризним гљивама или азотофиксаторским бактеријама), олакшава раст и опстанак биљака које интерагују. Поред тога, познати су примери где само једна биљка има корист од друге (коменсализам). На пример, неке биљке користе сенку већих биљака како би се заштитиле од директног сунчевог зрачења. Даље, постоје биљке које паразитирају на другим биљкама, извлачећи из њих хранљиве материје. Овај однос је обично штетан за биљке домаћине, али може имати и посредне користи у еколошком смислу. На пример, паразитска биљка може индиректно активирати корисне микроорганизме у ризосфери домаћина, чиме се повећава приступачност хранљивих материја из земљишта за обе биљке.

6.1 КОМПЕТИЦИЈА ИЗМЕЂУ БИЉАКА НА ИСТОМ СТАНИШТУ

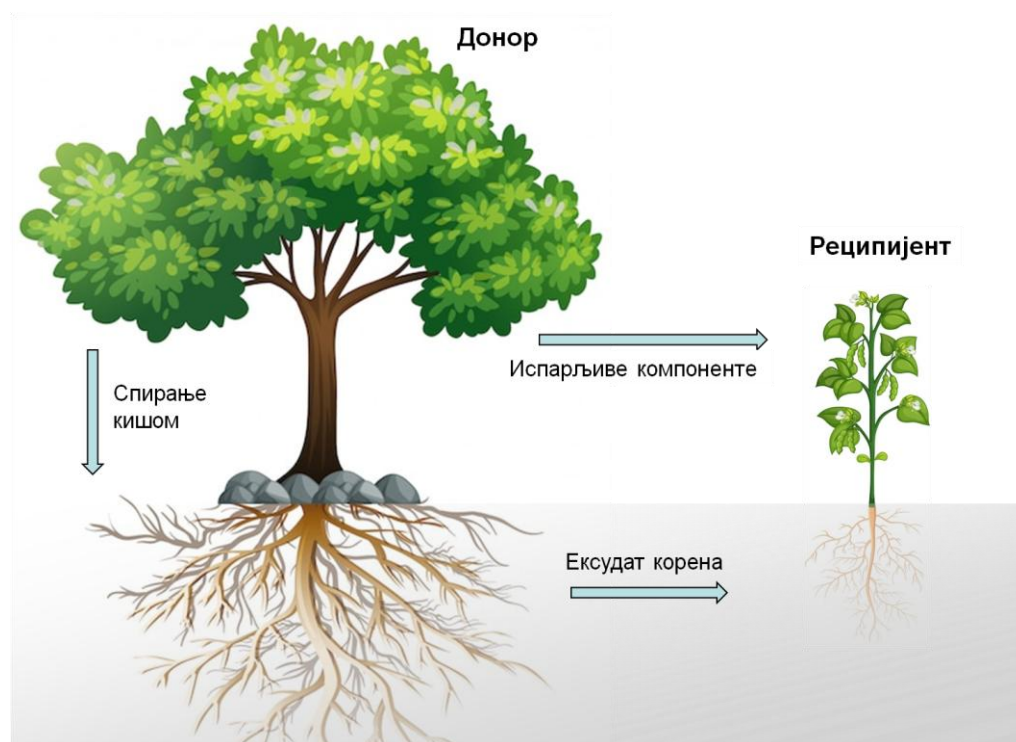
За разлику од животиња које могу да се крећу у потрази за храном и водом, биљке су непокретне и приморане да се ослањају искључиво на ресурсе из своје непосредне околине – воду, минералне материје из земљишта и светлост. Ови ресурси су често веома ограничени и недовољни за све припаднике заједнице. Због тога су биљке током еволуције развиле различите механизме којима успоравају раст околних биљака или их елиминишу, чиме смањују конкуренцију и осигуравају сопствени опстанак. Један од најефикаснијих механизма борбе против конкуренције код

биљака је **алелопатија**. Овај биолошки феномен подразумева да биљке продукују специфична хемијска једињења (алелохемикалије), која могу утицати на клијање, раст, развој и преживљавање биљака у њиховом окружењу.

Термин алелопатија увео је Ханс Молиш 1937. године, истражујући феномен утицаја једне биљке на другу (грчки *allēlōn* – узајамна и *pathē* – патња). Међутим, овај феномен први пут је примећен још у доба Старих Грка (~3000 година пре нове ере), када је грчки ботаничар Теофраст забележио да биљка леблебија уништава околне корове. Касније је примећено да чкаљ (tribus *Cynareae*, *Asteraceae*) негативно утиче на раст овса (*Avena sativa*, *Poaceae*), као и да врсте из рода *Euphorbia* инхибирају раст лана (*Linum usitatissimum*, *Linaceae*). Такође, уочено је да јединка пасуља (*Phaseolus vulgaris*, *Fabaceae*) утине ако се третира раствором ексудата (течност која се ослобађа из дела биљке у спољашњу средину) корена друге јединке исте врсте.

Концепт алелопатије првобитно је био дефинисан само као негативан, али касније је преформулисан тако да обухвата и позитивне (корисне) и негативне (инхибиторне или токсичне) ефекте које једна биљка може да има на друге биљке, отпуштајући алелохемикалије у своју околину (Слика 6.1.).

Алелохемијалије су обично секундарни биомолекули мале молекулске масе, релативно једноставне структуре и велике мобилности – већина их припада терпенима, и то моно- или сесквитерпенима, или фенолима, укључујући просте феноле, хидроксibenзоeве и хидроксициметне киселине, и хидрохиноне. Претпоставља се да су ова једињења првобитно синтетисана као део одбране биљке од хербивора, те да је део њих почео да излази у околину испаравањем или дифузијом кроз лишће, стабло или корење. Нека од њих су испољила штетан утицај на друге биљке, те је биљка-емитер наставила да их производи у циљу смањења конкуренције. Негативни алелопатски односи најчешће се јављају између биљака различитих врста. Међутим, ако фактори животне средине (влажност и доступност нутријената у земљишту) значајно ограничавају раст, они могу да се појаве и између припадника исте врсте (аутоксичност).



Слика 6.1. Алелопатски ефекти на суседну биљку

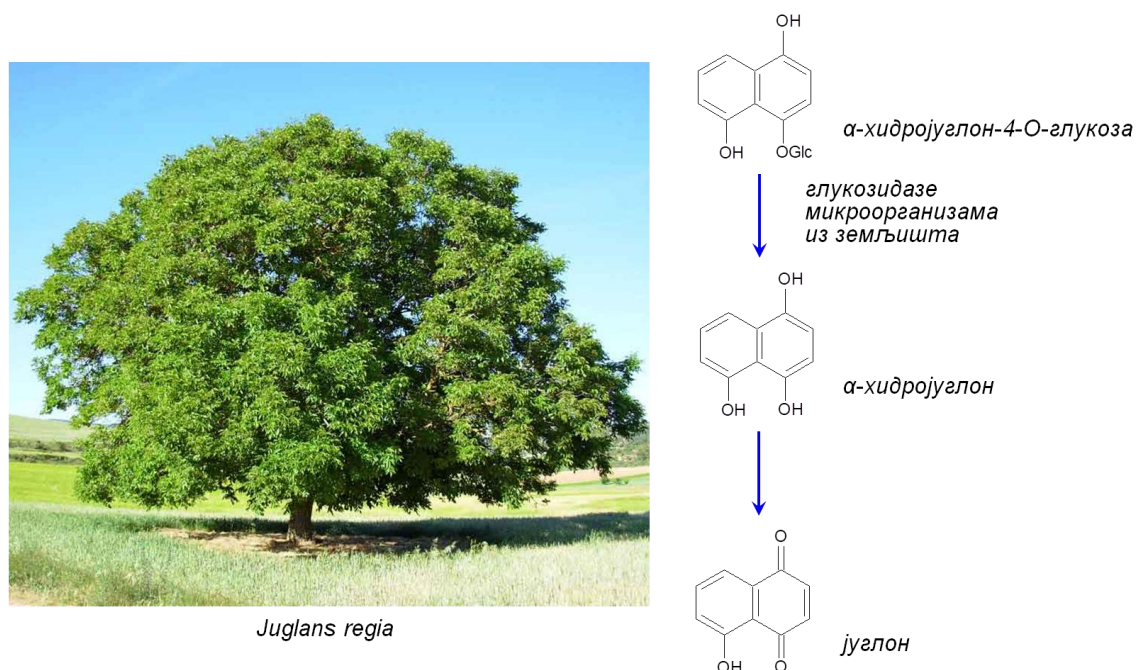
Алелопатски агенси најчешће се складиште у стаблу и лишћу, мада се у неким случајевима јављају и у корену. Ослобађају се у атмосферу уколико су испарљиви, директно у ризосферу (регион земљишта на који директно утичу излучевине корена) уколико се налазе у ексудату корена, или се спирају кишом и росом са биљке или њених одумрлих и отпалих делова (Слика 6.1.).

Појава да неке биљне врсте добро успевају једна поред друге, док друге не, одавно је позната међу пољопривредницима. Један од најпознатијих примера је орах (европски, *Juglans regia*, и северноамерички, *Juglans nigra*, Juglandaceae) за који је још Плиније Старији пре 2000 година забележио: „Сенка ораха је отров за све биљке које обухвата“. Уочено је да многе биљке (бор, кромпир, житарице, јабука, пасуљ, грашак, кукуруз, соја, лубеница, краставац) жуте, суше се и умиру ако су засађене у близини ораха (радијус дејства око 15–25 m). Само неколико врста су отпорне, као што је црни лук, шећерна репа, неке врсте пасуља, јерусалимска артичока, храст, брест.

Експериментално је потврђено, садњом парадајза и луцерке на различитим удаљеностима од ораха, да јединке унутар одређеног радијуса

умиру. Пошто се радијус деловања подударао са обимом простирања корена, претпостављено је да се одговорна једињења налазе у ексудату корена и шире у ризосферу. Каснија истраживања указала су на то да се токсини заправо налазе у надземним деловима биљке (листови, стабло, гранчице, плодови) и да доспевају у земљиште путем кише која их спира са саме биљке и њених отпалих делова (лишћа, плодова). Притом, токсини се у биљци налазе у везаној, неактивној форми и тек у земљишту прелазе у алелопатски активан облик. Везана форма је гликозид – безбојни α -хидројуглон-4-О- β -D-глукопиранозид који, када доспе у земљиште, хидролизује и даје α -хидројуглон, а овај се даље оксидује атмосферским кисеоником до жутог пигмента 5-хидрокси-1,4-нафтохинона (југлона) (Слика 6.2.). За хидролизу гликозида неопходне су глукозидазе из микроорганизама који живе у земљишту.

Југлон је токсичан за многе биљке, а спречава и клијање семена (нпр. при концентрацији од 20 ppm потпуно инхибира клијање семена зелене салате). Неки од механизма токсичног деловања југлона на биљке су инхибиција фотосинтезе и респирације, појачан оксидативни стрес, смањење садржаја хлорофила и нарушавање одређених анатомских структура. На којој површини земљишта ће ово једињење деловати зависи од више фактора, као што су површина изнад које се налази крошња дрвета и коју покрива опало лишће, способности воденог раствора југлона да дифундује кроз земљиште (што је релативно ограничено због слабе растворљивости у води), присуства воде која спира токсин и микроорганизама који га деградирају, као и рН земљишта и степена аерације који утичу на брзину трансформације. Ово указује да алелохемикалије нису увек ефикасне у сузбијању конкуренције, јер њихов ефекат може да зависи од мноштва спољашњих фактора.



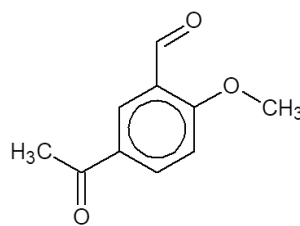
Слика 6.2. Трансформација неактивне алелохемикалије из ораха (*Juglans regia*) у активну форму

Очекивано је да у пустињским пределима постоји значајна конкуренција међу биљакама, с обзиром на веома ограничену количину доступне воде. Због тога, многе од ових биљака у борби за опстанак користе алелохемикалије које спречавају раст других врста.

Један од примера је јужноамеричка жбунаста биљка *Encelia farinosa* (Asteraceae) (Слика 6.3.). Око биљке се уочавају огољене зоне, у којима једногодишње биљке не ничу. Када жбун увене, на његовом месту несметано почињу да расту друге биљке. Алелопатски агенс ове биљке је 5-ацетил-2-метоксибензалдехид (Слика 6.3.), који се претежно налази у лишћу. Деловање овог једињења је потврђено експериментима у којима су младе биљке парадајза биле изложене уситњеном лишћу *Encelia*-е, при чему су утолико слабије напредовале уколико је количина лишћа била већа. Експерименти са чистим 5-ацетил-2-метоксибензалдехидом дали су исте резултате. Ово једињење се ослобађа из отпалог лишћа током његовог распадања и задржава се у земљишту све док га јаке кише не исперу. Токсин инхибира раст многих врста, а пронађен је и у низу других полужбунастих врста из фамилије Asteraceae.



Encelia farinosa



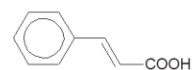
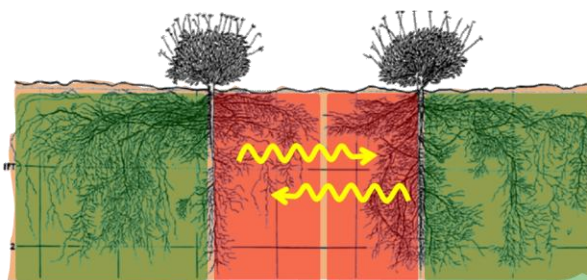
5-ацетил-2-метоксибензалдехид

Слика 6.3. Алелохемикалија из жбунасте јужноамеричке биљке *Encelia farinosa*

Интересантно је да токсини откривени у америчкој жбунастој биљци гајул (*Parthenium argentatum*, Asteraceae) инхибирају раст искључиво припадника своје врсте, док на друге врсте не делују. Ови ефекти су уочени при покушају плантажног гајења биљке као извора гуме (Слика 6.4.), када је примећено да јединке на ивицама парцеле увек боље успевају од оних у средини, независно од снабдевања водом и минералним ђубривима. Такође је уочено да корење суседних јединки расте одвојено, без преплитања, а семе не није испод већих примерака гајула, док успешно расте под крошњом других жбунова (што значи да проблем није у недовољној осветљености). Испитивања су показала да је токсин одговоран за ове појаве (*E*)-циметна киселина (Слика 6.4.), једноставно једињење из групе фенолних киселина, присутно у ексудату корена ове врсте, који је аутокотоксичан у концентрацијама од 1 ppm, док према другим врстама испољава слично дејство има тек при 100 пута већој концентрацији.



Parthenium argentatum

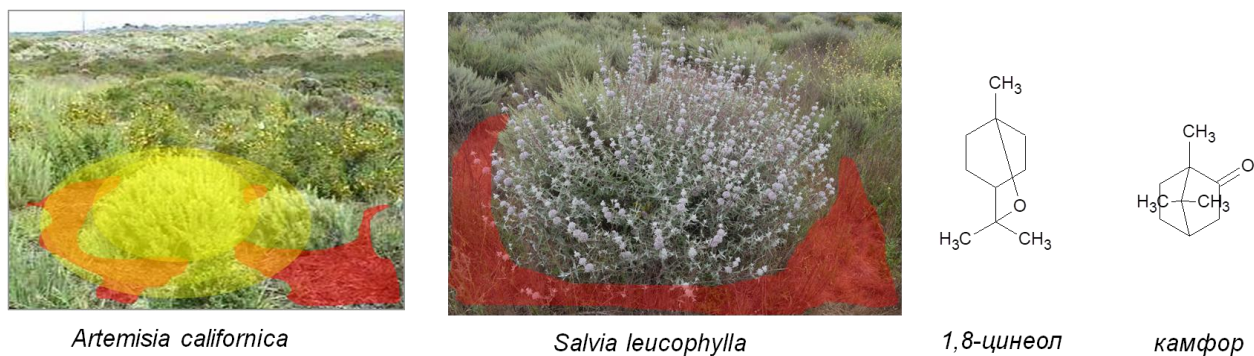


(*E*)-циметна киселина

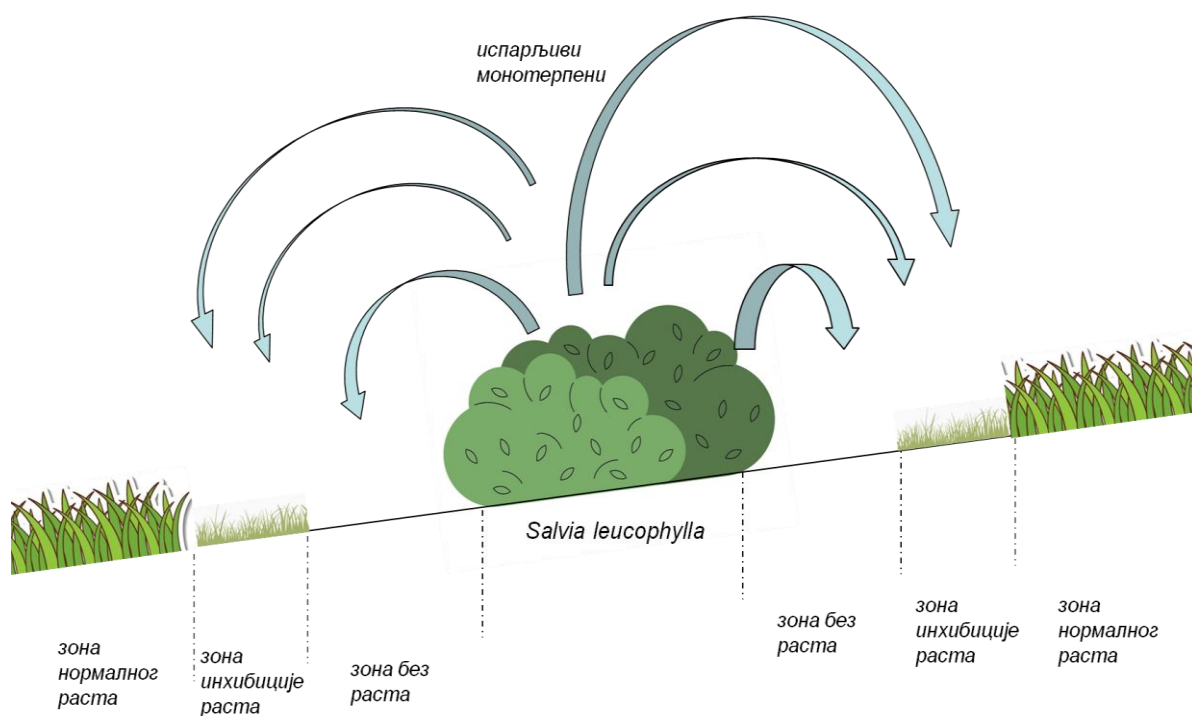
Слика 6.4. Аутокотоксичност алелохемикалије из биљке *Parthenium argentatum*

Још један добар пример алелопатије уочен је у жбунастим заједницама приобалног подручја јужне Калифорније, у коме влада релативно сува клима. Запажају се јасно раздвојене зоне жбуња и зељастих биљака. Око жбунова *Salvia leucophylla* (Lamiaceae) и *Artemisia californica*

(Asteraceae) (Слика 6.5.), било да расту појединачно или у групи, јављају се прстенови пречника 1–2 m у којима ништа не расте. Изван ових огољених зона следи подручје у којем понеке биљке могу да расту али у смањеној мери. Тек иза ове зоне, траве из родова *Avena*, *Bromus*, *Festuca* нормално расту (Слика 6.6.).



Слика 6.5. Испарљиве алолохемикалије из биљака *Artemisia californica* и *Salvia leucophylla*

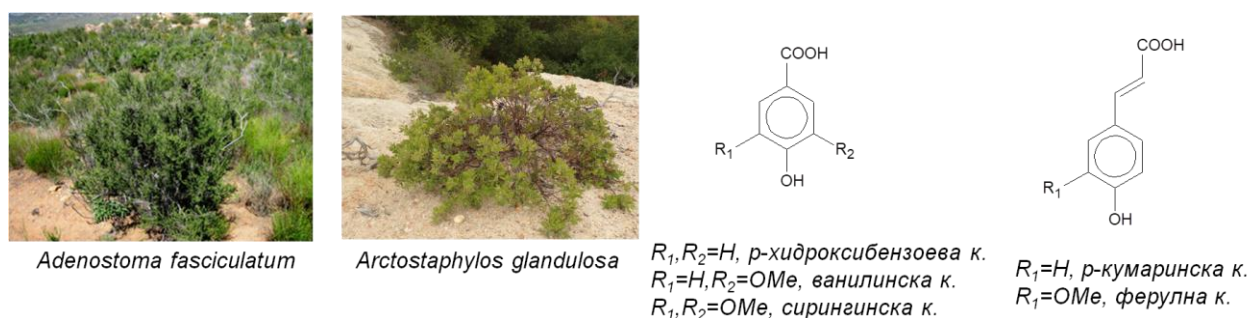


Слика 6.6. Транспорт испарљивих алолохемикалије из *Salvia leucophylla* путем ваздуха

Сматра се да узрок овој појави нису различити еколошки фактори (осунчаност, састав земљишта, влажност, нагиб, конкуренција између корења, предатори), већ алолопатски агенси – испарљиви монотерпени. Ова једињења присутна су у великим количинама у лишћу и континуирано испаравају у ваздух, градећи облак око биљке (Слика 6.6.). Део ових

једињења завршава у земљишту, адсорбује се на колоидним честицама, раствара се у води (оксидовани деривати монотерпена су растворљиви у води) и продире у семена других биљака, при чему инхибира њихово клијање. Најефикаснији су 1,8-цинеол (еукалиптол) и камфор (Слика 6.6.), које емитују обе биљне врсте. Зоне супресије раста су симетричне, чак и код биљака на падинама, због чега је закључено да је примарни начин транспорта ових једињења путем ваздуха. Међутим, примећено је да је инхибиторни ефекат ових жбунова на раст биљака у окружењу јачи у кишним периодима, што указује да и киша може да допринесе спирању ових једињења са биљака и њиховом бржем доспевању у земљиште.

Поред *Salvia leucophylla* и *Artemisia californica*, алелопатски ефекти уочени су код још неких биљака калифорнијских жбунастих заједница (енг. *chaparral*), укључујући *Adenostoma fasciculatum* (Rosaceae) и медвеђе грожђе (*Arctostaphylos glandulosa*, Ericaceae) (Слика 6.7.).



Слика 6.7. Водорастворне алелохемикалије из *Adenostoma fasciculatum* и *Arctostaphylos glandulosa*

Ове биљке расту на добро осунчаним падинама у регионима са топлим и сувим летима и благим, кишовитим зимама. У непосредној близини ових биљака друге биљке често уопште не расту. Утврђено је да су алелопатски агенси у овим биљкама водорастворни феноли из групе простих фенола, хидроксибензоевих киселина (НВА), хидроксициметних киселина (НСА) и кумарина (Слика 6.7. и Табела 6.1.). Учестала магла и киша током зиме растварају и спирају ова једињења са биљке и она доспевају у земљиште. Нека од ових једињења (нарочито НВА и НСА) детектована су у земљишту око биљке. Експериментално је утврђено да НВА и НСА негативно утичу на клијавост семена трава и других биљака.

Такође, доказано је да нека од ових једињења делују синергистички – на пример, смеша ванилинске и *p*-хидроксибензоеве киселине ефикасније инхибира клијање семена него појединачна једињења. Прости феноли и кумарини нису нађени у земљишту, па се претпоставља да подлежу иреверзибилној адсорпцији или микробиолошкој деградацији.

Током година са обилним падавинама, у иначе огољеним зонама може се уочити раст траве, што се приписује испирању токсина акумулираних у земљишту. Испирање је посебно ефикасно на пешчаним земљиштима, због чега жбуње које расте на таквом терену обично није окружено зонама инхибиције. Осим тога, током једне године, инхибиторни ефекти слабе са преласком из кишног у сушни период, јер одсуство падавина спречава доспевање алелохемикалија у земљиште.

Табела 6.1. Алелохемикалије у лишћу врста *Adenostoma fasciculatum* и *Arctostaphylos glandulosa* и њихово присуство у земљишту на којем ове биљке расту

Класа	Једињење	<i>Adenostoma fasciculatum</i>		<i>Arctostaphylos glandulosa</i>	
		лишће	земљиште	лишће	земљиште
прости феноли	хидрохинон	+	–	+	–
	флоридзин	+	–	–	–
кумарини	умбелиферон	+	–	–	–
хидроксибензоеве киселине	<i>p</i> -хидроксибензоева к.	+	+	+	+
	протокатехинска к.	–	–	+	–
	ванилинска к.	+	+	+	+
	сирингинска к.	+	+	–	+
	гална к.	–	–	+	–
хидроксициметне киселине	ферулна к.	+	+	+	+
	<i>p</i> -кумаринска к.	+	+	–	+
	о-кумаринска к.	–	–	–	+

к. – киселина; + присутан; – одсутан

Карактеристично за *chaparral* заједнице је да се у њима јављају редовни **пожари**, у просеку једном у 25 година. Након уништења надземних делова жбунова, током наредних неколико година на датом терену доминирају једногодишње зељасте биљке и траве. Међутим, жбуње постепено поново расте и почиње да испољава алелопатске ефекте, тако да се 6–7 година након пожара поново успоставља стабилна расподела биљака, са карактеристичним огољеним зонама земљишта. Овај постепени, природни процес смењивања врста на одређеном станишту током времена све док се не успостави стабилно стање (климакс заједница) зове се

еколошка сукцесија. Редовни циклуси пожара и еколошких сукцесија одржавају динамичну равнотежу у екосистему и спречавају дуготрајну доминацију једне групе врста.

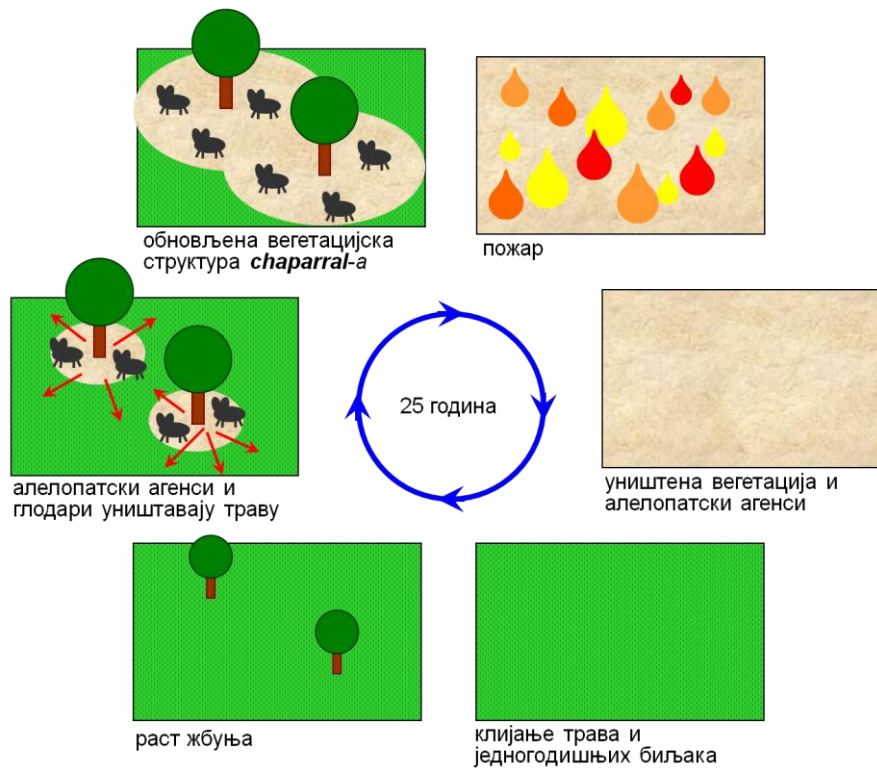
Претпостављено је да у току пожара долази до испаравања и/или сагоревања алелохемикалија из земљишта, чиме се уклањају препреке за раст једногодишњих биљака, све док жбуње не обнови продукцију ових једињења и акумулира их у количини довољној да поново инхибира раст других врста. Ова претпоставка је потврђена експериментално – земљиште које је сакупљено испод жбунова и које је имало инхибиторна својства на раст других биљака, загревано је на високим температурама, након чега је у њему дошло до клијање семена (при чему загревање земљишта без ових једињења не утиче на клијавост семена).

Међутим ово је само једно од тумачења. Према другим ауторима, услови раста у присуству развијених жбунова су неповољни због смањене количине ресурса, те друге биљке „намерно“ одлажу клијање. Штавише, садржај супстанци које у теорији делују као супресори клијања (алелохемикалија), може чак и да порасте након пожара. Након уништења жбуња ватром, конкуренција нестаје, што омогућава зељастим врстама да несметано почну да расту. Сигнали које биљка препознаје и који иницирају клијање семена, у зависности од врсте, могу бити механичка оштећења, висока температура (ватра) или присуство дима.

Претпостављало се и да огољене зоне око жбунова могу настати услед деловања хербиворних глодара (*Peromyscus californicus*, *Dipodomys agilis*), који се крију у жбуњу да би се заштитили од предатора (којоти, змије и соколови) и хране се семенкама из непосредне близине, чиме временом уништавају вегетацију око жбуња. Након пожара, заклон у виду жбунова нестаје, па се ситни биљоједи више не хране на отвореном простору, што омогућава трави да неометано расте.

Касније је доказано да су све ове теорије у извесној мери тачне, тј. да различити фактори могу да доприносе формирању огољених зона око жбунова, као и иницирању клијања семена зељастих биљака након пожара (Слика 6.8.). Клијање семена одређених врста трава (као што су *Hypochaeris glabra* и *Madia sativa*) инхибирано је присуством алелохемикалија из

жбунова, док на друге (нпр. *Bromus diandrus*) ова једињења немају утицај или чак делују стимулативно. Зато је код ових других врста присуство глодара кључни фактор за инхибицију клијања.



Слика 6.8. Циклус обнављања вегетације (еколошка сукцесија) након пожара у калифорнијским жбунастим заједницама (*chaparral*-има) и фактори (алелопатски агенси и глодари) који доприносе карактеристичној вегетацијској структури

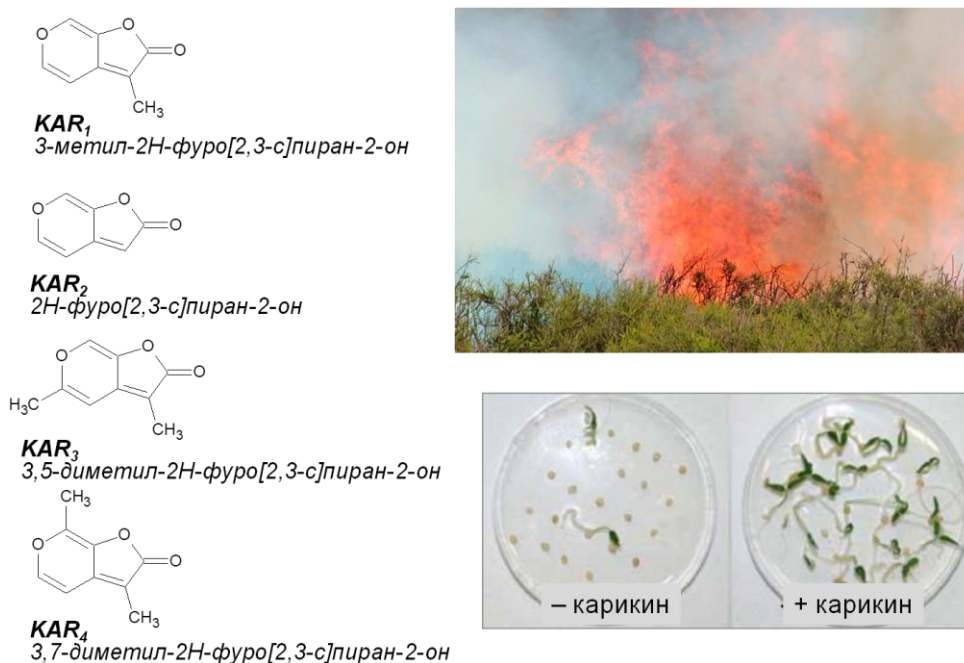
Код низа врста у калифорнијском *chaparral*-у, као и у екосистемима Јужне Африке, Аустралије и Медитерана, јасно се уочава да ватра представља сигнал за почетак клијања семена, путем дејства високе температуре или компоненти дима.

Експериментално је потврђено да хладни дим и водени екстракти дима могу индуковати клијање семена широког спектра врста из подручја склоних пожарима. Слични ефекти постигнути су и коришћењем екстраката загреваног биљног материјала, као и угљенисаног дрвета (али не и пепела, који садржи само минералне материје). Дејство је доказано за преко 1200 врста из 80 родова, како голосеменица, тако и скривеносеменица.

Неке од компоненти дима које су одговорне за ове ефекте су карикини (нунгар: *karrik*, дим) – једињења бутенолидне структуре идентификована 2004. године (Слика 6.9). Истраживања су показала да

ова једињења делују као снажни стимулатори клијања семена чак и при веома ниским концентрацијама (испод 1 nmol/L). Осетљивост различитих врста биљака према различитим карикинима варира – KAR2 је најпотентнији активатор врста рода *Arabidopsis* (Brassicaceae), док на друге делује значајно слабије; KAR4 не делује на *Arabidopsis*, док, на пример, стимулише клијање зелене салате (*Lactuca sativa*, Asteraceae).

Карикини се ослобађају у процесу сагоревања биљног материјала, при чему су прекурсори вероватно полисахариди – целулоза и хемицелулоза – уз могуће учешће аминокиселина и протеина (Мајарова реакција). За семе у стању мировања, они представљају сигнал да су конкурентске врсте уништене и да су ресурси – вода, нутријенти и светлост – постали доступни. Будући да су ова једињења релативно тешко испарљива и слабо растворљива у води, може се претпоставити да им је дејство ограничено на регион у коме се пожар догодио.



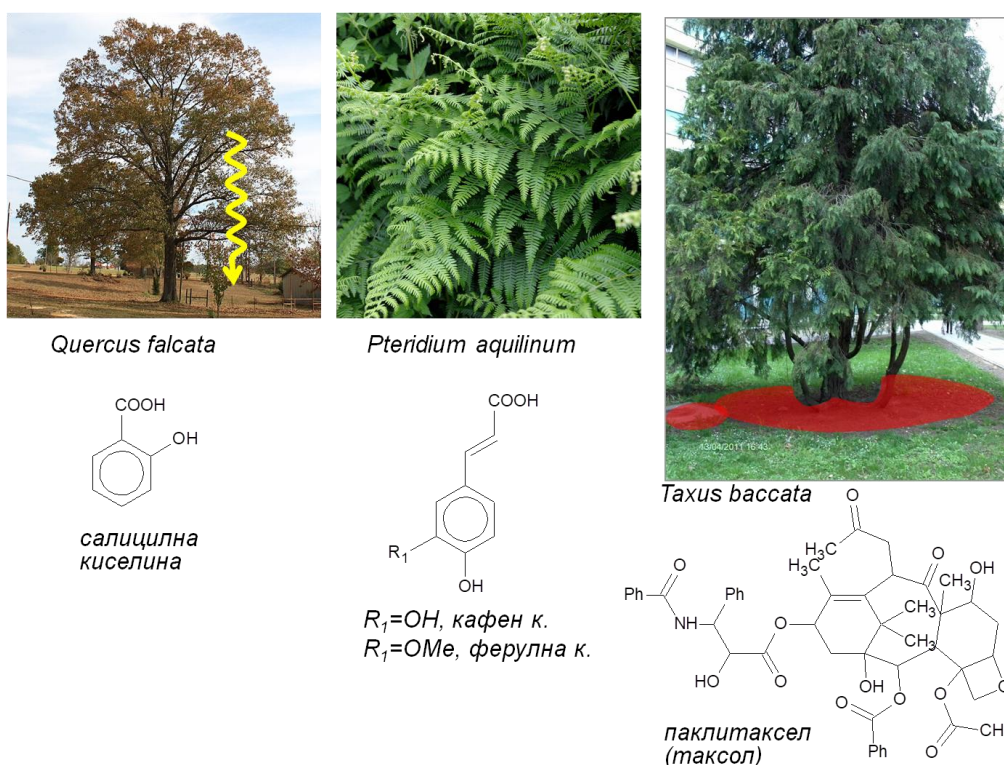
Слика 6.9. Карикини из дима као индучери клијања зељастих биљака

Водорастворни алелопатски агенси пронађени су и код многих других врста биљака у екосистемима са количином падавина довољном за континуирано спирање органских материја из лишћа у земљиште. На пример, код јужног црвеног храста (*Quercus falcata*, Fagaceae) уочена је инхибиција раста других биљака у зони на коју се слива кишница са

лишћа. Утврђено је да је аелопатски агенс храста салицилна киселина (Слика 6.10.).

Фенолни аелопатски агенси – фенолне киселине, нарочито кафена и ферулна киселина – нађени су и код нижих биљака, као што је орлова папрат (*Pteridium aquilinum*, *Hypolepidaceae*) (Слика 6.10.). Ова једињења доспевају у земљиште путем кише и задржавају се тамо чак и када се папрат уклони или након пожара. С обзиром да спречавају клијање и раст других врста, у колонијама папрати ретко се могу наћи друге биљке.

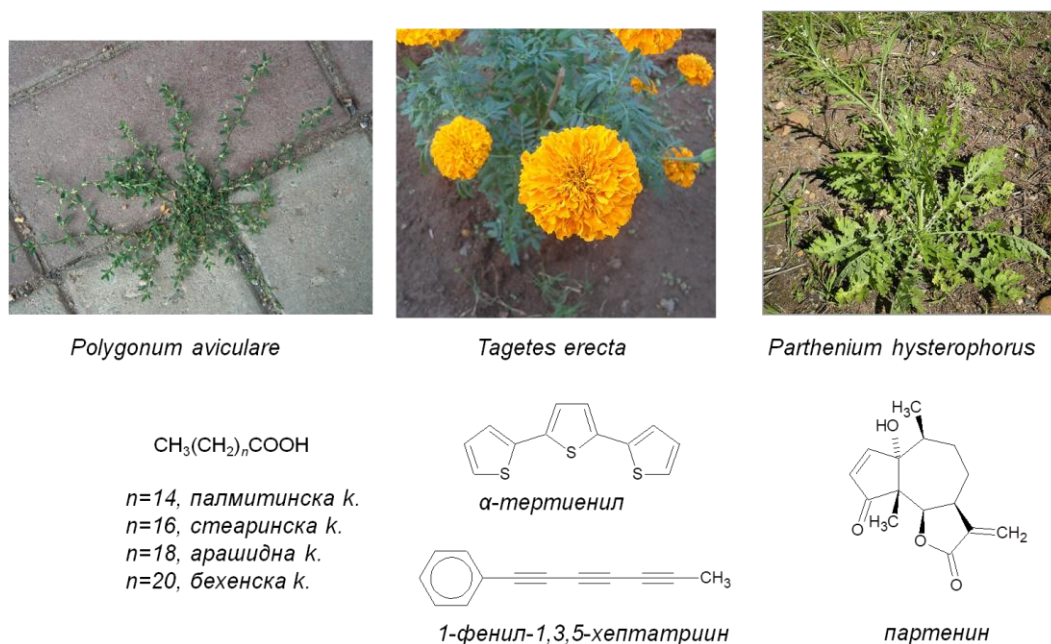
Четинарско дрвеће је такође познато по продукцији различитих аелопатских агенаса из класа терпена, фенола, органских киселина или алкалоида. Пример четинара који синтетише алкалоиде као токсичне агенсе је тиса (*Taxus baccata*, *Taxaceae*). За тису су карактеристични терпенски алкалоиди, као што су таксин А, таксин Б, паклитаксел (таксол) (Слика 6.10.). Испод сваког стабла уочава се потпуно огољено тло, без икаквог растиња у кругу јасно одређених граница које су пропорционалне пречнику крошње.



Слика 6.10. Аелопатски агенси код храста (*Quercus falcata*), орлове папрати (*Pteridium aquilinum*) и тисе (*Taxus baccata*)

Поред фенола и монотерпена, и низ других класа примарних и секундарних биомолекула може имати функцију алелохемикалија. Претпоставља се да су код троскота (*Polygonum aviculare*, Polygonaceae), једињења одговорна за супресију раста зубаче (*Cynodon dactylon*, Poaceae) више масне киселине. У земљишту око биљке идентификовано је 7 масних киселина, засићених и незасићених, са 14–22 атома угљеника (укључујући палмитинску, стеаринску, арашидну и бехенску) (Слика 6.11.). Потврђено је да ова једињења, заједно са фенолима који су такође присутни, могу инхибирати раст поменуте траве.

Код неколико врста породице Asteraceae, укључујући кадифицу (*Tagetes erecta*), идентификована су једињења сумпора (α-тертиенил) или полиацетилени (фенилхептатриин) (Слика 6.11.). Утврђено је да у присуству сунчеве светлости или UV зрака ова једињења показују токсичне ефекте на биљке у окружењу путем генерисања реактивних кисеоничних врста.



Слика 6.11. Примери алелопатских агенаса из класа: виших масних киселина, сумпорних једињења, полиацетилена и сесквитерпенских лактона, и њихови биолошки извори

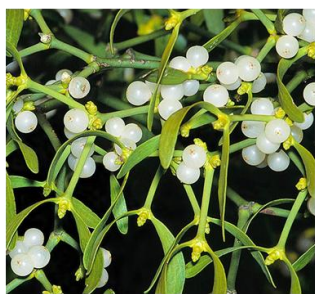
На крају, постоји могућност да и сесквитерпентски лактони, такође изоловани из представника породице *Asteraceae*, могу бити одговорни за инхибицију раста других биљака, као и за аутоксичне ефекте. Пример је партенин који је пронађен у значајним количинама у ексудату корена и

лугу листа биљке *Parthenium hysterophorus* (Слика 6.11.), и који инхибира раст великог броја врста, као и клијање семена и раст *Parthenium* биљака.

6.2 ИНТЕРАКЦИЈЕ ИЗМЕЂУ ПАРАЗИТСКИХ БИЉАКА И ЊИХОВИХ ДОМАЋИНА

Познато је преко 4500 врста виших биљака (преко 1 % скривеносеменица) из укупно 20 фамилија (од којих су најзначајније Scrophulariaceae, Orobanchaceae, Cuscutaceae, Viscaceae и Loranthaceae), које су у стању да формирају специјализоване органе – хаусторијуме – којима се везују за корен, стабло или грану друге биљке, продиру у њихова ткива и извлаче из њих хранљиве материје. У зависности од тога да ли поседују хлорофил, паразитске биљке се могу поделити на **хемипаразите** и **холопаразите**. Хемипаразити чине око 90 % од свих паразитских биљака, имају хлорофил и врше фотосинтезу, те само делимично зависе од својих домаћина, од којих узимају минерале и воду. Холопаразити немају хлорофил и у потпуности су зависни од домаћина, јер поред воде и минералних материја морају уносити и органску материју.

Међу најпознатијим примерима паразитских биљака су имела (*Viscum* spp., Santalaceae), вилина коса (*Cuscuta* spp., Convolvulaceae), воловод (*Orobanche* spp., Orobanchaceae), вештичји коров (*Striga* spp., Orobanchaceae) (Слика 6.12.).



Viscum album



Striga hermonthica



Orobanche hederaceae



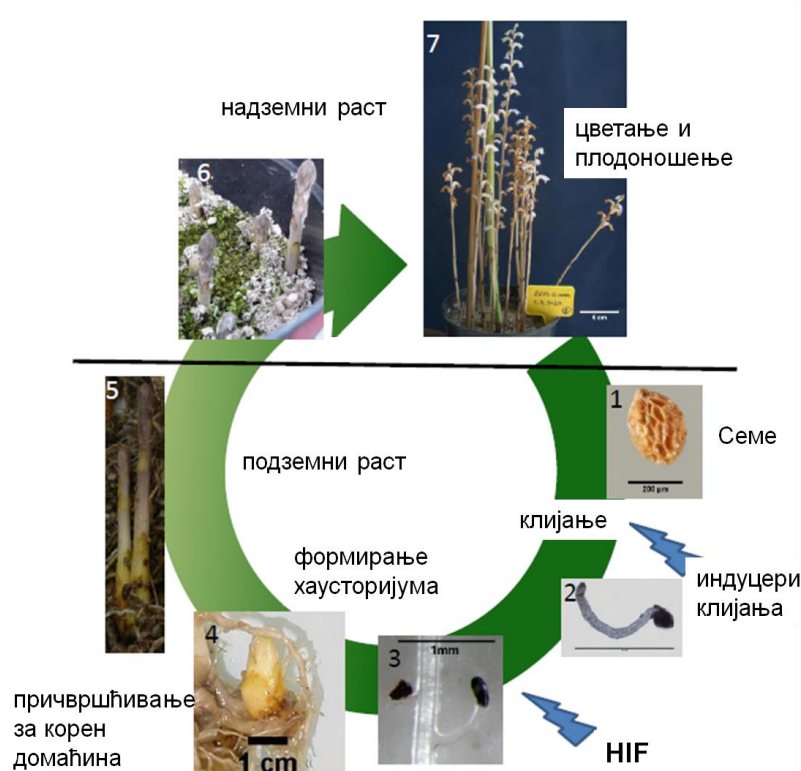
Cuscuta europaea

Слика 6.12. Примери паразитских биљака

Неке од ових биљака су веома штетне коровске врсте јер паразитирају на пољопривредним културама. Ту спадају *Orobanche crenata*, која паразитира на пасуљу (*Vicia faba*, Fabaceae), шаргарепи (*Daucus carota*,

Apiaceae) и целеру (*Apium graveolens*, Apiaceae), затим *Striga hermonthica* и *S. asiatica*, које паразитирају на сирку (*Sorghum* spp., Poaceae) и кукурузу (*Zea mays*, Poaceae). Стога, не изненађује да је у последњих неколико деценија, у циљу развоја нових хербицида, повећан интерес за разумевање биолошких и биохемијских основа интеракција између ових врста и њихових домаћина.

У животном циклусу већине паразитских биљака могу се разликовати две добро диференциране фазе: независна и паразитска. Прва фаза обухвата расејавање, латентну фазу, кондиционирање семена и клијање, и не захтева присуство домаћина за преживљавање. Другу фазу чини формирање хаусторијума, продирање у домаћина, повезивање на његов васкуларни систем, развој и цветање (Слика 6.13.). Два корака критична за преживљавање биљке су клијање и формирање хаусторијума, и они морају бити иницирани од стране домаћина.



Слика 6.13. Животни циклус паразитске биљке: 1) семе упија ексудат корена домаћина; 2) индуцери клијања покрећу герминацију; 3 и 4) хаусторијум-индукујући фактори (HIF) покрећу формирање хаусторијума и причвршћивање за корен домаћина; 5 и 6) раст паразитске биљке; 7) цветање и плодоношење паразитске биљке

Могућност паразитирања на одређеном домаћину биохемијски је условљена и представља један од боље потврђених случајева алелопатије

(интеракције између биљака посредством хемијских супстанци). Паразитска биљка захтева два хемијска сигнала од стране домаћина – први сигнал стимулише клијање семена које је довољно близу домаћина, док други стимулише развој хаусторијума (повезивање), до кога мора доћи у року од неколико дана од клијања. У овим интеракцијама код неких биљака посредују уобичајени секундарни биомолекули ексудата корена, као што су хинони и сесквитерпени.

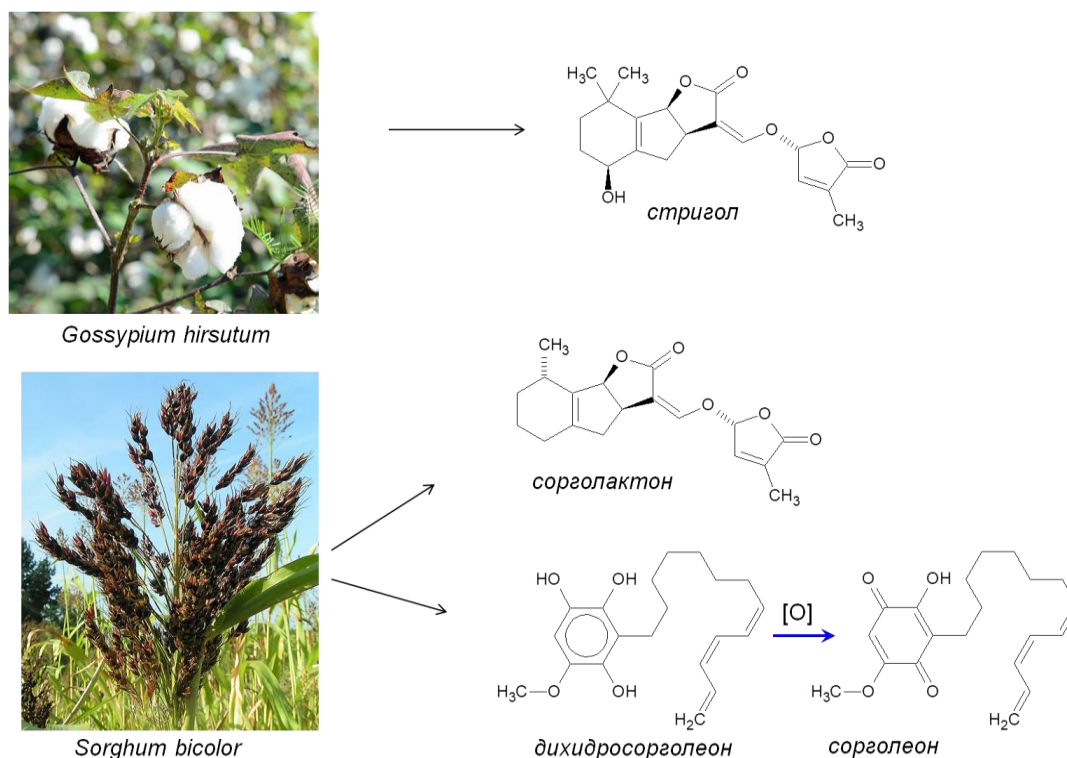
Однос паразита и домаћина може бити веома специфичан – облигатни паразити користе само једну или неколико врста као домаћине. Специфичност зависи од способности паразита да препозна биљку-домаћина, савлада њене одбрамбене механизме, као и од задовољавајуће количине и квалитета нутријената у домаћину неопходних за раст и развој паразита.

6.2.1. Индуцери клијања семена паразитских биљака

Први идентификовани стимуланс клијања семена *Striga* врста је сесквитерпен стригол, који је нађен у памуку (*Gossypium hirsutum*, Malvaceae) (Слика 6.14.). Памук је лажни домаћин *Striga* паразита јер стимулише герминацију семена већ при веома ниским концентрацијама (реда величине pmol/L) али не подржава њихов даљи развој. Због тога ово једињење има потенцијал примене у борби против паразитских коровских биљака – уколико се аплицира на земљиште пре сејања пољопривредне културе, коровске биљке ће проклијати и угинути у недостатку погодног домаћина.

Striga врсте нападају углавном монокотиледоне биљке, као што су кукуруз, сирак, просо, планински пиринач и шећерна трска, али и крављи грашак, кикирики, слатки кромпир и дуван. У овим биљкама су као индуцери клијања семена *Striga* паразита пронађени стриголактони, мали број једињења изопреноидног порекла (изведених из каротеноида, мада подсећају на сесквитерпене) са лактон-енол-γ-лактонском групом. Стриголактони неселективно стимулишу герминацију *Striga* и *Orobanche* паразита. Представник ове групе једињења, пронађен у сирку (*Sorghum bicolor*, Poaceae) је соргалактон (Слика 6.14.).

Неки аутори наводе да је и фенолно једињење 5-метокси-3-(10,13,16-хептадека-триенил)-1,2,4-бензентриол (дихидросорголеон), изоловано из сирка, такође природни индукер клијања семена *Striga* врста. Ово једињење је хидрохинон који се излучује у земљиште из корена сирка и током времена, удаљавајући се од корена, оксидује до неактивног хинона сорголеона (Слика 6.14.). Захваљујући томе, проклијаће само семе које је довољно близу домаћина па може да детектује хидрохинон пре његове оксидације. Иначе, сорголеон је и токсичан за суседне биљке (има функцију алелопатског агенса), те омогућава контролу конкуренције. Сладиштењем у неактивној форми (у облику хидрохинона) избегавају се његови аутокотоксични ефекти.

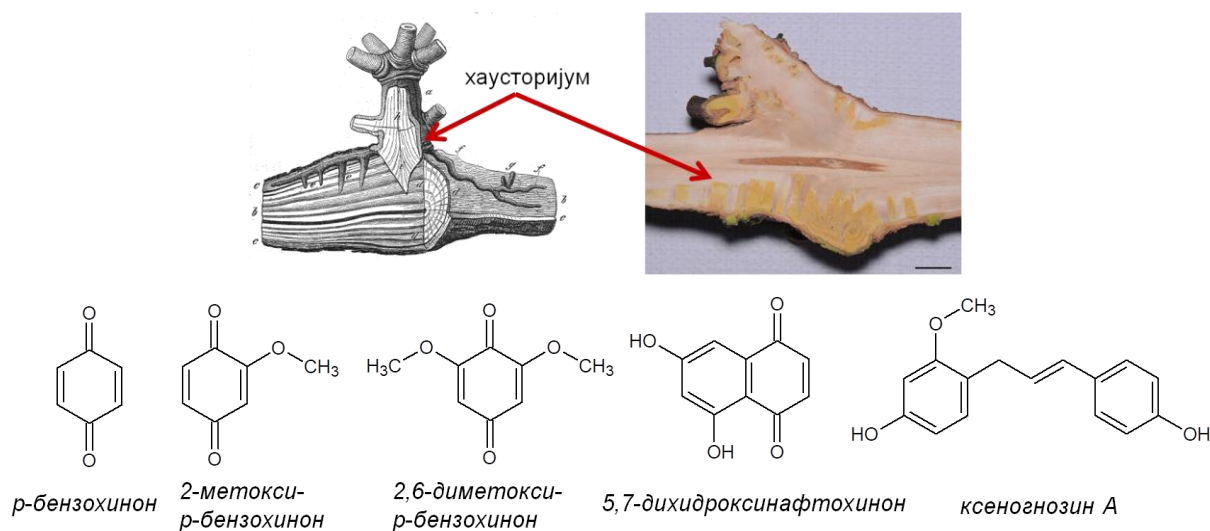


Слика 6.14. Примери индукера клијања семена *Striga* паразита

6.2.2. Индуцери формирања хаусторијума

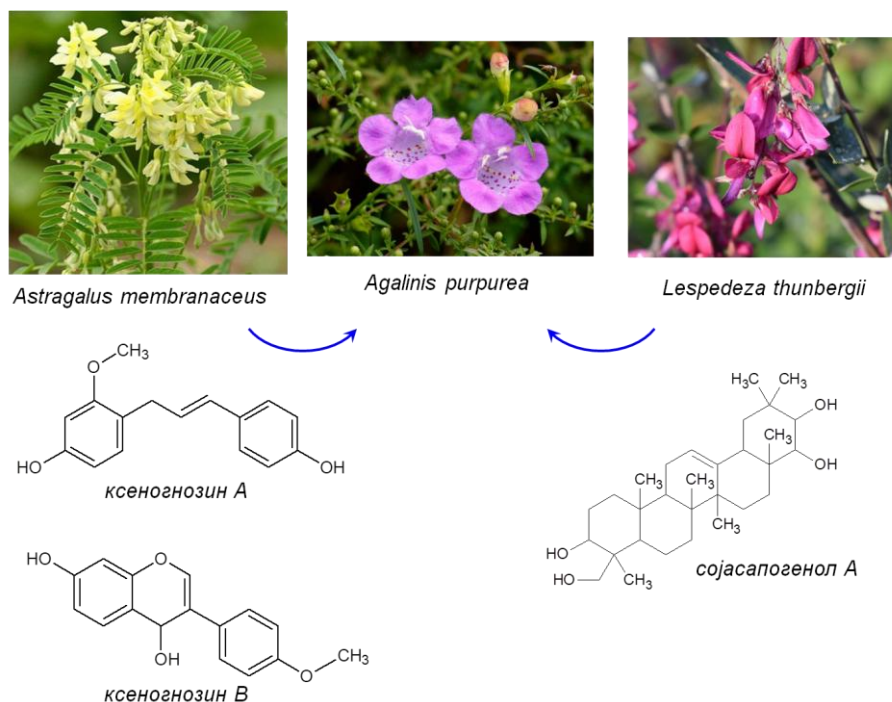
Веза паразитске биљке са васкуларним системом домаћина успоставља се преко хаусторијума (Слика 6.15.). Док тачан механизам формирања овог органа није утврђен, идентификован је низ једињења фенолне структуре која га могу индуковати (чак и у одсуству домаћина), укључујући хиноне (*p*-бензохинон, 2-метокси-*p*-бензохинон, 2,6-диметокси-*p*-бензохинон (DMBQ), 5,7-дихидроксинафтохинон), стилбене (ксеногнозин

А), флавоноиде и изофлавоноиде (ксеногнозин Б, пеонидин) (Слика 6.15.). На пример, код поменутих *Striga* врста, хаусторијум-индукујући фактор (HIF) је DMBQ, једињење које је широко распрострањено у биљном свету. Налази се у ћелијском зиду биљака и претпоставља се да има заштитну улогу јер, захваљујући лакој редукцији/оксидацији, генерише реактивне облике кисеоника.



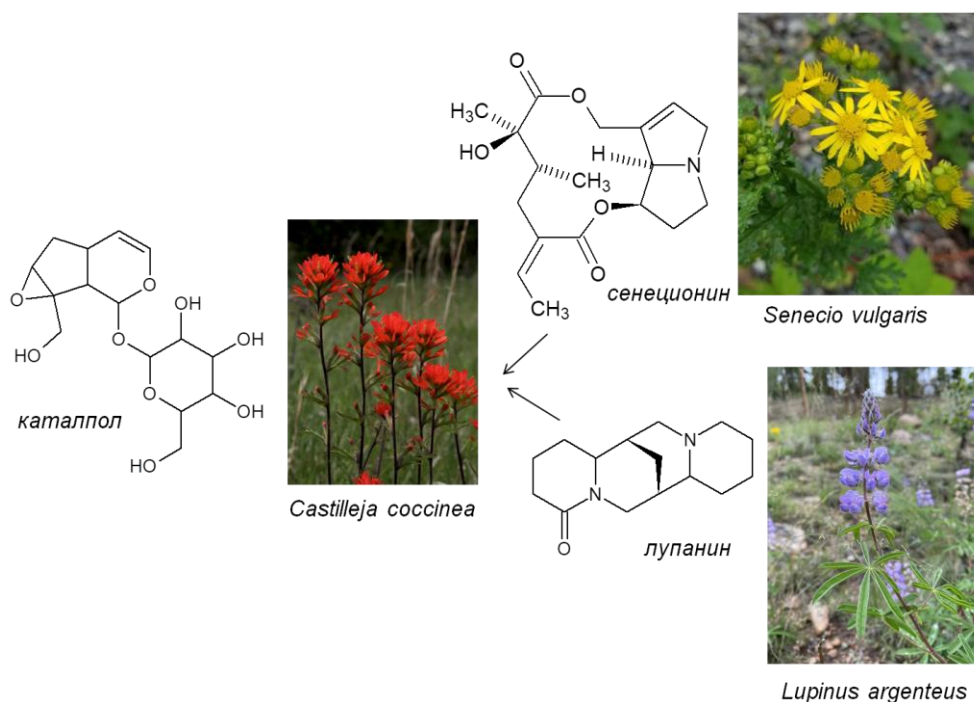
Слика 6.15. Изглед хаусторијума и структуре индукера формирања хаусторијума

У случају биљака рода *Astragalus* (Fabaceae), које се користе за производњу трагакант гуме, агенси који индукују формирање хаусторијума код паразитске биљке *Agalinis purpurea* (Orobanchaceae) су дихидростилбен ксеногнозин А и сродни изофлавоноид ксеногнозин Б (Слика 6.16.). Код другог домаћина овог паразита, леспедезе (*Lespedeza* spp., Fabaceae), стимуланс је једињење тритерпенске структуре – сојасапогенол А (Слика 6.16.). Из овога следи да структурно веома различита једињења могу индуковати исти одговор препознавања код одређене врсте паразита. Таква флексибилност у препознавању омогућава паразиту да се прилагоди разноврсним хемијским сигнаlima из екосистема, повећавајући вероватноћу успешног успостављања везе са домаћином.



Слика 6.16. Структуре индукера формирања хаусторијума за паразитску биљку *Agalinis purpurea*

Иако паразитске биљке зависе од својих домаћина по питању воде и минерала (холопаразити и по питању примарних биомолекула), већина је способна за сопствену синтезу секундарних биомолекула – терпеноида и флавоноида. Међутим, у неким случајевима и ова једињења могу прећи из домаћина у паразита. Пример су семипаразитски западноамерички жбунови рода *Castilleja* (Scrophulariaceae), у чијем се лишћу и цветовима понекад могу наћи пиролизидински или хинолизидински алкалоиди, које биљка усваја од домаћина (*Senecio vulgaris* или *Lupinus argenteus*) преко хаусторијума. Овакав трансфер користан је за паразита, јер омогућава додатне механизме заштите од хербивора, комплементарне већ постојећим одбрамбеним једињењима (у случају *Castilleja* врста – иридоидима као што је каталпол) (Слика 6.17.).



Слика 6.17. Усвајање одбрамбених једињења из биљака домаћина од стране паразита *Castilleja coccinea*, који и сам производи иридоиде (каталпол) као одбрамбена једињења

Поставља се питање, зашто биљке луче једињења која потенцијално могу привући паразите? У скорије време утврђено је да и биљка домаћин може некада да има користи од паразитске биљке. Тако је на пример утврђено да неке паразитске биљке продукују једињења која стимулишу колонизацију корена биљке домаћина симбиотским гљивицама и бактеријама, које значајно помажу биљци у апсорпцији минерала из земљишта. Такође, нека одбрамбена једињења из паразитских биљака могу пенетрирати у биљку домаћина, побољшавајући њене одбрамбене способности против патогена или хербивора.

6.3 КОМУНИКАЦИЈА ИЗМЕЂУ БИЉАКА

Први резултати који су указивали на могућност реакције биљака на сигнале које су послале суседне, оштећене биљке, објављени су 1983. године. Наиме уочено је да биљка, када се нађе у близини друге биљке исте врсте нападнуте од стране биљоједа, почиње да производи одбрамбена једињења (попут фенола и танина) као да је и сама нападнута. Ови ефекти запажени су код врбе (*Salix sitchensis*, Salicaceae), тополе (*Populus × euroamericana*, Salicaceae), јавора (*Acer saccharum*, Sapindaceae), јове (*Alnus*

glutinosa, Betulaceae), кукуруза (*Zea mays*, Poaceae), дувана (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae), пасуља (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae), боровнице, парадајза, итд.

Истраживања су показала да у комуникацији најчешће учествују испарљива једињења које биљке ослобађају приликом напада хербивора или механичких оштећења, а којих често нема у неоштећеној биљци (Слика 6.18.). Најчешће су то једињења из групе терпена, као и испарљива једињења зелених листова (енг. *green leaf volatiles*, GLV) пореклом из масних киселина. Некада се јављају и једињења азота и сумпора, и испарљиви биљни хормони и њихови деривати – метил-салицилат (MeSA), метил-јасмонат (MeJA) и етен. Профил емитованих једињења карактеристичан је за биљку-емитера и биљоједа који напада биљку. Ова једињења, ношена ветром, могу стићи до других биљака, које примљену информацију могу протумачити као присуство нападача у близини, и искористити је за припрему одбрамбених механизма (с обзиром да бекство није опција). Иако сигнал носи информацију о типу нападача, није познато да ли биљка-прималац може да је разазна и реагује у складу са њом.

Треба напоменути да је сигнал просторно ограничен – одговор се јавља само код прималаца у непосредној близини емитера. Максимално растојање (које се типично мери десетинама центиметара), зависи од брзине и јачине ветра, влажности ваздуха и температуре.



Слика 6.18. Комуникација између оштећене и неоштећене биљке исте врсте у суседству путем испарљивих једињења

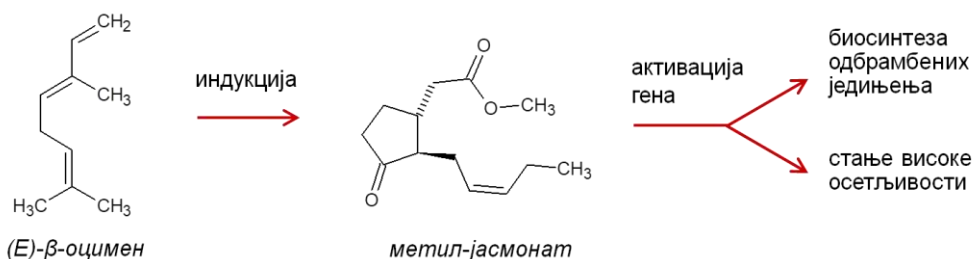
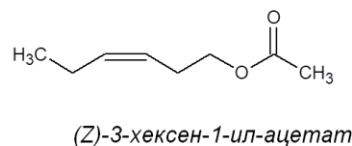
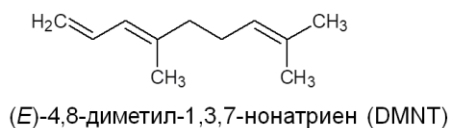
Пример оваквог типа интеракција је комуникација између биљака лима пасуља (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae) када је једна од њих нападнута од стране гриња. Нађено је да инфицирана биљка емитује једињења из класе испарљивих терпена – (E)- β -оцимен и (E)-4,8-диметил-1,3,7-нонтриен (DMNT), као и GLV – (Z)-3-хексен-1-ил-ацетат (Слика 6.19.). На јединкама које се налазе низ ветар гриње ће у мањој мери полагати јаја него на примерцима који су уз ветар, јер прва група захваљујући правовременом „упозорењу” мобилише заштитна једињења.

Потврђено је да β -оцимен и низ других ацикличних и цикличних мономертерпена индукују повећање концентрације метил-јасмоната у ткиву (Слика 6.19.). MeJA припада групи јасмоната, циклопентанонских деривата који се изводе из линоленске киселине, а који делују као биљни хормони и поред осталог индукују бројне гене везане за одбрану, укључујући и гене за биосинтезу фитоалексина и инхибитора протеаза. Одговор на примљени сигнал упозорења може бити директан, у смислу производње одговарајућих одбрамбених једињења (енг. *volatile-induced resistance*). Алтернативно, у циљу уштеде ресурса односно избегавања трошења градивних блокова за синтезу једињења која можда неће ни бити искоришћена (уколико до напада не дође), биљка може прећи у стање

високе осетљивости (енг. *volatile-mediated priming*). У случају накнадног напада, она је спремна за брз и ефикасан одговор.



Phaseolus lunatus



Слика 6.19. Продукција сигналних једињења у лима пасуљу (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae) када дође до напада од стране гриња

Сигнал не мора бити инициран само нападом хербивора. На пример, код памука (*Gossypium spp.*, Malvaceae), инфекција гљивицама *Aspergillus flavus* доводи до емитовања сигнала, који даље доводи до продукције терпена у другим припадницима исте врсте и индуковане отпорности целе биљке на патоген.

Размена сигнала између биљака може бити усмерена ка припадницима исте врсте (интраспецијска) или различитим врстама (интерспецијска). Један од ретких документованих примера интерспецијске комуникације забележен је у контролисаним лабораторијским условима, где су жбун пустињска жалфија (*Artemisia tridentata*, Asteraceae) и дуван (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae) показали способност размене сигнала. Иако ове врсте у природи не коегзистирају, експеримент је показао да оштећени жбун *Artemisia* може да емитује сигнале које дуван препознаје и реагује повећаном синтезом одбрамбених једињења.

Иако постоје докази да је између биљака размена информација могућа, она обично користи само једном од учесника у комуникацији –

чешће примаоцу, а некад и емитеру. Одсуство мутуализма (комуникације која би користила обема биљке) може се вероватно објаснити чињеницом да биљке, у принципу, немају много позитивних порука које би пренеле једна другој. Због сесилности, оне формирају мутуализам са високо покретним организмима (инсекти, птице) који им могу помоћи у опрашивању, расејавању или одбрани, или са микроорганизмима битно различитог метаболизма (азотфиксирајуће бактерије). Нормална интеракција са другим биљкама је конкуренција за ограничене ресурсе на одређеном станишту. Није тешко објаснити зашто биљке „прислушкују” хемијске сигнале својих суседа (исте или друге врсте), будући да им то омогућава да одбрамбене механизме прилагоде могућем ризику. Међутим, поставља се логично питање: зашто би биљка-емитер уопште слала сигнале који упозоравају друге јединке, када би тиме потенцијално сама себе довела у неповољнији положај? Наиме, уместо да биљоједи равномерно расподеле штету на више јединки, могли би се фокусирати искључиво на биљку која је већ нападнута. Могуће објашњење за овај феномен лежи у томе да емитовање сигнала није нужно „намерна” активност биљке, већ може бити нуспојава физиолошких процеса који настају као одговор на оштећење. На пример, испарљива једињења која се преносе ваздухом до других биљака често имају примарну функцију као одбрамбена средства. Биљка их производи не да би сигнализирала, већ као репеленте за биљоједе или, у неким случајевима, као атрактанте за предаторе или паразите који нападају те биљоједе. Емитовање ових једињења може бити секундарно искоришћено од стране других биљака које препознају сигнал и почињу да активирају сопствене одбрамбене механизме. Такође, постоји хипотеза да овакав облик комуникације може индиректно користити популацији у целини, јер помаже у очувању генетичке варијабилности или умањује притисак биљоједа на исту врсту у ширем окружењу. Још једна од могућности је да биљка емитује сигнална једињења пре свега ради координације и комуникације између својих делова. На тај начин, када је један део биљке изложен нападу, остатак биљке прима сигнале и може брзо активирати одбрамбене механизме, повећавајући своје шансе за опстанак. Уместо транспорта хормона као што су јасмонати и салицилна киселина са места

повреде до удаљених делова биљке комплексном мрежом спроводних снопића унутар биљке, сигнал се преноси ваздухом. Овакав начин преноса информације је бржи (нарочито у случају делова који су просторно близу али се налазе на различитим гранама), независан од морфологије биљке и архитектуре васкуларног система, и троши мање воде него интерно сигнализирање. У циљним ткивима примљена информација користи се за иницирање одговарајућих одбрамбених механизма.

ФИТОХЕМИКАЛИЈЕ КАО ХОРМОНИ И ФЕРОМОНИ ЖИВОТИЊА

07

Први извештаји о присуству хемијских једињења у биљкама (фитохемикалија) која испољавају хормонску или феромонску активност код животиња потичу из прве половине 20. века. Још 1930-их година, примећено је да неке биљке садрже супстанце које код животиња испољавају физиолошке ефекте сличне женским полним хормонима. Међутим, ове супстанце делују у веома малим концентрацијама, па су њихова детаљнија идентификација и проучавање постали могући тек са развојем савремених аналитичких метода у другој половини 20. века. У истом периоду, 1950-их и 1960-их година, откривено је да биљке могу производити и једињења са феромонском активношћу. Ова појава је први пут уочена код цветница које синтетишу полне феромоне инсеката како би привукле специфичне опрашиваче. У овом поглављу биће разматрана хемијска природа, механизми деловања и еколошки значај фитохемикалија које делују као хормони и феромони животиња, као и потенцијал њихове примене у пољопривреди.

7.1 ФИТОХЕМИКАЛИЈЕ КАО ХОРМОНИ ЖИВОТИЊА

Хормони су хемијски гласници у организму, односно једињења која луче одређене ћелије или жлезде у једном делу организма, а која преносе сигнал удаљеним циљним ћелијама, утичући на њихову активност. Већ у изразито малим концентрацијама изазивају одговор (промену у метаболизму) у циљним ћелијама. Сви вишећелијски организми користе хормоне. Код животиња, хормони се луче у одговарајућим жлездама и ослобађају у крвоток којим се транспортују до циљних ткива (у случају ендокрине сигнализације) или се луче у одређеним ћелијама и дифундују у

околно ткиво, делујући локално (паракрина сигнализација). Већина ових хормона се у циљној ћелији веже за специфичне мембранске или интрацелуларне рецепторе, што доводи до активирања одговарајуће сигналне каскаде и активације/инхибиције циљног ензима или, у неким случајевима, појачања/супресије експресије одређеног гена. Крајњи ефекти укључују регулацију метаболизма, раста, имуног система, репродукције, расположења итд. Животињски хормони се према структури деле на пептидне, липидне (стероиди, еикозаноиди) и моноаминске (деривати аминокиселина).

Биљни хормони (фитохормони) имају улогу у расту биљке и дефинисању морфологије (правац раста, диференцирање ћелија, формирање цвета, стабљике, лишћа), одређивању пола цвета, развоју и сазревању плода, опадању лишћа, отварању стома, адаптацији на токсине у земљишту итд. За разлику од животиња, биљке немају посебне ендокрине жлезде. Уместо тога, свака ћелија је способна за синтезу хормона. Поред тога, док животиње поседују активне циркулаторне системе (крвоток и лимфоток), који могу транспортовати хормоне до удаљених делова, биљке користе пасивније механизме и дејство ових једињења је често локално. Због тога су фитохормони структурно једноставнији, што им омогућава лакше кретање кроз ткива. Структурно су разноврсни и обухватају терпеноиде (абсцисинска киселина, гибберелини, стриголактони) и друге липиде (брасиностероиди, јасмонати), феноле, деривате индола (ауксини), гасове (етен, NO), пептиде, полиамине, па чак и продукте сагоревања (карикини, види поглавље 6.1.).

Због великих разлика у хормоналним системима биљака и животиња, хормоналне интеракције између њих нису деловале вероватно, и пионирски радови из ове области нису били прихватани. Међутим, каснија истраживања су показала да многе биљке и гљиве синтетишу једињења идентична или слична нпр. полним хормонима сисара. Ова једињења, ако их биљоједи сисари унесу у организам путем хране, могу испољити значајно физиолошко дејство, укључујући изазивање хормонског дисбаланса. У биљкама је такође утврђено и присуство низа једињења која делују као

јувенилни хормони и хормони пресвлачења инсеката, којима биљка регулише репродукцију, а самим тим и величину популације инсеката.

7.1.1. Фитохемикалије са хормонском активношћу код сисара

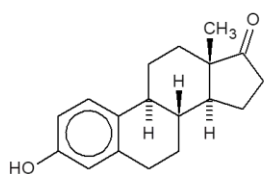
Примери детектованих женских полних хормона сисара (естрогена) у биљкама су естрон из семена и полена урме (*Phoenix dactylifera*, Arecaceae) (Слика 7.1.), семена нара (*Punica granatum*, Lythraceae) и семена јабуке (*Malus pumila*, Rosaceae), естриол из цвета врбе (*Salix* врсте, Salicaceae) (Слика 7.1.) и 17 β -естрадиол из семена пасуља (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae), пупољака *Populus tremuloides*, (Salicaceae), полена кивија (*Actinidia deliciosa*, Actinidiaceae). Мушки полни хормони (андрогени) – тестостерон и андростендион пронађени су у полену белог бора (*Pinus sylvestris*, Pinaceae) (Слика 7.1.), док је у листу дувана (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae) и омана (*Inula helenium*, Asteraceae) детектован само андростендион.

Ова једињења присутна су у биљкама у изузетно малим концентрацијама (ред величине pg/ng), првенствено у полену и семену, и на основу досадашњих истраживања, није могуће са сигурношћу утврдити да ли су она споредни производи или интермедијери у синтези стероидних једињења значајних за биљку, или пак имају улогу у регулацији раста и репродукцији биљке.

Међутим, код биљоједа који конзумирају велике количине биљне хране у дужем временском периоду, чак и ове мале концентрације полних хормона присутне у биљкама могу имати кумулативне ефекте и довести до смањене репродуктивне способности или морфолошких промена на репродуктивним органима. Истраживачи из Саудијске Арабије испитивали су 18 врста коровских биљака са пустињских пашњака, укључујући *Cakile arabica* (Brassicaceae), *Cyperus conglomeratus* (Cyperaceae), *Lactuca serriola* (Asteraceae) и *Eruca sativa* (Asteraceae), након што је примећено да камиле које се хране овим биљкама имају проблеме са зачећем и пате од синдрома цистичних јајника. Резултати су показали присуство полних стероидних хормона (тестостерона, естрадиола и прогестерона) у многим од ових

биљака, што је могло довести до поремећаја репродуктивних функција код камила.

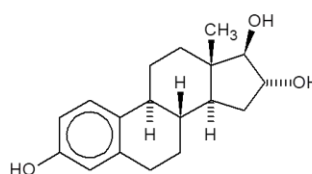
• естрогени



естрон



семе *Phoenix dactylifera*

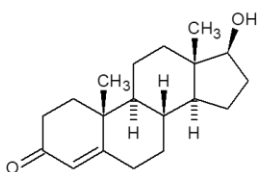


естриол

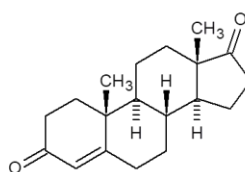


женски цветови
Salix alba

• андрогени



тестостерон



андростендион



полен *Pinus sylvestris*

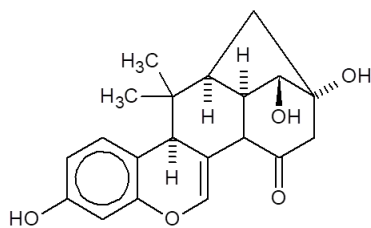
Слика 7.1. Примери стероидних хормона сисара и биљака које их садрже

Поред стероидних полних хормона, многе биљке, укључујући соју, бели лук, овас, јечам, кафу, сунцокрет, першун и кромпир, садрже једињења која немају стероидну структуру, али показују естрогену активност. Ова једињења названа су фитоестрогени.

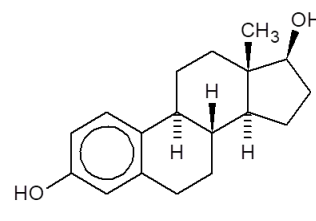
Један од првих откривених **фитоестрогена** био је деоксимироестрол, изолован из корена биљке *Pueraria mirifica* (Fabaceae) (Слика 7.2.), која се традиционално користи на Тајланду и Мјанмару за изазивање побачаја. Ово једињење је структурно слично естрону и *in vivo* показује активност упоредиву са 17 β -естрадиолом (што се огледа у поремећајима менструалног циклуса), док је вишеструко активније од најпотентнијег синтетског естрогена, диетилстилбестрола. Накнадно је у истој биљци пронађен низ других активних једињења, укључујући изофлавоноиде генистеин, даидзеин и генистин, као и β -ситостерол, стигмастерол, куместрол, кампестрол, мирификуместан и мирифицин.



Pueraria mirifica



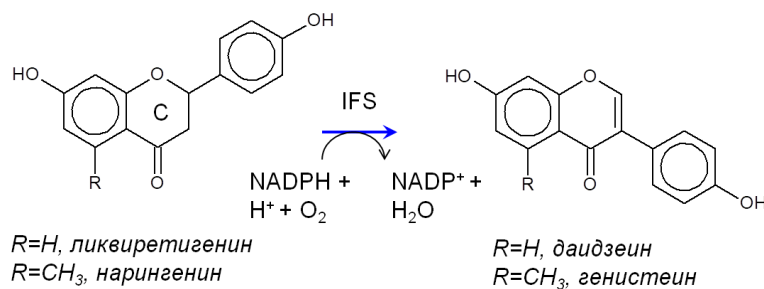
деоксимироестрол



17β-естрадиол

Слика 7.2. Пример фитоестрогена деоксимироестрола из корена *Pueraria mirifica* који има активност упоредиву са 17β-естрадиолом

Изофлавоноиди су вероватно најпознатија и најважнија класа фитоестрогена. Настају из флаванона неуобичајеном реакцијом 1,2-арил-премештања (Слика 7.3.). Познато је више стотина ових једињења, при чему је структурна разноврсност последица додатне хидроксилације, алкиловања, оксидације С прстена, гликозилације, као и формирања додатних прстенова (код ротоноида, куместана, птерокарпана). Док су флавоноиди универзално присутни у биљном царству, изофлавоноиди се углавном јављају само код легуминоза (Fabaceae). Примери врста богатих овим једињењима су соја (*Glycine max*), пасуљ (*Phaseolus vulgaris*), луцерка или алфалфа (*Medicago sativa*), црвена детелина (*Trifolium pratense*), кикирики (*Arachis hypogaea*) (Слика 7.4.).



Слика 7.3. Реакција превођења флаванона (ликвиритигенина и нарингенина) у изофлавоноиде даидзеин и генистеин деловањем изофлавонон-синтазе (IFS)



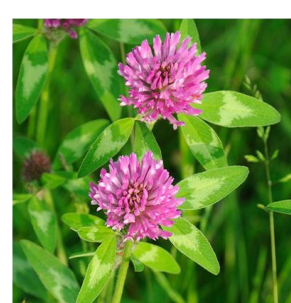
Glycine max



Phaseolus vulgaris



Medicago sativa

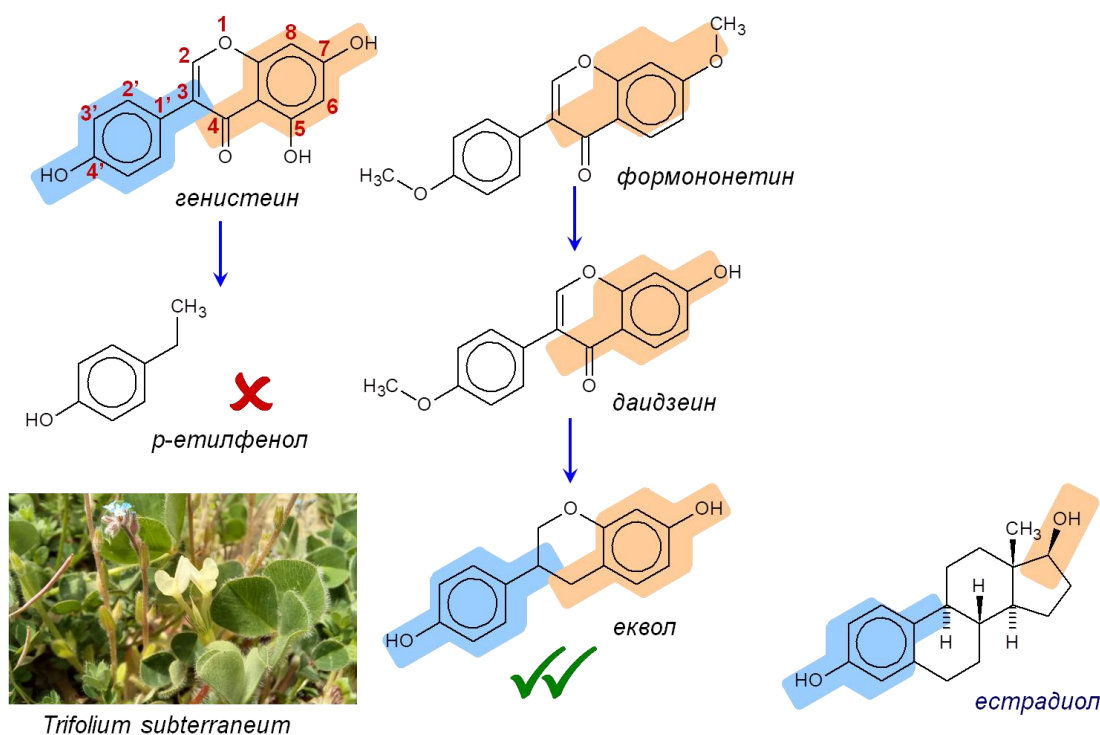


Trifolium pratense

Слика 7.4. Биљке које садрже изофлавоноиде

Фитоестрогена својства изофлавоноида откривена су 1940-их, када је уочено значајно смањење плодности оваца храњених током дужег периода подземном детелином (*Trifolium subterraneum*, Fabaceae) (Слика 7.5.). Из ове биљке изоловане су две активне компоненте изофлавоноидне структуре: генистеин и формонетин. Иако имају ниску естрогену активност, ова једињења испољавају дејство јер су у хранивима за животиње присутне у високим концентрацијама (око 1 % суве материје.). Утврђено је да формонетин у организму деметилацијом и редукцијом прелази у активнији изофлавандиол еквол, док се генистеин код преживара разграђује у неактивне производе (укључујући *p*-етилфенол) (Слика 7.5.).

Сви изофлавоноиди показују фитоестрогену активност. Ова једињења су структурно слична естрогеним хормонима, захваљујући планарном систему прстенова и присуству ОН групе (Слика 7.5.). Ово им омогућава да се вежу за естрогене рецепторе, али је резултујући одговор много слабији него у случају ендогеног естрадиола. Због тога, у зависности од концентрације естрогена у организму, изофлавоноиди могу деловати агонистички или антагонистички са естрогеном. У репродуктивном периоду, када је концентрација естрогена висока, изофлавоноиди се понашају као компетитивни инхибитори естрогенских рецептора, тј. антагонисти (пошто се везују за рецепторе али их много слабије активирају од естрогена). Сматра се да овај механизам деловања изофлавоноида може допринети заштити од естроген-зависних тумора, укључујући рак дојке. Тако је примећено да жене у азијским земљама, где је исхрана богата сојом, имају нижи ризик од естроген-зависних карцинома у поређењу са женама у западним земљама. Са друге стране, у менопаузи, када је концентрација естрогена ниска, изофлавоноиди могу активирати рецепторе уместо естрогена (агонистички ефекат) и тиме смањити симптоме менопаузе. Због овог ефекта на тржишту постоје бројни дијететски суплементи на бази изофлавоноида из соје или црвене детелине који се препоручују против симптома менопаузе. За максималну естрогену активност неопходне су фенолне ОН групе у пара-положају изофлавоноида (позиције 7 и 4' у флавоноидном скелету), аналогно позицијама ОН група естрадиола (Слика 7.5.).



Слика 7.5. Примери изофлавоноида из подземне детелине (*Trifolium subterraneum*), њихов метаболизам и сличност са естрадиолом

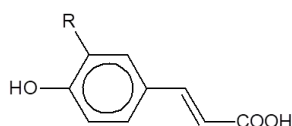
Изофлавоноиди се углавном налазе у врстама фамилије Fabaceae и играју важну улогу у заштити ових биљака од напада биљоједа. Међутим, остаје отворено питање: да ли је производња фитоестрогених изофлавона само биохемијска случајност, имајући у виду да су они прекурсори за синтезу фитоалексина (једињења која биљке стварају као одговор на напад патогена), или се ови изофлавоноиди циљано производе како би ометали репродуктивне процесе биљоједа, и на тај начин смањили њихову бројност.

На примеру препелица, јасно се уочава да изофлавоноиди из легуминоза, којима се оне доминантно хране, имају улогу у регулацији популације ових птица и тиме потврђују свој еколошки значај. Наиме, у годинама са обилним падавинама легуминозе расту у изобиљу и тада садрже релативно ниске концентрације изофлавона који не утичу на препелице. Насупрот томе, у сушним периодима раст биљака се смањује, а садржај фитоестрогена значајно расте, што код птица узрокује инхибицију полагања јаја. На тај начин се, у периодима несташнице хране, ограничава популација препелица.

Соја (*Glycine max*, Fabaceae) садржи значајне количине (0,1–0,4 %) генистеина и даидзеина, како слободних тако и у форми 7-О-глукозида. Сојина сачма је данас врло чест додатак хране домаћих животиња. Истраживања су показала да се изофлавони из сојине сачме могу наћи у млеку, али да њихова концентрација углавном није довољно висока да утиче на људско здравље. Међутим, прекомерно уношење изофлавона из соје код неких животиња (риба, оваца, живине) може довести до репродуктивних поремећаја, као што су смањена плодност, нередовни еструс и измењена морфологија репродуктивних органа.

Слабо фитоестрогено дејство уочено је и код неких флавонола и флавонола – две класе фенола широко заступљене у биљкама.

И неки једноставнији природни производи могу код одређених животиња деловати као полни хормони. На пример, фенилпропенске киселине (које су у биљном свету врло распрострањене и често присутне у високим концентрацијама) и винилфеноли инхибирају репродуктивне функције код северноамеричке волухарице *Microtus montanus* (Cricetidae). Уочено је смањење масе материце, инхибиција развоја фоликула и престанак размножавања. Трава којом се овај глодар претежно храни, *Distichlis spicata* (Poaceae), садржи значајне количине р-кумаринске и ферулне киселине, чији садржај нарочито расте у периоду цветања и плодношења, односно пред одумирање биљке. Занимљиво је да, док ова група једињења из биљака зауставља размножавање волухарица у јесен, друга група једињења стимулише размножавање у пролеће. Раније се сматрало да су периоди размножавања код волухарица контролисани искључиво регистравањем промена у дужини дана.



$R=H$, *p*-кумаринска к.
 $R=OCH_3$, ферулна к.



Distichlis spicata



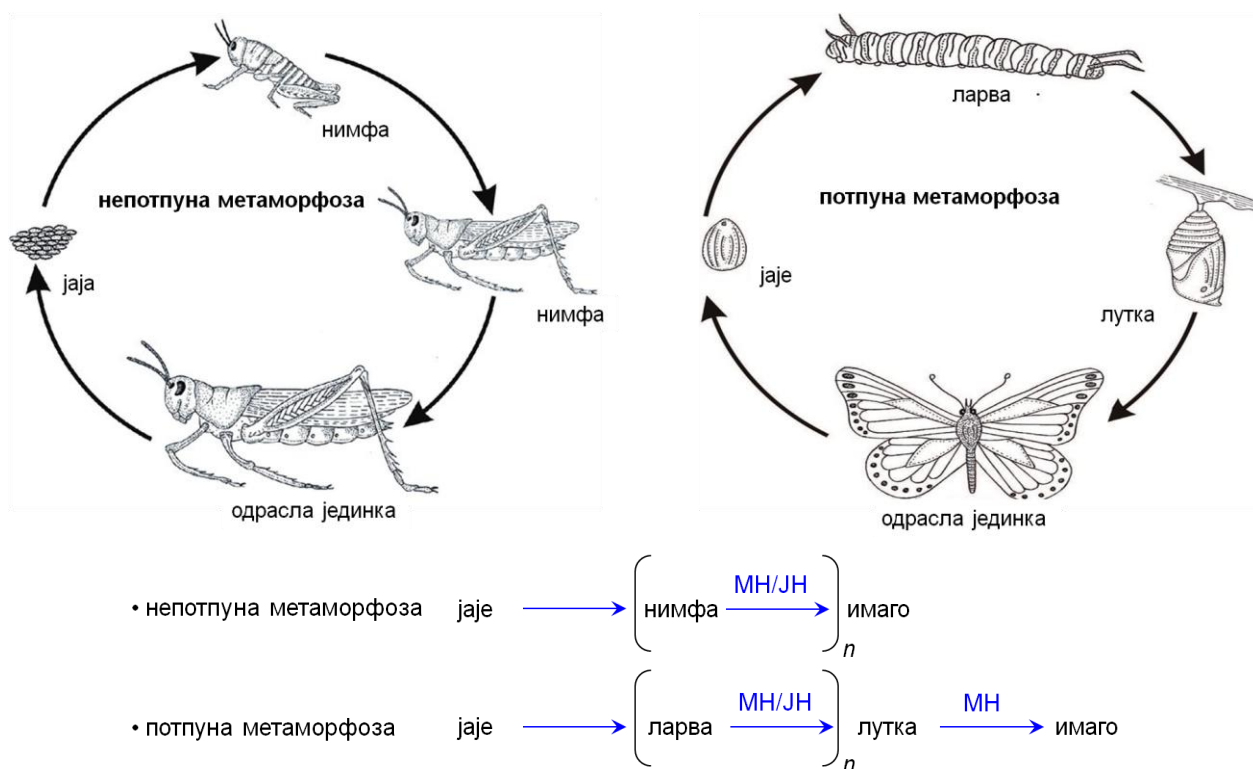
Microtus montanus

Слика 7.6. Примери фенолних једињења из траве *Distichlis stricta* који делују као полни хормони волухарице *Microtus montanus*

7.1.2. Фитохемикалије са хормонском активношћу код инсеката

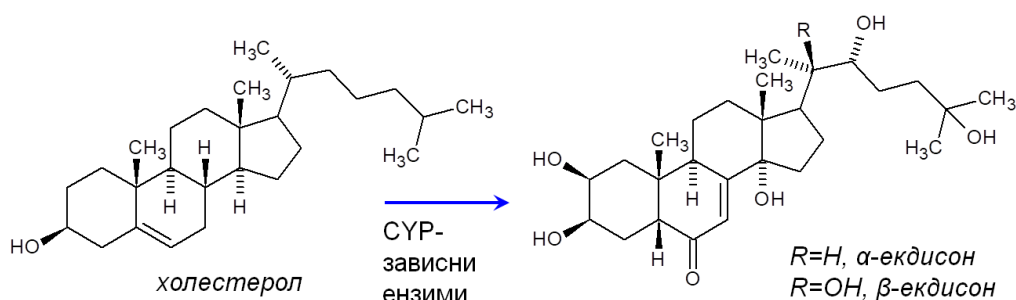
Фитохемикалије могу испољити хормонско дејство не само на сисаре, већ и на инсекте.

Инсекти у току развоја пролазе кроз неколико фаза (инстара) (Слика 7.7.). Код инсеката са непотпуном метаморфозом (скаванаца, цврчака, богомољки, бубашваба, вилиних коњица, термита) из јајета се излеже нимфа, која у великој мери подсећа на одраслу јединку – имаго, уз одсуство крила и гениталних органа. Њен развој до одрасле јединке обухвата више (4-15) циклуса раста и пресвлачења. Инсекти са потпуном метаморфозом (тврдокрилци, муве, мрави, пчеле, лептири, буве), након што се излегу из јаја пролазе кроз две фазе потпуно различите од одрасле јединке: ларва (мобилна, црволиког облика, има функцију раста и сакупљања енергије за метаморфозу) пролази кроз неколико циклуса раста и пресвлачења и лутка (инактивна, учаурена) (Слика 7.7.). Пресвлачење код инсеката је неопходно током раста јер имају егзоскелет (китикулу) који је и не дозвољава раст. Због тога инсекти повремено одбацују стари егзоскелет и формирају нови, са више простора за раст.



Слика 7.7. Врсте метаморфозе код инсеката. МН – хормон пресвлачења; ЈН – јувенилни хормон; n – број циклуса раста и пресвлачења

Процес метаморфозе контролисан је помоћу два типа хормона: јувенилним хормонима (енгл. *juvenile hormone*, ЈН) и хормонима пресвлачења (енгл. *moulting hormone*, МН). Хормони пресвлачења синтетишу се у неколико ткива инсеката, и регулишу пресвлачење нимфе и ларве, почетак формирања лутке и метаморфозу. Хормони пресвлачења се синтетишу у различитим ткивима инсеката и имају улогу у контроли не само пресвлачења нимфи и ларви, већ и почетка формирања лутке, као и саме метаморфозе лутке у имаго. Структурно, ови хормони спадају у стероиде (екдистероиде) и настају оксидативном модификацијом холестерола под дејством СYP-зависних ензима (Слика 7.8.). Као и други стероидни хормони, делују преко одговарајућих интрацелуларних, нуклеарних рецептора – екдисонских рецептора (EcR).



Слика 7.8. Трансформација холестерола у екдистероиде

Први представник ове групе једињења, α-екдисон, изолован је 1954. из ларве свиле бубе, а накнадно су идентификовани 20-хидрокси-α-екдисон (β-екдисон) и још 4 једињења.

Оно што је занимљиво је да су недуго након открића зооекдисона ова једињења нађена и у биљкама, и то у много већој количини. Тако је за изолацију 25 mg α-екдисона било потребно 500 kg ларви свилене бубе, док се иста количина β-екдисона налази у само 25 g сувог лишћа и корена европске тисе (*Taxus baccata*, Тахасеае), а још веће концентрације присутне су у обичној папрати (*Polypodium vulgare*, Polypodiaceae) (Слика 7.9.), чијег је ризома за исту количину стероида потребно само 2–5 g. Утврђено је да су екдистероиди уобичајени у папратима (нарочито у фамилији Polypodiaceae) и голосеменицама (Тахасеае и Podocarpaceae), док су у скривеносеменицама

знатно ређи. Ово не изненађује, јер су скривеносеменицама инсекати неопходни за опрашивање.



Taxus baccata



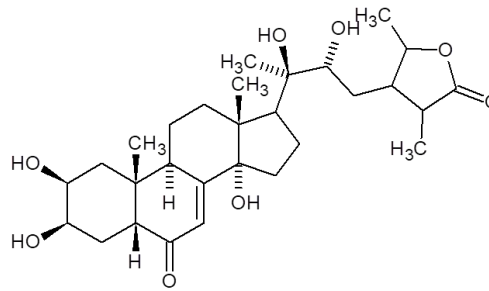
Polypodium vulgare

Слика 7.9. Биљке богате β -екдисоном

Док је β -екдисон распрострањен у биљкама, остали зооекдистероиди су ретки, а уместо њих се јављају различити аналози – фитоекдистероиди (укупно их је познато преко 40), као што је цикастерон (Слика 7.10.). Активност ових стероида је значајно већа од зооекдистероида (неки су и до 20 пута активнији од α - и β -екдисона), и много теже подлежу инактивацији – док се 50 % α -екдисона у организму инсекта инактивира за 7 h од апликације, време полуживота цикастерона је 32 h.



Cycas revoluta



цикастерон

Слика 7.10. Представник фитоекдистерона и његов биолошки извор

Ова једињења могу имати веома штетне последице по инсекте, од абнормалне морфологије и стерилности до смрти. Ефекти су најблажи у случају оралног уношења, захваљујући механизмима детоксикације (који укључују хидроксилацију, дехидрогенизацију у положају 3, конјугацију или кидање бочног низа). Међу инсекатима нарочито осетљивим на дејство фитоекдисона је свилена буба (*Bombyx mori*, Bombycidae), која након третмана овим једињењима није у стању да током пресвлачења уклони стару кутикулу и на крају умире.

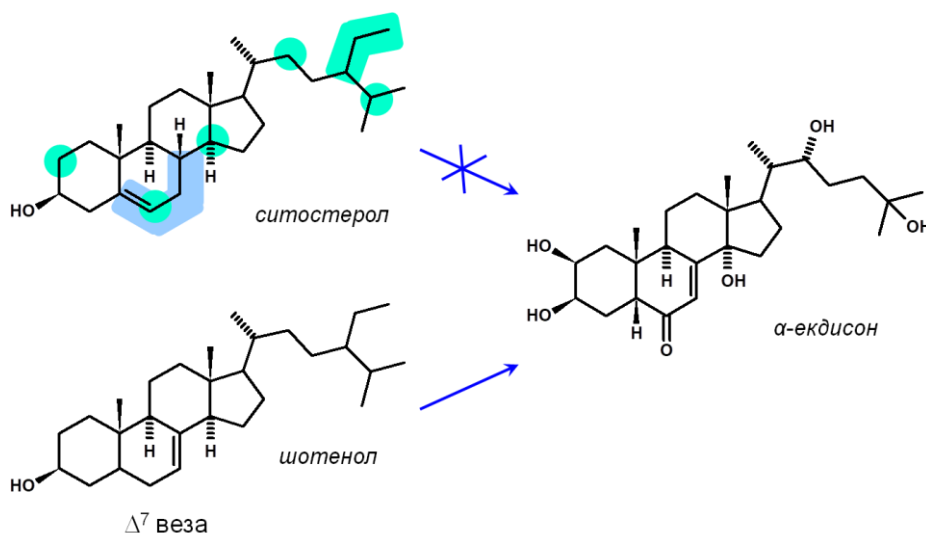
У контексту екдистероида, занимљив је пример коеволуције између хербиворних инсеката, четири врсте мушица из рода *Drosophila* (Drosophilidae), и кактуса који расту у пустињама западног дела Сједињених Америчких Држава. Ове мушице показују изразиту специфичност у избору хране, преферирајући труле делове тачно одређене врсте кактуса (Табела 7.1.). Ова специфичност је резултат две врсте интеракција: присуства фагоатрактаната (супстанци стероидне природе које привлаче инсекте) и фагорепелената (супстанци које одбијају инсекте да се њима хране).

Табела 7.1. Изразита специфичност у храњењу мушица само одређеном врстом кактуса

Кактус	Мушица
<i>Lophocereus schottii</i>	<i>Drosophila pachea</i>
<i>Carnegiea gigantea</i>	<i>Drosophila nigrospiracula</i>
<i>Lemaireocereus thurberi</i>	<i>Drosophila mojavensis</i>
<i>Rathbunia alamosensis</i>	<i>Drosophila arizonensis</i>

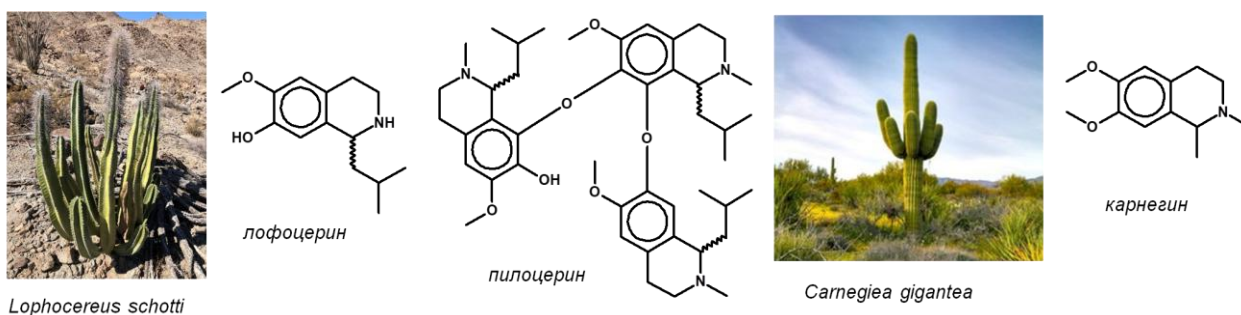
Атрактантна супстанца која се налази у све четири врсте кактуса и привлачи све четири врсте мушице је шотенол, једињење које представља погодан прекурсор хормона пресвлачења α -екдисона. Наиме, пошто инсекти нису способни да *de novo* синтетишу стероидно језгро, принуђени су да стероиде уносе храном, обично у форми фитостерола, попут ситостерола. Конверзија ситостерола у α -екдисон захтева низ структурних промена: премештање двоструке везе ($\Delta 5 \rightarrow \Delta 7$), уклањање етил-групе у позицији 24 (карактеристична за фитостероле, одсутна у зоостеролима) и низ оксидација ради увођења хидроксилних и оксо-група (Слика 7.11.).

Користећи кактусе као извор хране, *Drosophila* избегава потребу за једном од ових реакција ($\Delta 5 \rightarrow \Delta 7$) и одговарајућим ензимом, јер шотенол већ поседује $\Delta 7$ везу (Слика 7.11.). *Drosophila* је током еволуције изгубила ензим за премештање двоструке везе и постала зависна од кактуса као извора стероидног скелета. Доказ за то је да се ларве гајене на ситостеролу не развијају у одрасле мушице.



Слика 7.11. Конверзија α -екдисона у шотенол је једноставнија у поређењу са трансформацијом ситостерола у α -екдисон

Друга класа секундарних биомолекула укључена у интеракцију мушица и кактуса су алкалоиди. Свака врста кактуса садржи специфичне алкалоиде који делују као фагорепеленти за већину врста рода *Drosophila*, изузев за ону која се током еволуције адаптирала. На пример, лофоцереин и његов тример пилоцереин присутни су у кактусу *Lophocereus schottii* (Слика 7.12.). Ова два алкалоида су токсична и делују као репеленти. Једине мушице отпорне на њихово дејство су *D. pachea*, која је током еволуције развила механизме за њихову детоксикацију, што јој омогућава коришћење овог кактуса као хране.



Слика 7.12. Структуре репелентних алкалоида у кактусима *Lophocereus schottii* и *Carnegiea gigantea*

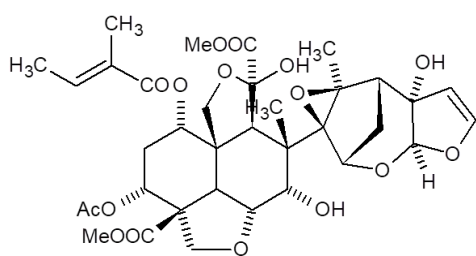
С друге стране, у кактусу *Carnegiea gigantea* налази се алкалоид карнегеин (Слика 7.12.), који делује као репелент за већину мушица рода *Drosophila*, осим за *D. nigrospiracula*, која се адаптирала на његово присуство. На тај начин, одржава се специфична веза између једне хербиворне врсте и једне врсте кактуса која јој служи као храна.

Овај механизам представља пример коеволуције, јер мушице кроз адаптацију обезбеђују довољно хране за свој опстанак, док кактуси ограничавају број врста које могу да се њиме хране. Храњење од стране једне врсте мушице за њих је безопасно, штавише, корисно, јер им доприноси уклањању одумирућих делова.

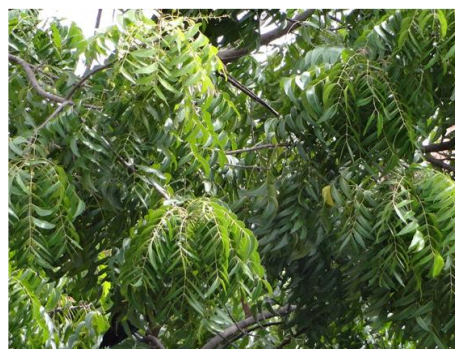
Синтеза једињења са ЈН/МН активношћу од стране биљака може представљати њихов покушај да контролишу бројност хербиворних инсеката и тиме обезбеде свој опстанак. Постоји неколико фактора који иду у прилог претпоставци о еколошкој функцији фитоекдистероида. Прво, они се претежно јављају у две еволутивно примитивније групе биљака – папратима и голосеменичарима, које немају могућност коришћења уобичајених одбрамбених једињења (алкалоиди и елагитанини јављају се само у напреднијим биљкама – скривеносеменичарима). Друго, структурна разноврсност ових једињења може представљати покушај заобилажења детоксикационих механизма инсеката. Иако су многи инсекти данас у стању да детоксификују фитоекдистероиде, могуће је да је ова способност развијена током времена, као последица сталне борбе између биљака и хербивора, а да су ова једињења у почетку представљала ефикасан одбрамбени систем.

Поред једињења стероидне структуре, низ других природних производа може ометати екдизонски сигнални пут код инсеката и тако штетно утицати на раст и метаморфозу инсеката. Пример је азадирахтин (тетранортритерпеноид) из семена, листова и коре дрвета ним (*Azadirachta indica*, Meliaceae) (Слика 7.13.), који редукује секрецију проторакикотропног хормона (РТТН) неопходног за ослобађање хормона пресвлачења и метаморфозу, и тиме делује као потентан системски дисруптор раста и фагорепелент.

За инсекте је азадирахтин веома токсичан (летална доза за врсту скакавца *Schistocerca littoralis* износи 15 mg/kg), док је за сисаре безбедно (LD₅₀ за пацова >3,5 g/kg), што га (уз додатну предност да је биодеградибилан) чини погодним биоинсектицидом.



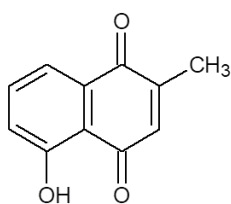
азадирахтин



Azadirachta indica

Слика 7.13. Азадирахтин из дрвета ним (*Azadirachta indica*) – пометан биоинсектицид јер ремети хормоналне процесе код инсеката

Други пример једињења из биљака које може ометати процес метаморфозе код инсеката је нафтохинон плумбагин из врста рода *Plumbago*, *Drosera* (росуље) и *Nepenthes* (цеволовке) (Слика 7.14.). Ово једињење, поред осталог, доводи до инхибиције хитин синтетазе, ензима неопходног за процес пресвлачења.



плумбагин



Plumbago capensis



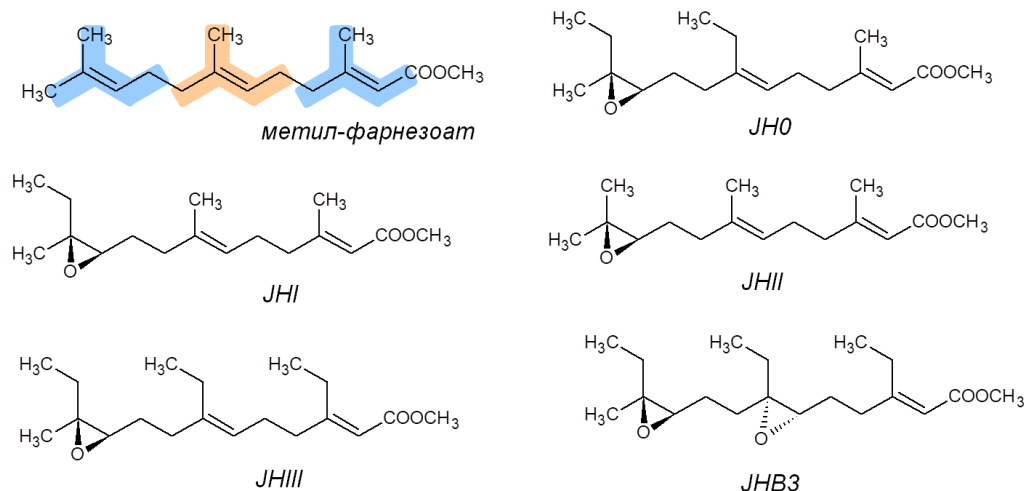
Drosera capensis

Слика 7.14. Плумбагин – инхибитор хитин синтетазе и његови биолошки извори

Јувенилни хормони се синтетишу у жлездама *corpus allatum* у глави инсекта и регулишу развој, репродукцију, дијапаузу (одлагање развоја у случају неповољних услова) и полифенизам (анатомске и морфолошке промене као одговор на спољашње услове). У оквиру циклуса раст-пресвлачење, јувенилни хормони стимулишу раст ларве и нагомилавање залиха, док спречавају метаморфозу, односно одржавају незрело стање. Током сазревања, ниво ових хормона постепено опада, чиме се омогућава одбацивање егзоскелета (стимулисано наглим скоковима концентрације хормона пресвлачења) и формирање новог, зрелијег стадијума инсекта.

Структурно, јувенилни хормони спадају у сесквитерпене. Прва четири идентификована једињења из ове групе означена су као ЈН0, ЈН1,

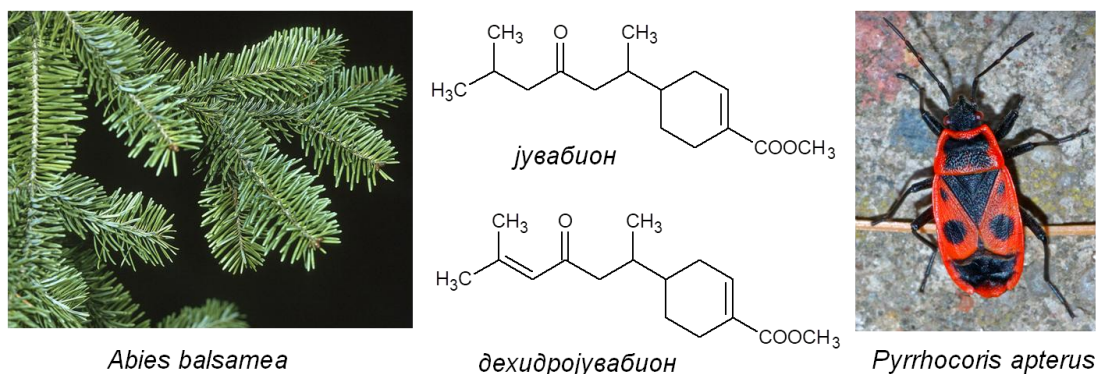
ЈНII и ЈНIII, при чему су прва три детектована искључиво код лептира и мољаца (код већине инсеката јавља се само ЈНIII). Поред тога, пронађено је и неколико деривата – ЈНВЗ (ЈНIII бис-епоксид) код мува и ЈНIII без епоксидне групе (метил-фарнезоат) код неких ракова (Слика 7.15.).



Слика 7.15. Јувенилни хормони код инсеката

Слично као и хормони пресвлачења, и јувенилни хормони инсеката су детектовани код неких биљака. Занимљиво је да су до овог открића случајно дошли научници Слама и Вилијамс (*Sláma K, Williams CM*) 1966. године приликом покушаја гајења ватрене стенице (*Pyrrhocoris apterus*, Pyrrhocoridae). Наиме, Вилијамс је на Харварду покушавао да гаји ове инсекте према процедури коју је Слама успешно користио у Чехословачкој, али му никако није успевао. Уместо да се после петог стадијума ларве пресвлаче у одраслу јединку, инсекти су настављали развој до шестог или чак седмог стадијума ларве. Узрок овоме била је разлика у папиру коришћеном у Петри-шољама за гајење инсеката. У оригиналној процедури коришћен је Whatman филтер-папир, док је на Харварду употребљаван папирни убрус Scott Brand 150, који је садржао једињење са активношћу јувенилних хормона, тада названо „папирни фактор“. То једињење је спречавало метаморфозу. У даљим експериментима сви амерички часописи и новине (укључујући *Science*) показали су високу активност овог хормона, док су европски и јапански (укључујући *Nature*) били инертни. Разлика у активности проистицала је из различитих сировина коришћених у производњи папира – у САД је главна сировина била врста јеле, *Abies*

balsamea (Pinaceae) (Слика 7.16.). У екстракту овог папира идентификована је активна компонента – сесквитерпен (+)-јувабион, који је структурни аналог јувенилних хормона (IJHA – енг. *insect juvenile hormone analogue*). Ово једињење је део смеше сесквитерпена присутних у јели и има значајну улогу у заштити четиноара од гљивица и инсеката. У истој врсти дрвета накнадно је откривен и његов дехидро-дериват, који такође има јувенилну активност.



Слика 7.16. Једињења из *Abies balsamea* која показују активност јувенилних хормона код инсеката фамилије *Pyrrhocoridae*

Важно је напоменути да је јувабион активан само код инсеката фамилије *Pyrrhocoridae*. Третман инсеката из сродне фамилије *Lygaeidae* није довео до одговора, што указује на високу специфичност деловања биљних јувенилних хормона.

Поред јувабиона и дехидројувабиона, пронађена су и једињења јувоцимен 1 и јувоцимен 2 у етарском уљу босиљка (*Ocimum basilicum*, Lamiaceae) (Слика 7.17.), који имају активност јувенилних хормона. Јувоцимен 2 је за неколико редова величине потентнији од ЈНI, и већ у количини од 10 pg код инсеката *Oncopeltus fasciatus* доводи до заустављања развоја у интермедијерном стању између нимфе и имага. Геранилацетон, присутан у бројним етарским уљима, укључујући менту (*Mentha piperita*, Lamiaceae) (Слика 7.17.), такође показује активност јувенилних хормона.

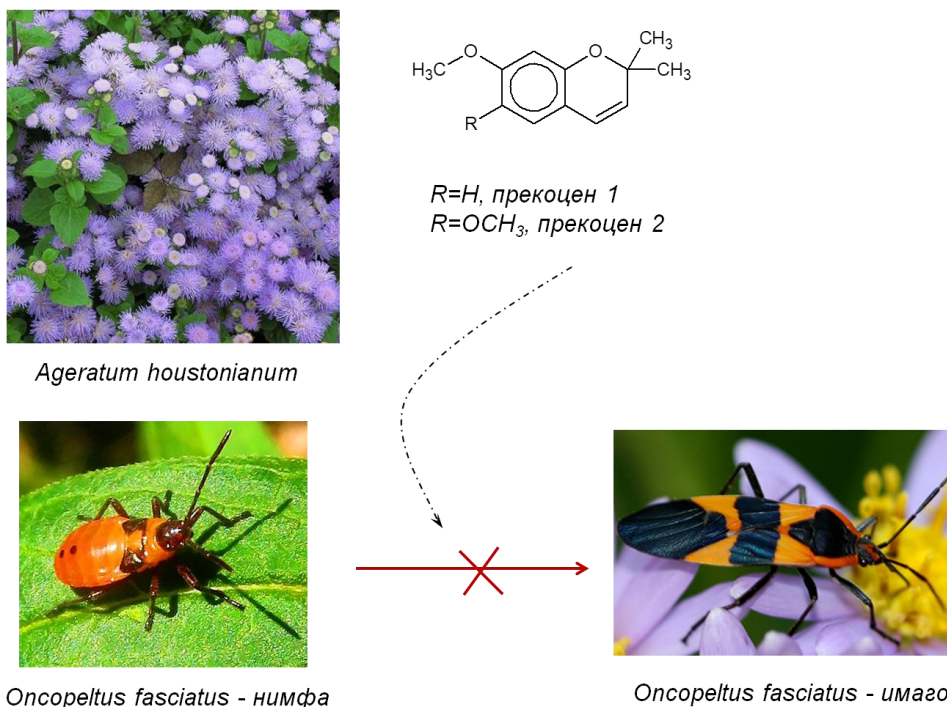


Слика 7.17. Једињења из *Abies balsamea* која показују активност јувенилних хормона код инсеката фамилије *Pyrrhocoridae*

Чињеница да у биљкама постоје супстанце активношћу јувенилних хормона и да ефикасно заустављају развој инсеката, понекад са леталним исходом, указује на њихову функцију у заштити биљака од хербиворних инсеката путем редукције популације. Ефикасност ових једињења у контроли популације инсеката довела је до развоја синтетичких инсектицида аналогне структуре.

Аналози јувенилних хормона могу деловати у различитим фазама циклуса развоја инсеката. Код јаја спречавају ембриогенезу, а у ларвеној фази продужавају живот ларве, воде формирању интермедијерних облика, џиновских ларви и деформисаних одраслих јединки. Код лутке спречавају излазак инсеката или доводе до формирања адултоида (незрелих јединки које личе на зреле). Код одраслих јединки повећавају морталитет и утичу на репродуктивну физиологију, узрокујући стерилитет.

За контролу популације хербиворних инсеката, биљке могу да примењују и потпуно супротан приступ од синтезе једињења са активношћу јувенилних хормона. Пример је америчка биљка горућа љубав (*Ageratum houstonianum*, Asteraceae) из које су изоловани прекоцен I и II (Слика 7.18.). Ова два једињења из класе хромена, након метаболисања у организму инсеката, формирају епоксиде који испољавају анти-ЈН активност, односно делују као антиалотропини – изазивају превремену метаморфозу. Нимфе инсеката (као што је *Oncopeltus fasciatus*) прескачу један или више ларвених ступњева у развоју, због чега настаје несавршен имаго. Мужјаци одраслих јединки које се формирају на овај начин најчешће су стерилни.



Слика 7.18. Једињења из *Ageratum houstonianum* која изазивају превремену метаморфозу код инсекта *Oncopeltus fasciatus* при чему настаје несавршен имаго

7.2 ФИТОХЕМИКАЛИЈЕ КАО ФЕРОМОНИ ИНСЕКТА ИЛИ МОДУЛАТОРИ ФЕРОМОНСКЕ И ХОРМОНСКЕ АКТИВНОСТИ

Феромони (детаљније у поглављу 8.) су једињења која посредују у комуникацији између животиња, и то припадника исте врсте. Они представљају интраспецијске семиохемикалије (супстанце које преносе сигнал (информацију) између организама). Понекад се описују као екстерни хормони.

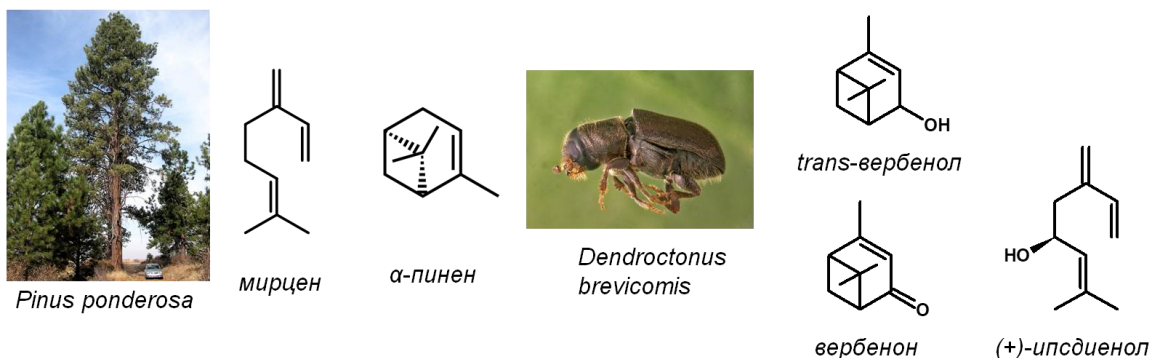
Животње, а нарочито инсекти, често користе испарљива једињења као феромоне. Будући да и биљке често производе различита испарљива једињења ради заштите од хербивора и инфекција, понекад може доћи до мешања и укрштања сигнала (енг. *signal mimicry*), што може имати позитивне или негативне ефекте за биљку. С једне стране, биљке могу привлачити инсекте у циљу опрашивања користећи испарљива једињења као имитацију сексуалних или агрегационих феромона инсеката. Такође могу користити алармне феромоне да узбуне и растерају хербиворне инсекте. С друге стране, једињења која биљка синтетише за заштиту од инфекција могу деловати као феромони и привући хербиворе.

Феромонске (и генерално сигналне) интеракције између биљке и инсеката могу бити од користи з оба организма (у овом случају, испарљива једињења представљају синомоне), штетити инсекту-рецепијенту, а користити биљци-емитеру (аломони), или штетити биљци, а користити инсекту (каиромони).

Пример за аломонску интеракцију су орхидеје рода *Ophrys* и њихови опрашивачи – *Andrena* пчеле (описано у поглављу 3.2.4). Биљка визуелно и испарљивим компонентама имитира матицу пчела, чиме привлачи трутове на парење. При томе, они нехотично преносе полен са цвета на цвет, што користи биљци. С друге стране, инсект није на добитку јер не добија награду у виду нектара.

Инсекти често користе испарљива једињења из биљака којима се хране као своје феромоне. Пример је инвазија тврдокрилаца на северноамеричке четинаре. Једна од најчешће нападнутих врста четинара је жути бор (*Pinus ponderosa*, Pinaceae), који је мета бројних врста тврдокрилаца, укључујући *Dendroctonus brevicomis* (енг. *pine bark beetle*) (Слика 7.18.). Кора бора производи олеорезин – смешу смоле и етарског уља богату испарљивим терпенима, који се слободно емитују у околину. Неки од ових терпена привлаче женке инсеката, које се насељавају на дрвету и почињу да се хране. Након тога, женке привлаче мужјаке, а онда заједно производе **феромон агрегације** (чија је једна од компонената монотерпен мирцен из четинара), који привлачи друге припаднике врсте, што доводи до масовног напада на дрво. Масовно укопавање инсеката на боровом стаблу пресеца ток воде у биљци и убија је, што омогућава даље неометано храњење. Једна од компоненти феромона агрегације је и мирцен, испарљиво једињење бора. Када колонија достигне оптималну величину у односу на расположиву храну, и женке и мужјаци почињу да производе репеленте, који спречавају пристизање нових јединки. Женка производи (Е)-вербенон који одбија нове женке, док мужјак производи вербенон и (+)-ипсдиенон који одбијају мужјаке (Слика 7.19.). Прекурсори за синтезу ових репелената (уз помоћ бактерија и гљивица у цревном тракту инсеката) су α -пинен и мирцен, испарљиви терпени из биљке (Слика 7.19.). Ова једињења

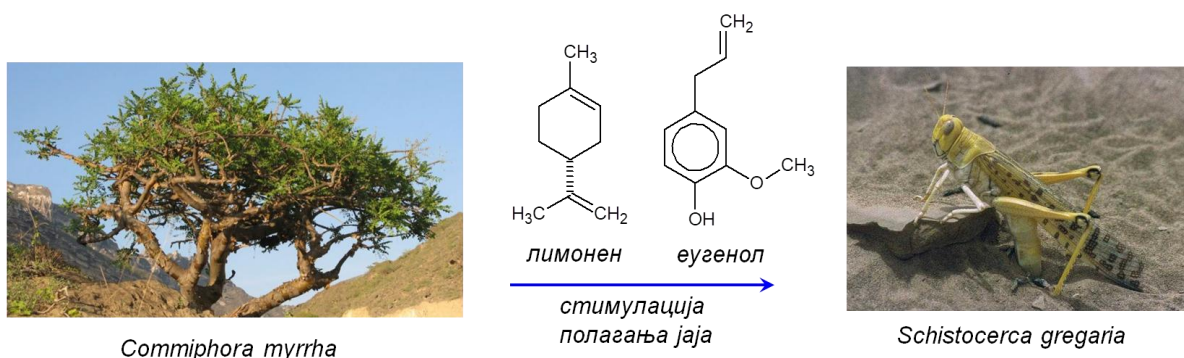
представљају каиромоне, јер доносе корист само рецепијенту (инсектима), док емитеру (биљци) штете.



Слика 7.19. Мирцен и α -пинен – каиромони из *Pinus ponderosa* – привлаче *D. brevicornis*, улазе у састав феромона агрегације и прекурсори су за синтезу репелентних једињења

Хербиворни инсекти често полажу јаја на биљке које ће служити као храна за ларве када се излегу из јаја. Понекад је важно да женка одложи размножавање и полагање јаја док не буде сигурна да је биљка у одговарајућој фази развоја и да може да обезбеди довољно хране. У неким случајевима, сигнал за синхронизацију фазе развоја биљке и размножавања инсекта су испарљива једињења које емитује биљка-домаћин. Таква једињења такође припадају каиромонима, јер користе инсекту (предатору), док штете биљци (емитеру).

Пример овакве интеракције су пустињски скакавци (*Schistocerca gregaria*) (Слика 7.20.), који могу одложити размножавање и до девет месеци ако услови нису повољни. Када услови околине постану повољни, током 1–2 недеље све женке скакаваца истовремено полажу јаја. Сигнал за развој јаја у женкама скакаваца долази из биљака којима се хране, а то су жбунасте и дрвенасте врсте рода *Commiphora* (нпр. мира, *C. myrrha*) (Слика 7.20.). Ове биљке садрже велике количине етарског уља богатог терпенским једињењима (пиненом и лимоненом) и фенилпропеном еугенолом (Слика 7.20.). Ове супстанце, након уношења храном, покрећу сексуално сазревање код женки и формирање јаја.



Слика 7.20. Лимонен и еугенол из дрвета *Commiphora myrrha* – стимулатори полагања јаја код пустињског скакавца

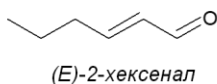
Експериментално је показано да, уколико се младим женкама да као храна само одумируће лишће са малим садржајем етарских уља, полно сазревање бива одложено. Насупрот томе, свеже лишће стимулише полагање јаја већ код веома младих женки (три недеље од последњег пресвлачења). До полагања јаја долази и ако се женке хране осушеним лишћем које је попрскано еугенолом или гиберелинском киселином (биљним хормоном који је у младом лишћу присутан у високим концентрацијама). Ово дефинитивно потврђује да поменута једињења делују као **сигнали за полагање јаја** код пустињских скакаваца.

Слично као скакавци, и мољци *Antheraea polyphemus* могу да се паре само ако је у близини црвени храст (*Quercus rubra*), чијим се лишћем хране ларве овог мољца (Слика 7.21.). То је регулисано тако што испарљиво једињење (*E*)-2-хексенал, који емитује биљка, активира сензорне рецепторе антенâ женке и **стимулише емисију сексуалних феромона** који ће стимулишу мужјака на парење. Присуство храста је индикатор повољних услова за размножавање. Овом адаптацијом, мољац је повећао шансе за опстанак потомства.

Исто тако, жијак *Rhabdoscelum obscurus* не емитује сексуалне атрактанте све док не конзумира биљку-домаћина – шећерну трску. Сматра се да хемијски сигнали из трске **синергистички делују са сексуалним феромонима** жишка, али су потребна додатна истраживања за идентификацију конкретних молекула одговорних за ову интеракцију.



Antheraea polyphemus



Quercus rubra

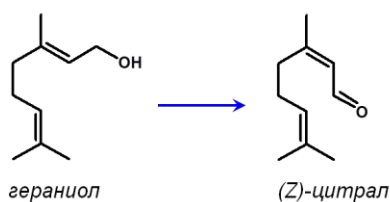
Слика 7.21. Једињење (E)-2-хексенал из црвеног храста које покреће парење мољаца

Један од инсеката који као **феромоне маркирања путање** користи биљна једињења је медоносна пчела (*Apis mellifera*). Она сакупља монотерпен (E)-цитрал (гераниол), који је компонента цветних мириса, концентрише га у свом организму и затим излучује по потреби. Део геранила преводи се у други феромон маркирања путање, (Z)-цитрал (нерал) (Слика 7.22.).

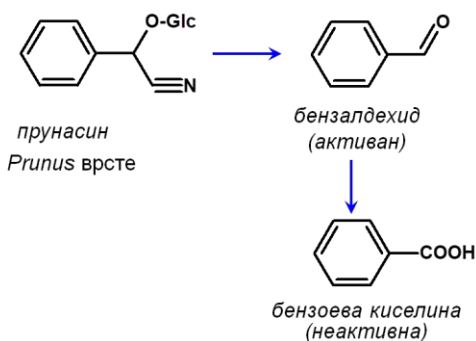
Код пчела рода *Trigona*, сличну функцију има бензалдехид, за који се може претпоставити да потиче од цијаногеног гликозида прунасина (уобичајеног у врстама рода *Prunus*) (Слика 7.22.). Траг од бензалдехида има предност што временом, услед оксидације до бензоеве киселине, губи потентност и нестаје уколико се повремено не „ојача”. На тај начин, инсекти могу да подесе његов интензитет према преосталој количини хране на извору.



Apis mellifera



Trigona fulviventris



Слика 7.22. Једињења из биљака које пчеле користе као феромоне маркирања путање

Инсекти често користе једињења из биљака којима се хране и као своје **алармне феромоне**. Тако опнокрилци (Hymenoptera), у које спадају пчеле, осе и мрави, и врсте из реда Isoptera (термити), као алармен феромоне користе компоненте етарских уља биљака које уносе храном, укључујући цитронелол, цитрал, α -пинен, терпинолен и лимонен. Такође, код биљних ваши је уочено да комплекснији терпеноиди из биљака, као што су сесквитерпени гермакрен А и (*E*)- β -фарнезен, служе као алармни феромони који сигнализирају да је дошло до напада од стране предатора. Јединке које су примиле сигнал брзо се удаљавају са места напада, тј. беже. С обзиром да су ови сигнални сесквитерпени лабилни и да се брзо распадају након што се предатор удаљи, биљне ваши се враћају и настављају са храњењем.

КОМУНИКАЦИЈА ЖИВОТИЊА ПУТЕМ ФЕРОМОНА

08

Феромони, о којима је већ било речи у претходном поглављу, представљају синалне молекуле који учествују у интраспецијској комуникацији, тј. комуникацији између јединки исте врсте, и у том смислу допуњују звучна и визуелна средства размене информација. Аналогно хормонима, који се производе у одређеним ткивима јединке и изазивају одговоре у другим ткивима исте јединке, феромоне лучи једна јединка (емитер), а долази до одговора у другој јединки (реципијенту) (Слика 8.1.). Природа ових одговора може бити различите природе: развојне промене изазване тзв. „*primer*“ феромонима спорог дејства, и промене понашања изазване тзв. „*releaser*“ феромонима брзог дејства.

Феромони су семиохемикалије које преносе информацију, за разлику од алелохемикалија (токсина и сличних једињења) које испољавају директно дејство (одбијање/токсични ефекти, инхибиција развоја/размножавања, привлачење опрашивача, проналажење хране) (Слика 8.1.).



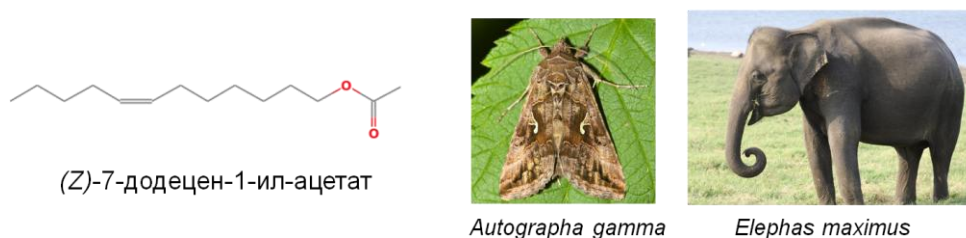
Слика 8.1. Различите улоге семиохемикалија (хормона и феромона) и алелохемикалија

Према функцији и начину деловања феромони се могу поделити у различите групе, као што су феромони за: агрегацију ради храњења,

агрегацију ради одбране (алармни феромони), бежање или борбу са агресором, означавање путање, означавање територије, агрегацију ради парења, означавање места за полагање јаја, привлачења припадника супротног пола ради парења и стимулацију парења (сексуални феромони), избегавање инцеста, стимулацију сисања, координацију репродуктивног циклуса, препознавање припадника друштва, координацију друштва, утицај на развој, детерминацију касте итд.

Феромони се могу састојати од појединачних једињења или њихових смеша константног или комплексног променљивог састава (у случају феромона препознавања, код којих управо разлике у квантитативном односу компоненти носе информацију).

Чини се да је присуство ових једињења у животињском свету универзално. Феромони су до сада идентификовани код великог броја врста, од инсеката до сисара. Занимљиво је да често више врста (понекад чак и из различитих раздела) користе иста или слична једињења као сигналне молекуле, што се може објаснити чињеницом да су основни ензими заједнички за све животиње. Дobar пример су сисар – азијски слон (*Elephas maximus*) и инсекти – мољци (нпр. *Autographa gamma*), који користе (Z)-7-додецен-1-ил-ацетат као сексуални феромон женки (Слика 8.2.).



Слика 8.2. Пример различитих организама који користе исто једињење као сексуални феромон

Док се многи феромони директно емитују у околину (ваздух или воду) и могу прећи велика растојања до емитера, могућа је и контактна хеморецепција – мрави антенама додирују један другог у циљу детекције комплексне смеше једињења на кутикули, одговорне за препознавање припадника колоније. Мужјаци *Danaus gilippus* лептира директно преносе

кристални феромон на антене женки, а мужјаци даждевњака *Plethodon jordani* гликопептидни феромон на ноздрве женке. Код сродног даждевњака *Desmognathus ochrophaeus* уочено је чак директно убризгавање семиохемикалија у крвоток, путем уједања женке.

Детекција хемијских једињења у окружењу – хеморецепција је најстарије од чула и јавља се већ код бактерија. Олфакторни систем већине животиња је комплексан, са широким спектром селективних рецептора, што им омогућава детекцију и разликовање великог броја једињења која се могу наћи у животној средини. Многе животиње стога користе хемијске информације да лоцирају потенцијалне изворе хране или детектују предаторе. Стога се може очекивати да ће оне бити способне да региструју и једињења синтетисана (не нужно у циљу комуникације) од стране припадника исте врсте. Емитована једињења заправо могу представљати хормоне, метаболите изгубљене кроз пермеабилне мембране, отпадне производе метаболизма емитера, супстанце ослобођене при повреди, компоненте биљке којом се емитер храни итд. Уколико детекција („прислушкивање”) ових једињења може обезбедити предност рецепијенту (ефикасније проналаже партнера, хране и сл.), природном селекцијом биће фаворизоване јединке код којих је експресија рецептора за ова једињења израженија. Временом може доћи до еволуирања сензорних органа и нервних центара специјализованих за детекцију ових сигналних молекула (који понекад могу и изгубити првобитну функцију).

Феромони су активни при изразито малим концентрацијама (amol/L), што значи да је и њихова количина у телима животиња изузетно мала. Ова чињеница значајно отежава процес њихове изолације и идентификације, захтевајући коришћење савремених аналитичких метода високе осетљивости и велике количине узорка. На пример, за изолацију само 1,5 mg феромона из мољаца било је потребно прикупити готово милион јединки. Овај податак илуструје колико је проучавање хемијске природе и функције феромона сложено.

Феромони су најдетаљније проучавани код инсеката, иако су заступљени код свих врста животиња. Разлог за то су техничке природе (њихово дејство је знатно једноставније за праћење него код, на пример,

сисара), као и потенцијални економски значај добијених резултата, с обзиром на могућност примене у контроли инсеката-штеточина у пољопривреди.

8.1 ФЕРОМОНИ ИНСЕКТА

Феромони се лучше у разноврсним егзокриним жлездама инсеката и најчешће су испарљива једињења која се преносе на друге јединке путем ваздуха. Нека од ових једињења делују већ при екстремно ниским концентрацијама (у неким случајевима је неколико молекула довољно да изазове одговор) и могу бити ефикасна на великим раздаљинама. На пример, женка свилене бубе емитује феромоне који формирају „активну зону” ширине преко 100 m и дужине неколико километара (низ ветар). Мужјаци који уђу у ову зону детектоваће сигналне молекуле већ при концентрацији од 100 молекула по mL (тј. реда величине 10^{-1} amol/L).

Да би једињења била активна у оваквим условима, морају бити високоиспарљива и имати ниску молекулску масу. Због тога већина феромона представља једноставне деривате угљоводоника са 5–20 угљеникових атома и молекулском масом између 80 g/mol и 300 g/mol.

Међу најважнијим феромонима инсеката налазе се:

- Полни феромони – сигнализирају спремност за парење и привлаче припаднике супротног пола;
- Феромони агрегације и маркирања домаћина – доводе до груписања јединки оба пола око емитера ради одбране од предатора, синхронизације размножавања или бољег искоришћења хране;
- Маркери путање – које друштвени инсекти користе да обележе путању од колоније до извора хране;
- Феромони препознавања – омогућавају друштвеним инсектима идентификацију врсте, подврсте, колоније, јединке, пола, старости и друштвеног статуса (каста);
- Алармни феромони – емитују се када је јединка или група нападнута, изазивајући одговор у виду бекства или агресивног понашања;
- Прајмери – иницирају промене у развоју, припремајући инсекта, на пример, за парење.

8.1.1. Сексуални феромони инсеката

Под појмом сексуални феромони подразумевају се једињења која женка лучи како би привукла мужјака са удаљености и иницирала парење, као и једињења која мужјак лучи како би женку навео на парење. Ово је најдетаљније испитана класа феромона; само у реду *Lepidoptera* (лептири и мољци) идентификовани су феромони код више од 500 врста.

Структурно најједноставнији сексуални атрактант је валеријанска (пентанска) киселина, пронађена код женке тврдокрилица *Limonijs californicus* (Слика 8.3.). Генерално, већина сексуалних феромона припада групи дуголанчаних незасићених алкохола, њихових ацетата, или карбоксилних киселина (Слика 8.3.). Ова једињења се обично синтетишу у инсекту из масних киселина као прекурсора, док мали број сексуалних феромона (пиролизидински алкалоиди код лептира монарха и терпеноиди код поткорњака) потиче из биљне хране.

Један од најпознатијих примера сексуалних феромона је (*E*)-9-оксо-2-деценска киселина („queen substance”), која је главна компонента (око 70 %) феромона којим матица медоносне пчеле (*Apis mellifera*) привлачи трутове (Слика 8.3.). Занимљиво је да веома слично једињење, 9-хидрокси-2-деценска киселина, има потпуно другачију функцију – обликује и стабилизује рој пчела радилица. Генерално, рецептори за феромоне веома су специфични, и мале структурне промене (нпр. померање или изомеризација двоструке везе) смањују, поништавају или мењају активност феромона.

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
валеријанска к.

Limonijs californicus
женски



$\text{CH}_3\text{CO}(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CHCOOH}$
(*E*)-9-оксо-2-деценска к.

Apis mellifera
женски



$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{OAc}$
(*Z*)-8-додеценил-ацетат

Grapholitha molesta
женски



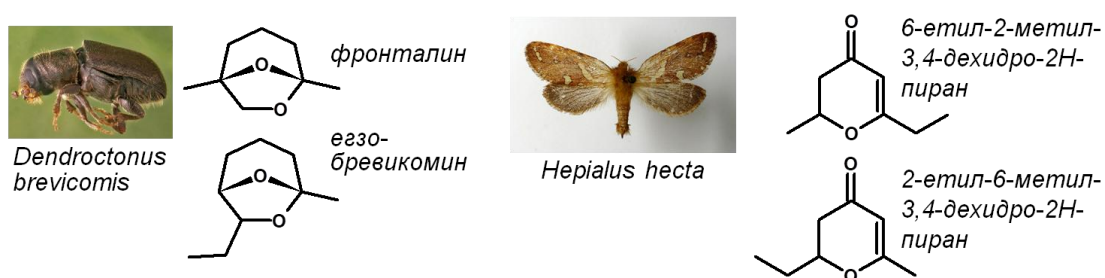
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{10}\text{OAc}$
(*Z*)-11-октадеценил-ацетат

Lycorea ceres ceres
мушки



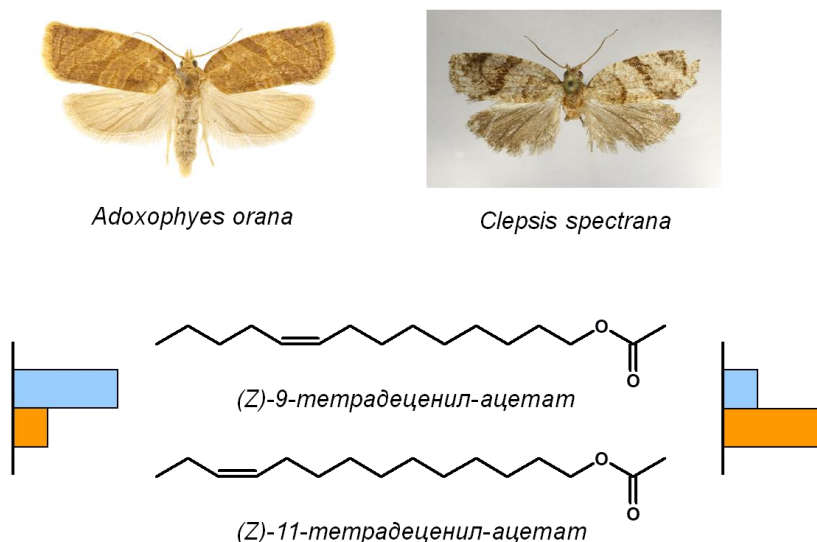
Слика 8.3. Примери сексуалних феромона код инсеката

Поред линеарних алкохола, естара и киселина, код неких инсеката и циклична једињења показују феромонску активност. Ту спадају феромони поткорњака *Dendroctonus brevicomis* (енг. *pine bark beetle*) фронталин и егзо-бrevикомин (Слика 8.4.). Мужјак мољца *Herpialus hecta* лучи пиранска једињења (мириса на дивље јагоде или ананас) (Слика 8.4.), заједно са још два сложенија бициклична производа, у циљу привлачења женке. Будући да су ови инсекти активни ноћу, те се не могу ослонити на визуелну сигнализацију, хемијска комуникација је од пресудног значаја.



Слика 8.4. Примери цикличних сексуалних феромона код инсеката

Код сваке врсте инсеката, која користи смешу једињења као феромон, квалитативни и квантитативни састав смеше је строго дефинисан. У случају сродних врста, састав може бити сличан. Пример за то су мољци *Clepsis spectrana* и *Adoxophyes orana*, из фамилије Tortricidae. Женке ових врста користе као феромоне (Z)-9- и (Z)-11-тетрадеценил-ацетат. Међутим, мужјаци ових врста могу препознати квантитативне разлике у саставу, тј. однос ова два једињења. Женке *C. spectrana* користе однос 1:3, док *A. orana* користе 3:1 (Слика 8.5.).



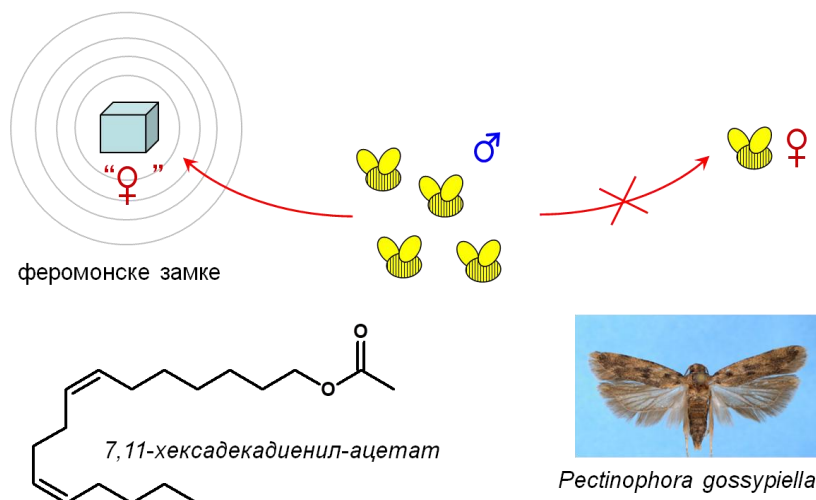
Слика 8.5. Различите врсте инсеката које као феромон користе смешу истог квалитативног али различитог квантитативног састава

Феромони се успешно примењују у контроли штетних инсеката у пољопривреди. Један од основних приступа подразумева употребу замки које садрже сексуалне феромоне женки или феромоне агрегације. Ови феромони привлаче инсекте, који затим бивају заробљени или онемогућени да пронађу партнера, што смањује њихову репродукцију. Други метод подразумева лепљење атрактаната женки за тело мужјака. То привлачи друге мужјаке да га прате уместо женки, што додатно ремети процес парења. Још једна техника обухвата коришћење испарљивих органских једињења која неутралишу ефекте феромона, чиме се омета комуникација између јединки.

Иако су ови поступци веома селективни, економични и једноставни за употребу, они имају одређена ограничења. Њихова ефикасност зависи од временских услова, могу привући инсекте и из удаљенијих региона (који иначе не би нападали дату локацију) и делују углавном само на јединке једног пола и само на одрасле примерке.

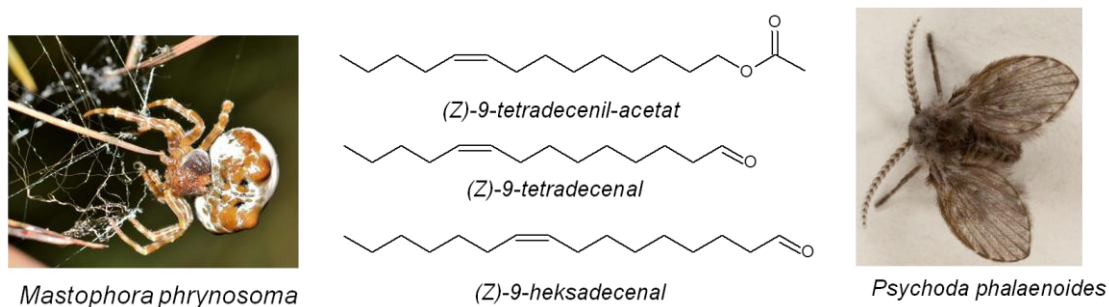
Ипак, постоје примери успешне примене феромона и њихових синтетичких аналога у заштити биља од инсеката-штеточина. Један од њих је примена 7,11-хексадекадиенил-ацетата (Gossyplure), који ремети нормалну комуникацију између одраслих јединки памуковог мољца (*Pectinophora gossypiella*), чија ларва напада памук (*Gossypium hirsutum*)

(Слика 8.6.). Поремећај у комуникацији спречава размножавање штеточина што доприноси очувању усева.



Слика 8.6. Феромонске замке које се користе у пољопривреди за смањење популације штеточина

Интереснатно је да некада једна врста животиња производи једињења која делују као феромони код друге врсте, како би привукла припаднике те врсте као плен. Пример су паукови болаши (трибус Mastophoreae), који свој плен – *Psychoda* мољце – лове лепљивим „болама“ уместо уобичајеном мрежом. Они производе мирис, односно феромоне женке мољца – (Z)-9-тетрадеценил-ацетат, (Z)-9-тетрадеценал и (Z)-9-хексадеценал – у циљу привлачења мужјака мољца као плена (Слика 8.7).



Слика 8.7. Паук *Mastophora phrynosoma* производи сексуалне феромоне женке мољца како би привукао мужјаке мољца као свој плен

8.1.2. Феромони маркирања путање

Феромони маркирања путање (енг. *trail pheromones*) код друштвених инсеката служе за формирање мирисног трага који припадници исте врсте прате од гнезда до извора хране и назад. Карактеристични су за мраве,

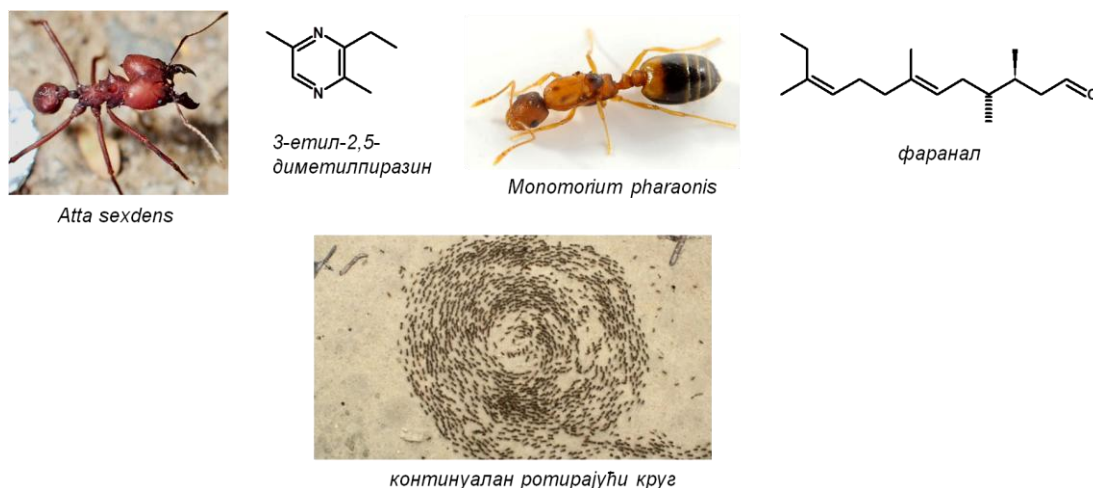
термите и пчеле. Ови инсекти, при повратку у колонију са сакупљеном храном, остављају мирисни траг који усмерава остале јединке ка извору. Докле год има хране, траг се обнавља; када хране понестане, траг се губи услед испаравања и престанка обнављања.

Структурно, феромони маркирања путање су веома разноврсни. На пример, мрави-баштовани *Atta texana* и *Atta cephalotes* продукују метил-4-метилпирол-2-карбоксилат (Слика 8.8.), једињење које могу детектовати у изузетно ниским концентрацијама (80 fg/cm трага, односно $3,5 \cdot 10^8$ молекула по cm трага; што значи да би 0,33 mg било довољно за формирање детектујућег трага око целе планете). Биогенетско порекло овог једињења није потпуно разјашњено, али се претпоставља да настаје из триптофана под утицајем цревне микробиоте. Утврђено је да и друге врсте мрава из трибуса Attini могу детектовати и пратити траг овог једињења, док га мрави из других трибуса игноришу.



Слика 8.8. Феромон маркирања путање код мрава *Atta cephalotes*

И код других врста мрава идентификовани су феромони маркирања путање. 3-етил-2,5-диметилпиразин пронађен је код осам врста црвених мрава (род *Myrmica*), као и код мрава-баштована *Atta sexdens* (Слика 8.9.). Код жутог (фараонског) мрава (*Monomorium pharaonis*) идентификовани су пиролдински алкалоиди, али се чини да је најактивнија компонента дуголанчани алдехид 3,4,7,11-тетраметил-6,10-тридекадиенал (фаранал) (Слика 8.9.).



Слика 8.9. Феромони маркирања путање код мрава и ротирајући круг који настаје када група мрава изгуби главни траг

У вези са феромонима за маркирање путање, занимљив је феномен кругова или спирала смрти (енг. *ant death circles*, *ant death spirals*, *ant mills*), који се јавља код мрава-легионара. Целе колоније ових мрава током дана путују и лове плен (инсекте и њихове ларве, паукове, мале кичмењаке, глисте итд.), одржавајући путању помоћу феромонских трагова. Међутим, дешава се да група изгуби главни траг, те мрави почињу да прате један другог, формирајући континуалан ротирајући круг, све док не угину услед исцрпљености.

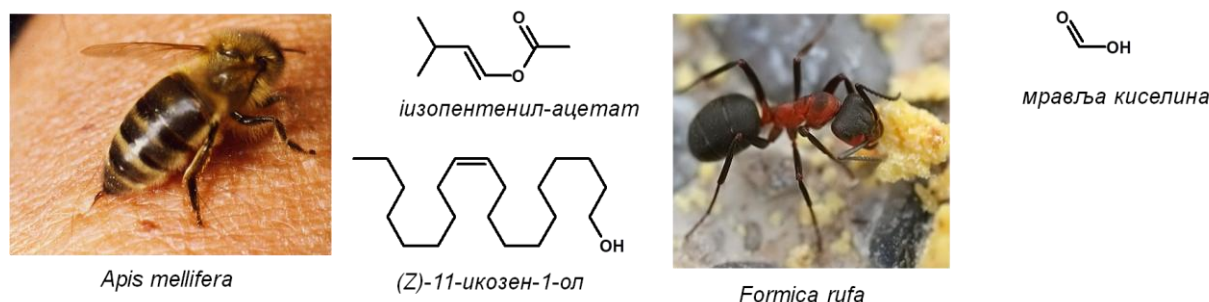
8.1.3. Алармни феромони

Алармни феромони, који изазивају реакцију борбе или бекства код реципијента, највероватније су еволуирали из хемијских једињења која ослобађају јединке у стресним ситуацијама, као што су напад или повреда. Такође, одбрамбене супстанце, попут токсина и репелената, могу временом попримити и сигналну функцију. На пример, код већине мрава, иста једињења служе и за одбрану од нападача и као алармни феромони. Они узбуђују и регрутују остале припаднике колоније како би заједнички одговорили на опасност. У овим случајевима, хемијске супстанце које првобитно нису имале комуникацијску улогу, постале су кључни сигнали за упозоравање припадника исте врсте на опасност, што повећава шансе за опстанак целе популације.

Алармне феромоне инсект емитује када је нападнут, и то код других јединки доводи до иницирања бекства (као код биљних ваши) или напада (код мрава, термита, пчела). Ова једињења се најчешће производе и луче помоћу чељусних или аналних жлезда, као и отровне жаоке, а њихова продукција је често повезана са синтезом одбрамбених супстанци.

Већина алармних феромона релативно је једноставног састава. Код неких врста мрава, алармни феромони се састоје од једноставних угљоводоника као што су ундекан, тридекан, пентадекан, док код других врста у састав феромона улазе оксигеновани деривати ових угљоводоника (алдехиди или кетони). Такође, у састав алармних феромона често улазе и испарљива једињења биљака којима се инсекти хране, а која се у њима акумулирају (види поглавље 7.1.3.).

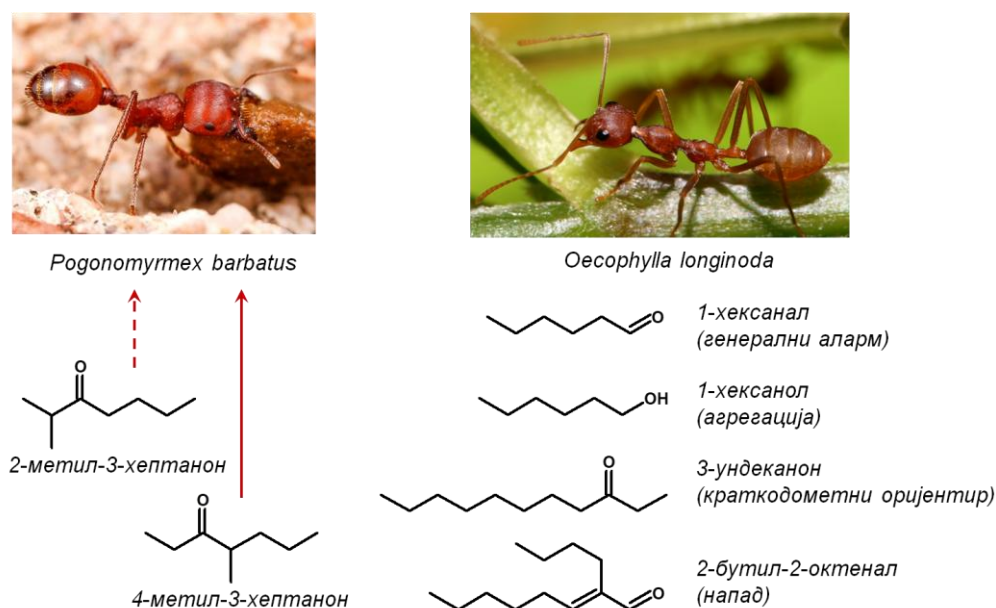
Код друштвених инсеката, као што су мрави, осе и пчеле, се приликом напада на агресора (уједања или убадања жаоке), заједно са отровом, ослобађа и алармни феромон, који маркира место убода и животињу као агресора, и истовремено позива друге припаднике колоније, да дођу као појачање и нападну на исто место. Код пчела (*Apis mellifera*), у састав овог алармног феромона жаоке (енг. *sting alarm pheromone*) улазе изопентенил-ацетат и (Z)-11-икозен-1-ол, док је код мрава рода *Formica*, мравља киселина истовремено и одбрамбена супстанца и алармни феромон (Слика 8.10.).



Слика 8.10. Алармни феромони код пчела и мрава који се ослобађају приликом напада на агресора

Чини се да су алармни феромони најнеспецифичнији сигнални молекули код инсеката, јер није неуобичајено да више врста из истог или чак различитих родова користе исти сигнал. Међутим, утврђено је да мрави

препознају сопствене алармне феромоне са високом специфичношћу и разликују их од свих осталих структурно сличних једињења. На пример, црвени мрав *Pogonomyrmex barbatus* је 10 000 пута осетљивији према 4-метил-3-хептанону него према синтетском 2-метил-3-хептанону (Слика 8.11.). Такође, алармни феромони мрава могу пренети значајну количину информација. На пример, утврђено је да алармни секрет мрава *Oecophylla longinoda*, који лучи када је нападнут од стране предатора, садржи четири оксигенована угљоводоника различите испарљивости (Слика 8.11.). Најиспарљивије једињење, 1-хексанал, узбудиће околне мраве, које затим 1-хексанол привлачи према месту борбе. Маркер уједања, 2-бутил-2-октенал, изазива их затим да нападну предатора. Последње једињење, 3-ундеканон, помаже у оријентацији на кратким растојањима. Дакле, лучење алармног феромона доводи до добро координисаног низа ефеката у циљу ефикасне одбране колоније.



Слика 8.11. Висока специфичност мрава према алармном феромону (лево); свака компонента алармног феромона носи другу информацију (десно)

Сигнал такође може имати различит ефекат на припаднике различитих касти. На пример, код биљних ваши *Ceratovacuna lanigera*, алармни феромони (које може лучити било која јединка), код већине јединки иницирају бекство, али код касте војника – специјализованих нимфи радника – иницирају напад на агресора.

8.1.4. Феромони препознавања

Најсложеније заједнице у животињском свету сусрећу се код друштвених инсеката и неких врста сисара. Појединци у тим заједницама комуницирају кроз мрежу хемијских сигнала, укључујући и јединствени „мирисни потпис” (феромон препознавања) који омогућава идентификацију припадника групе и обезбеђује појединцу приступ групи. Хемијски профил овог „потписа” је изузетно сложен и варијабилан (што је доказано гасно-хроматографским анализама), за разлику од релативно једноставних сексуалних и других феромона. Таква сложеност омогућава пренос вишеслојних порука, које укључују податке о врсти, подврсти, колонији, полу, касти (друштвеној улози) и фази развоја, као и јединствену идентификацију јединке.

Препознавање сродника или припадника групе централно је за друштвено понашање и опстанак заједнице, без обзира да ли група броји неколико или неколико милиона чланова. Уобичајено је да припадници колоније спрече улазак појединаца из других колонија исте врсте, или чак нападну уљезе. Типичан пример оваквог понашања су медоносне пчеле (*Apis mellifera*). Пчеле-стражарице на улазу кошнице користе своје антене и усне ножице да провере „мирисни потпис” на кутикули сваке пчеле која покуша да уђе. Ако он није препознат као одговарајући, придошлица ће бити нападнута. Овакви стражари нађени су у колонијама многих врста мравца, термита, пчела и оса, и представљају прву линију одбране од уљеза који би могли угрозити залихе хране, ларве или чак цео опстанак заједнице.

У случају пчела, једна матица обично се пари са до 20 трутова, те се колонија састоји од радилица које су сестре или полусестре. Поставља се питање: како стражарице разликују припаднике колоније од странаца, будући да се и сами припадници генетски разликују? Мирисне компоненте на површини пчеле потичу из два извора: кутикуларних феромона, које сама пчела лучи и који су генетски контролисани, и једињења преузетих из воска који чини структуру кошнице. Восак садржи феромоне других јединки у колонији, као и цветне мирисе које пчеле доносе током сакупљања хране. Сам восак је комплексна смеша састављена од естара виших алкохола (C_{30} – C_{32}) и виших масних киселина (целотинске,

палмитинске, палмитолеинске, хидроксипалмитинске, олеинске), коју синтетишу радилице. Свака радилица која дође у контакт са овим воском имаће коначни мирис карактеристичан за дату колонију и биће надаље означена као припадник колоније. Експериментално је потврђено да ако пчела дође у контакт са другом пчелом која има мирис воска различит од оног на који је навикла, најчешће ће реаговати агресивно, сматрајући је странцем.

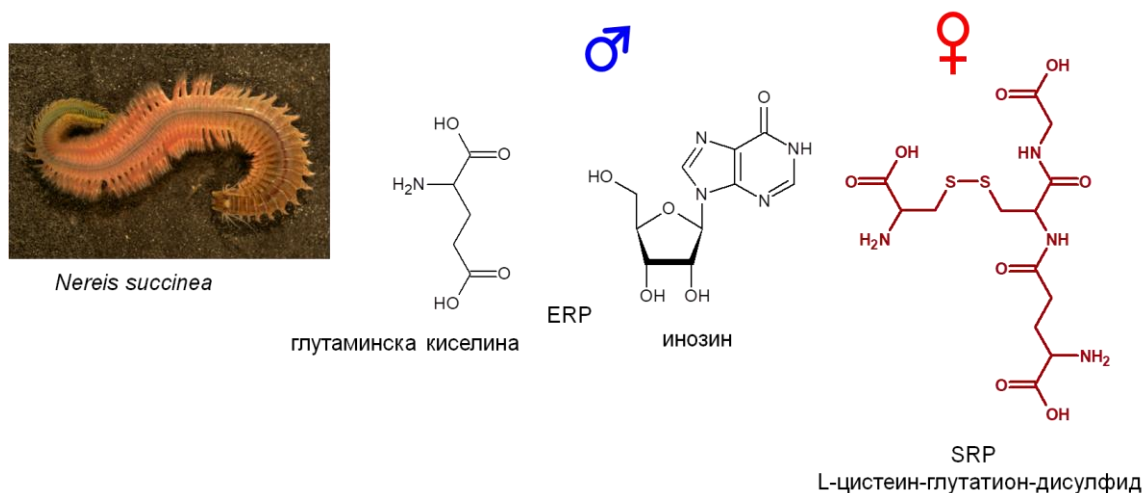
Ситуација код друштвених оса (као што је *Polistes fuscatus*) је слична. Оне као феромоне за препознавање користе секрет на бази угљоводоника, којим облажу осинак. Чим изађе из лутке, млада оса долази у контакт са овим једињењима и учи њихов „отисак прста,” који касније користи за препознавање других јединки. Профил угљоводоника је генетски условљен и специфичан за дату колонију. Осе су толерантније од пчела – довољно блиски сродници („тетке,” „нећаке”) могу имати довољно сличан профил да буду прихваћени у кошницу.

Код мрава, због ограничене могућности облагања гнезда мирисним материјама, пренос ових супстанци врши се физичким контактом између припадника колоније. Новоизлежени радници постепено стичу карактеристичан мирис своје колоније пажљивим интеракцијама са старијим јединкама.

8.2 ФЕРОМОНИ ВОДЕНИХ ЖИВОТИЊА

Код водених организама који се ослањају на екстерну оплодњу (када мужјак и женка испуштају полне ћелије – гамете – директно у воду), као што су морски црви, морски краставци, рибе и слично, феромони играју кључну улогу у синхронизацији ослобађања гамета. Иако оплодња не захтева директан контакт, мужјак и женка морају бити што ближе, јер сперматозоиди живе кратко и брзо се разређују у води. Како би се обезбедило да парење буде успешно, што је нарочито важно код врста као што су нерее (морски чланковити црви из породице Nereididae), које умиру након парења, важно је да процес мреста буде добро синхронизован. Хемијски сигнали од стране припадника оба пола, овде имају кључну улогу. Код *Nereis succinea* (Nereididae) парење наступа у пролеће или почетком

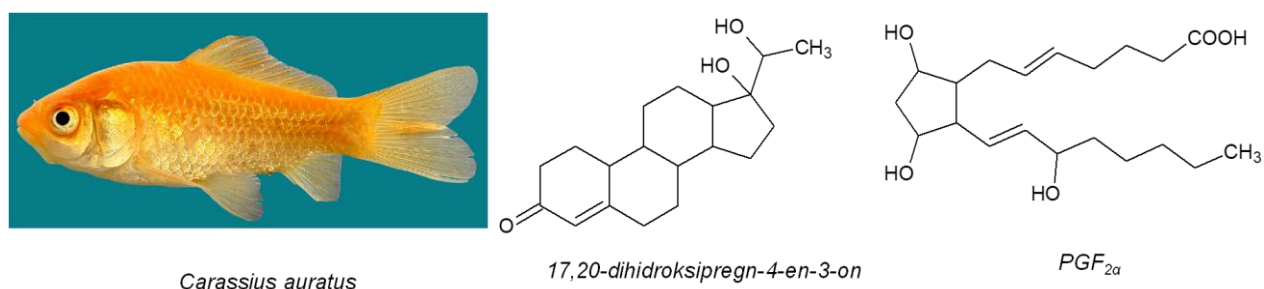
лета. Припадници оба пола развијају „ножице” за пливање, напуштају дно и одлазе до површине. Женка споро плива у круг и емитује сексуални феромон (енг. *mate-recognition-pheromone*, MRP). Овај феромон привлачи мужјака, који почиње да плива око женке, ослобађајући мале количине сперме и течности из телесне дупље, које садрже и феромон ослобађања јаја (енг. *egg-release-pheromone*, ERP), укључујући инозин, L-глутаминску киселину и L-глутамин (Слика 8.12.). Под утицајем ERP, женка плива око мужјака и лучи облак јаја и течности телесне дупље, која садржи феромон ослобађања сперме (енг. *sperm-release-pheromone*, SRP), L-цистеин-глутатион-дисулфид (CSSG) (Слика 8.12.). На крају, под утицајем SRP, мужјак плива кроз облак јаја и лучи велике количине сперме, чиме се завршава оплодња.



Слика 8.12. Пример различитих организама који користе исто једињење као сексуални феромон. ERP - феромон ослобађања јаја; SRP - феромон ослобађања сперме

Синхронизована екстерна оплодња добро је проучена и код златне рибице (*Carassius auratus*). У синхронизацији учествују феромони који су еволуирали из полних хормона. Мужјак је веома осетљив (праг осетљивости реда pmol/L) на стероиде, простагландине и њихове метаболите које луче женке. Концентрација ових једињења у води одражава њихову концентрацију у крвотоку женке, а тиме и њену спремност за парење. Вече пред полагање јаја, концентрација (17 α OH,20R)-17,20-дихидроксипрегн-4-ен-3-она (17 α ,20 β -P) (Слика 8.13.) у крви женке расте, и ово једињење дифундује у околну воду где га региструје олфакторни систем мужјака. Ово стимулише синтезу мушког гонадотропног хормона (GtH), који даље

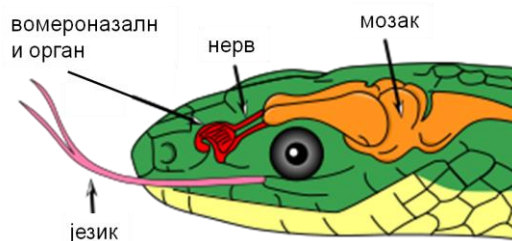
стимулише синтезу $17\alpha,20\beta$ -P у тестисима и продукцију сперматозоида. $17\alpha,20\beta$ -P делује, дакле, као феромон прајмер – припрема мужјака за процес оплодње. Следећег дана, приликом овулације, јаја у репродуктивном тракту женке стимулишу продукцију простагландина $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Слика 8.13.), који даље стимулише мрест (избацивање икре у воду). $\text{PGF}_{2\alpha}$ и његови метаболити (15-кето- $\text{PGF}_{2\alpha}$) дифундују у околину, и код мужјака такође иницирају парење (избацивање сперматозоида у воду, који се спајају са јајима).



Слика 8.13. Сексуални феромони код златне рибице који су еволуирали од полних хормона

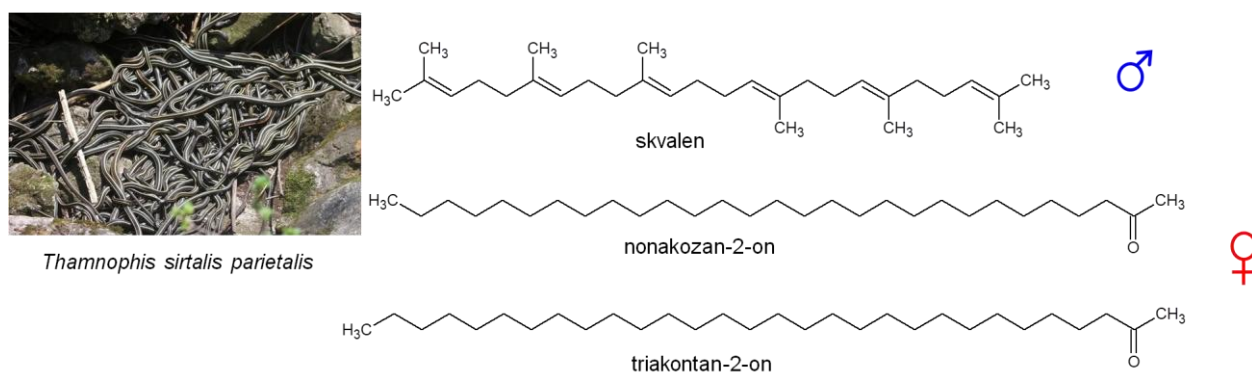
8.3 ФЕРОМОНИ ОСТАЛИХ ЖИВОТИЊА И ЧОВЕКА

Код гмизаваца, феромони омогућавају препознавање полних партнера, регулисање репродуктивног понашања, обележавање територије и избегавање конкуренције. Феромоне детектује вомероназални орган (или Јакобсонов орган) који је веома развијен код гмизаваца, нарочито змија (Слика 8.14.). Овај орган представља малу структуру повезану са носном шупљином и обложену вомероназалним рецепторским ћелијама које су веома осетљиве на хемијске супстанце из окружења. Змије и гуштери, често палацају језиком да би сакупили молекуле из окружења и пренели их до овог органа. Функција овог органа је да детектује хемијске сигнале и омогући ефикасно препознавање потенцијалних партнера, непријатеља, плена, или других појава у окружењу.



Слика 8.14. Вомероназални орган гмизаваца

Феромони код гмизаваца имају нарочито значајну улогу у репродуктивном процесу. Мужјаци и женке често користе специфичне смеше липида и других хемијских једињења како би међусобно сигнализирали спремност за парење, док поједине врсте примењују чак и тактике обмане кроз имитацију феромона супротног пола. Када женка змије равничарске црвеностране подвезице (*Thamnophis sirtalis parietalis*, Colubridae) након презимљавања изађе из гнезда, бива окружена „крупком“ (енг. *mating ball*) састављеним од великог броја (10–100) мужјака. Мужјаци успешно игноришу једни друге, а препознају женку захваљујући хеморецепцији – језиком сакупљају липиде који покривају кожу других змија и преносе их на вомероназални орган. У кожи женке налази се феромон препознавања сачињен од специфичне смеше липида (нонакозан-2-он, триаконтан-2-он, хентриаконтан-2-он, дотриаконтан-2-он, тритриаконтан-2-он, хептатриаконтан-28-ен-2-он и слична једињења), док је код мужјака то сквален (Слика 8.15.). Када мужјак-победник приступи парењу са женком у центру „крупке“, он емитије феромоне који наводе остале мужјаке да се разиђу и чекају следећу женку.



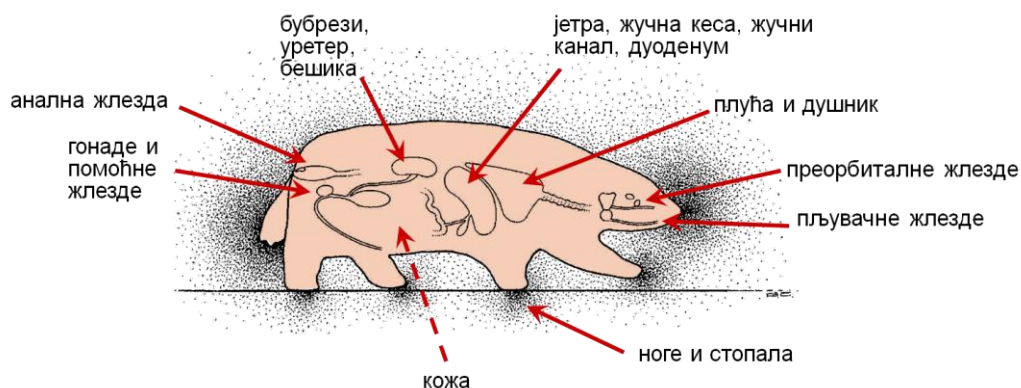
Слика 8.15. Феромони препознавања у кожи змија

Занимљиво је да у ~15 % случајева у центру није женка, већ мужјак. Наиме, у тренутку изласка из хибернације, мужјаци су спори и нису способни за компетитивно понашање. Зато они продукују женске феромоне, а не синтетишу сквален, чиме имитирају женке. На тај начин привлаче друге мужјаке и одвлаче их далеко од женки, елиминишући

конкурвенцију, након чега се брзо враћају када женке почну да излазе из хибернације.

Сисари се приликом комуникације првенствено ослањају на визуелне и аудиторне сигнале. Међутим, бројна опажања и експериментални резултати потврђују значај комуникације путем испарљивих једињења и код ове класе животиња. На пример, утврђено је да код женки мишева и пацова (*Mus spp.*, *Rattus spp.*) присуство мужјака (детектовано преко мириса урина) индукује и убрзава еструсни циклус, док га груписање са другим женкама, у одсуству мужјака, потискује. Једна од предности хемијске размене информација, у поређењу са визуелном и аудиторном, је чињеница да се овакви сигнали задржавају (бар неко време) и након одласка животиње-емитера, што је нпр. важно код обележавања територије. Треба напоменути да је знање о феромонима сисара још увек доста ограничено.

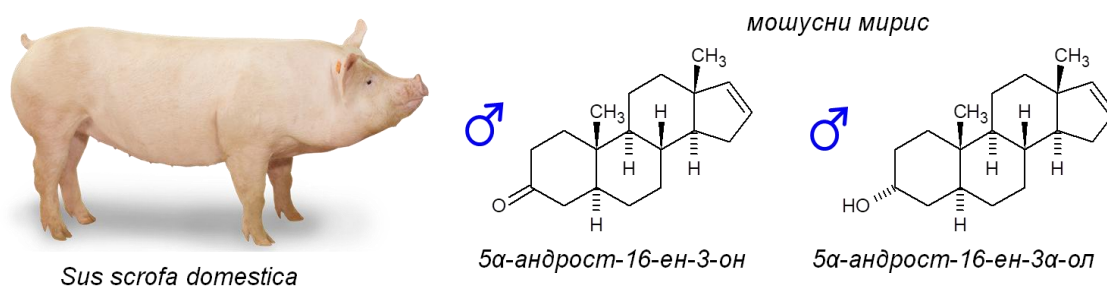
Као и код инсеката, велики број различитих анатомских структура може имати улогу у продукцији сигналних молекула (Слика 8.16). Сисари користе хемијске сигнале да пренесу информације о полу, старости, идентитету, расположењу, друштвеном положају итд. Једињења која учествују у овим интеракцијама покривају широк спектар структурних класа.



Слика 8.16. Органи сисара који продукују феромоне

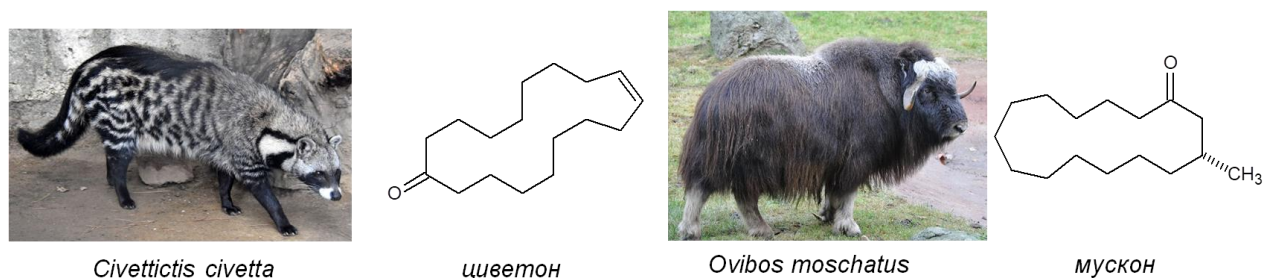
За означавање фазе еструса (спремности за парење) већина сисара користи слична једињења, структурно слична полним хормонима. Један од најбоље проучених случајева је свиња (*Sus scrofa domestica*). Мужјак оглашава спремност за парење емисијом смеше 5 α -андрост-16-ен-3 α -ола и

3-оксо-деривата (Слика 8.17.), два стероида структурно слична мушким полним хормонима – андростерону и тестостерону. Уочено је да ова једињења код женке индукују еструс („терање”) и постављање у позицију за парење, чак и у одсуству мужјака.



Слика 8.17. Органи сисара који продукују феромоне

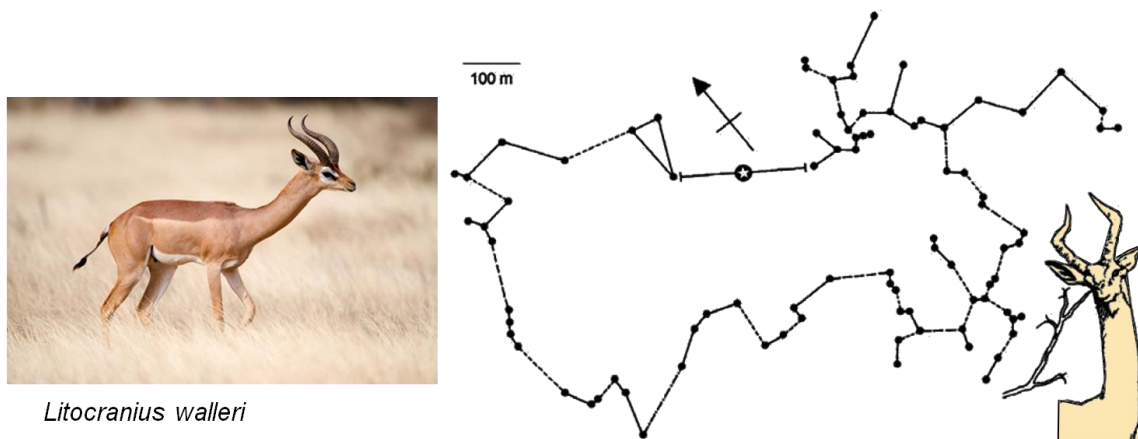
Наведена два једињења имају јак мошусни мирис. Такође, циветон из секрета цибетке (*Civettictis civetta*) и мускон из секрета мошусног говечета (*Ovibos moschatus*) имају карактеристичан мошусни мирис, па се претпоставља да имају сличну функцију. У случају циветона, запажа се и структурна сличност са наведеним андростеноном.



Слика 8.18. Једињења мошусног мириса из цибетке

Поред феромона за означавање фазе еструса, односно спремности за парење, код сисара су нарочито значајни феромони везани за обележавање територије. Наиме, многи сисари показују територијално понашање, тј. присвајају (као појединци или група) и бране одређен део простора где се хране и/или имају своје јазбине. Коришћењем феромона они упозоравају друге припаднике исте врсте да је територија окупирана и брањена. Иако сисари поседују широк спектар различитих секреторних структура за лучење семио-хемикалија, образац маркирања је сличан: секрет, често заједно са изметом и урином, наноси се на лако уочљива места унутар територије, обично дуж стаза или граница.

Пример за овакво понашање је жирафа-газела (*Litocranius walleri*), која секретом анторбиталних жлезда означава гранчице дрвећа на рубовима своје територије (Слика 8.19.). Мужјаци то чине чешће од женки, нарочито доминантни мужјаци.



Слика 8.19. *Litocranius walleri* обележава територију секретом анторбиталних жлезда

Миришне ознаке имају значајну предност у односу на друге облике комуникације, јер раздвајају емитера и сигнал – порука се задржава и након одласка животиње-емитера. Ипак, маркирање може захтевати знатна улагања времена и енергије. Афричка антилопа ориби (*Ourebia ourebi*), на пример, проводи чак 35 % свог времена обележавајући територију. Феромони маркирања територије дају сигнал другим јединкама исте врсте да је територија заузета, тј. да одређена јединка или група успешно доминира датом територијом током дужег времена. Реакција „уљеза” на миришне ознаке може бити различита. У већини случајева, животиње не избегавају туђе територије, што указује да сврха ових ознака није одбијање посетилаца, већ идентификација власника територије. Уколико посетилац сретне власника (који је и сам обележен истим феромоном), избегаваће сукоб који би вероватно изгубио, јер власник агресивно брани своје подручје. На овај начин, време и енергија утрошени на маркирање вишеструко су исплативи, јер спречавају конфликте, повреде или смрт.

Код врста које живе под земљом, где је бекство теже и вероватноћа повреде велика (на пример, код европске кртице, *Talpa europaea*), мужјаци у потпуности избегавају туђе јазбине. Са друге стране, код неких врста,

мирисне ознаке чак делују као атрактанти, јер указују на окружење погодно за живот дате врсте.

Будући да и човек (*Homo sapiens sapiens*) спада у сисаре, може се очекивати да ће и код њега неки аспекти понашања и физиологије бити под утицајем феромона. За разлику од већине примата, човек поседује мирисне жлезде испод пазуха. Такође, по броју знојних и лојних жлезда, надмашује остале примате. Ове жлезде производе сложену смешу једињења која може бити јединствена за сваку особу, што указује да може да има улогу у идентификацији јединке и хемијској комуникацији.

Ипак, код савременог човека чуло мириса је маргинализовано и придаје му се мањи значај у односу на друга чула. Такође, улога вомероназалног органа, који је веома развијен код гмизаваца и неких сисара, код примата и човека је редукована или непостојећа.

Поред тога, у последњим вековима у западним друштвима постоји тренд сузбијања и прикривања природних мириса, који се често сматрају непријатним, употребом синтетичких мириса. Упркос тим културолошким факторима, природни мириси имају биолошку, подсвесну улогу у сексуалној привлачности.

Први покушаји идентификације хуманих феромона, током 1970-их година, сугерисали су да је 3 α -андростенол потенцијални женски феромон, а андростенон мушки. Иако ова једињења имају јасне ефекте код свиња, код човека још увек нема задовољавајућих доказа за њихову ефикасност.

Још једна претпоставка везана за људске феромоне односи се на утицај индивидуалних мириса на препознавање мајке и новорођенчета, као и на избор партнера. Претпоставља се да су ови мириси повезани са генима за МНС (енг. *Major Histocompatibility Complex*) протеине, високо варијабилном фамилијом гена која има улогу у имуном систему. Код човека, ова фамилија је позната као хумани леукоцитни антиген (енг. *Human Leukocyte Antigen* – HLA) и обухвата више од 200 гена.

У контролисаним експериментима, показано је да мишеви и пси могу да разликују мирисе јединки са бар једним различитим МНС геном. Слично, људи могу разликовати телесне мирисе других људи који имају другачији МНС профил. Када су јединке генетски идентичне (нпр. код идентичних

близанаца), разлике у мирису су одсутне или минималне, што је потврђено у студијама где су испитаници на основу мириса мајица препознавали разлике у МНС профилима.

Такође је утврђено да новорођенче препознаје мајку управо на основу њеног индивидуалног мириса. Још једна функција ових мириса је избор генетски различитог партнера, чиме се избегава инцест. На пример, код мишева је утврђено да у 100 % случајева избегавају парење са непосредним сродницима и у 50 % са блиским сродницима.

Међутим, тачан механизам везе између МНС и мириса још увек није познат. Иако протеини кодирани МНС генима нису испарљиви и не могу директно служити као феромони, могуће је да њихови фрагменти (продукти метаболизма) у урину и зноју или метаболити микробиоте (на кожи, знојним жлездама, усној шупљини, гениталном и уринарном тракту) испољавају поменуто активност.

Познато је да жене које током више месеци живе заједно и међусобно интерагују могу под одређеним условима развити синхронизоване менструалне циклусе. Претпоставља се да су феромони одговорни за ову појаву и да омогућавају да циклуси других жена „сустигну” циклус посматране жене. У експериментима у којима су коришћени секрет потпазушних жлезда, утврђено је да испарљива једињења излучена у касној фоликуларној фази код других жена изазивају пораст концентрације лутеинизирајућег хормона (LH), стимулишу овулацију и скраћују менструални циклус. Насупрот томе, секрет жена у фази овулације има супротан ефекат. Претпоставља се да постоје два феромона са супротним деловањем, али они још увек нису идентификовани. Такође, доказано је да екстракт мушког зноја доводи до стабилизације трајања менструалног циклуса на око 28 дана код жена са изузетно дугим или кратким циклусима. Функција синхронизације менструалних циклуса није у потпуности јасна. Једна од хипотеза је да синхронизовано рађање потомства у групи омогућава колективну бригу за младе. Друга могућност је да истовремена овулација свих жена у групи смањује шансу да један мушкарац преузме примат у парењу. Уместо тога, повећава се вероватноћа

моногамних односа, тј. везивања мушкарца за одређену жену и његове даље бриге за потомство.

Све ово указује да је хемијска комуникација вероватно играла значајну улогу у еволутивној прошлости људи, иако се њен утицај смањивао како су се људска друштва развијала. Ипак, остаци ових механизма постоје и данас, нарочито у подсвесним физиолошким и социјалним друштвеним реакцијама.

ХЕМИЈСКА ОДБРАНА ЖИВОТИЊА

09

Све животиње, без обзира где се налазиле у ланцу исхране, морале су да развију низ механизма за одбрану од других животиња (углавном предатора), као и механизме за онеспособљавање плена. Ови механизми укључују:

- избегавање детекције – камуфлажом (обојење које смањује видљивост), мимикријом (опонашање других врста), шарама за збуњивање, кретањем по ноћи, неупадљивим кретањем (нпр. опонашањем плутајућих алги), самоукрашавањем (покривањем материјалима из околине), сенчењем (осветљена страна светле боје, страна у сенци тамне), транспаренцијом;
- избегавање напада – апосематске боје (јарке боје на телу које упозоравају нападача на опасност од нпр. присуства отрова у обојеној животињи), имитација токсичних и уопште опасних организама, шаре за застрашивање (нпр. шаре у облику великог "ока" које омогућавају плену да изгледа као већа животиња);
- избегавање хватања – осетљиво чуло вида, мириса и слуха, коришћење заклона, брзина, бројност, ометајуће шаре (наизменичне нијансе, које онемогућавају процену брзине и удаљености), одбрамбени анатомски делови (рогови, канџе, зуби);
- избегавање конзумирања – оклоп, бодље, скретање пажње на мање виталне делове, аутотомија (одбацивање делова тела, нпр. репа), танатоза (имитирање смрти).

Поред ових механизма, заснованих на прилагођавању анатомије или понашања, многе животиње развиле су и хемијске одбрамбене системе – супстанце одбојног укуса или мириса и токсине, које луче егзокрине жлезде

или специјализоване групе ћелија, или се могу конститутивно налазити у ткивима. Као и код биљака, постоји велика разноврсност ових једињења у смислу структуре (Табела 9.1.).

Табела 9.1. Примери токсичних супстанци у различитим класама животиња

Класа	Примери	Типични токсини
жарњаци	медузе, хидре, морске сасе	ензими, биогени амини
мекушци	октоподи, неки морски пужеви	пептиди и протеини, неуротоксини
зглавкари	стоноге	алкалоиди, хинони, цијаниди, биогени амини
	паукови, шкорпије	протеини
	неки инсекти	алифатични алдехиди, терпени, хинони, стероиди, алкалоиди, кардиотонични гликозиди, алифатичне киселине, протеини итд.
бодљокошци	морске звезде, јежеви, краставци	протеини (углавном ензими), стероиди, неуротоксини
рибе		алкалоиди, протеини
водоземци	жабе, даждевњаци	кардиотонични гликозиди, пептиди, алкалоиди, неуротоксини
гмизавци	неки гуштери и змије	пептиди
птице	питохуи	стероидни алкалоиди
Сисари	кљунар, ровчица	протеини

Токсични секрет најчешће садржи смешу више једињења (из исте или различитих класа) које могу деловати синергистички. Липофилне компоненте могу потпомоћи пролазак главног токсина кроз кутикулу или кожу предатора и тиме појачати ефекат (на пример, трчуљци рода *Helluomorphoides* користе *n*-нонил-ацетат да појачају дејство мравље киселине). Хидролитички ензими (хијалуронидаза, колагеназа, фосфолипазе), присутни у отрову пчела, паукова, шкорпија, змија, отровних гуштера и риба, помажу продирање активних компоненти у крвоток и ткива путем разарања везивних ткива и ћелијских мембрана и ширења крвних судова.

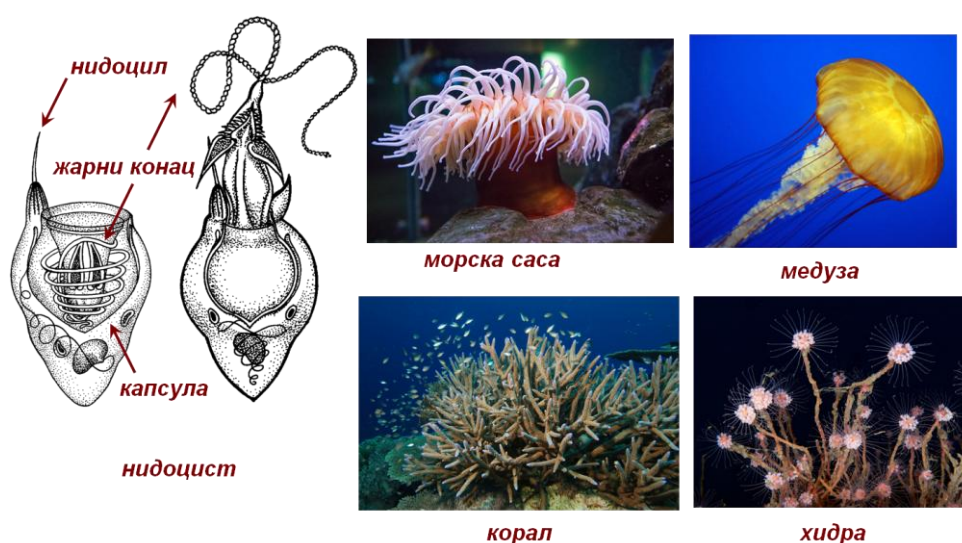
Ова једињења могу имати различито порекло (синтетисана *de novo* или преузета из хране), механизам дејства (неуротоксичност, изазивање инфламације, хемолиза итд.), начин лучења/складиштења (у

крви/хемолимфи, унутрашњим органима, на површини коже, или убризгана помоћу зуба, жаоке или жарних ћелија) и специфичност (генерално токсична или токсична само за одређене животиње).

Токсини се могу разликовати и по функцији – док неки имају дефанзивну улогу (код риба, инсеката, водоземаца), други су офанзивни тј. имају улогу у имобилизацији плена (змије, паукови, шкорпије) или могу имати обе улоге.

9.1 ТОКСИНИ ЖАРЊАКА

Жарњаци (раздео Cnidaria) обухватају преко 9000 врста примитивних водених, углавном морских животиња. Ова група, која је раније сврставана у дупљаре, обухвата корале, морске сасе и медузе (укључујући хидре) (Слика 9.1.). Припаднике групе карактерише присуство жарних ћелија – нидоцита (енг. *cnudocyte*), специјализованих ћелија које првенствено служе за хватање плена. Свака жарна ћелија садржи органелу нидоцист (енг. *nematocyst, cnudocyst*), која се састоји од капсуле, жарног конца спакованог у виду спирале, и нидоцила – рецепторске длачице на спољашњој страни. Правилна стимулација нидоцила (механичка и хемијска) доводи до брзог и енергичног убацивања жарног конца у жртву (за мање од 1 ms) и убризгавања токсичног садржаја.



Слика 9.1. Примери жарњака и структура жарне ћелије (нидоциста) у стању мировања и окинутом стању.

Медузе (подраздео *Medusozoa*) су слободно пливајући организми. Све врсте које живе у сланој води користе за хватање плена ловке (пипке) покривене жарним ћелијама. Отров медуза садржи, поред осталог, серотонин, АТР-азу, хијалуронидазе, фибринолизин, тетрамин (тетраметиламонијум), хомарин итд. Кватернерни амонијум-јони (тетрамин, *N*-метилбетаини пиколинске и никотинске киселине) поседују својства слична кураре отрову и одговорни су за неуротоксичност. Осип на кожи потиче од дејства супстанци које ослобађају хистамин.

Најопаснија медуза је морска оса (*Chironex fleckeri*, Chirodropidae) (Слика 9.2.), која се јавља у приобаљу Аустралије, Нове Гвинеје, Филипина и Вијетнама. Отров ове медузе изузетно је потентан и може бити смртоносан за човека. Смрт понекад наступа у року од неколико минута, што је брже од дејства отрова било које друге отровне животиње. Испољава вишеструке ефекте – кардиотоксичан је, неуротоксичан, дерматонекротичан, миотоксичан, хемолитик (разграђује еритроците) и кутани (кожни) вазодилататор. Доводи до пораста броја катјонских канала за Ca^{2+} и Na^{+} , што нарушава мембрански потенцијал неурона, мишићних ћелија и ћелија миокарда. Убод доводи до изузетно јаког бола и често резултује срчаним ударом, пулмонарним едемом и престанком дисања, или давлeњем.



Chironex fleckeri



Physalia physalis

Слика 9.2. Медузе са смртоносним отровима

Друга опасна медуза је португалска крстарица (енг. *Portuguese Man o' War*, *Physalia physalis*, Physaliidae) (Слика 9.2.), која заправо представља колонију састављену од великог броја мањих организама који припадају четирима високоспецијализованим типовима. Јавља се углавном у Пацифику и Индијском океану. Захваљујући мехуру испуњеним гасом, одржава се на површини воде. Ловке које висе испод површине покривене су жарним ћелијама које могу да паралишу плен (рибе). Код човека, ефекат је обично јак бол, али су могући и озбиљнији симптоми – грозница, шок, неправилан рад срца и плућа, па чак и (у ретким случајевима) смрт. Отров је заправо смеша токсина, укључујући различите протеине, пептиде, ензиме и непротеинска једињења – катехолаmine, хистамин, кинине, бетаине, пурине итд., који имају хемолитичко, кардиотоксично, неуротоксично и дерматонекротично деловање.

Најпотентнија компонента, одговорна за хемолитичке и леталне ефекте, је хетеротримерни гликопротеин физалитоксин ($M_w \sim 240$ kDa), који гради поре у мембранама за пролаз Ca^{2+} , чиме стимулише инфлукс Ca^{2+} у различите ћелије (укључујући ћелије миокарда), нарушава интегритет мембране и доводи до цитоллизе.

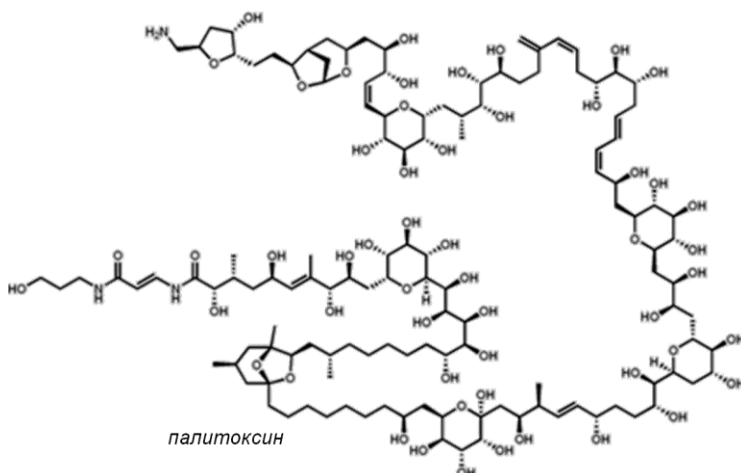
Један од занимљивих примера токсина жарњака је палитоксин, изолован из жарних ћелија хавајског корала *limu make o hana* (*Palythoa* spp.) (Слика 9.3.). У питању је веома велики молекул ($\text{C}_{129}\text{H}_{223}\text{N}_3\text{O}_{54}$), са 64 хирална центра и 7 двоструких веза, и представља један од најсложенијих природних производа (не рачунајући биополимере) и другу најтоксичнију познату непептидну супстанцу (Слика 9.3.). Процењено је да је токсична доза за човека између 2 μg и 32 μg (LD_{50} за миша је 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ТМ). Док је једињење најпотентније уколико се узме интравенозно, забележени су и случајеви инхалације и апсорпције кроз кожу. Код домородаца, овај корал коришћен је за извршење смртне казне – осуђени је бацан у плићак на коралном спруду; смрт је наступала након неколико секунди.

Палитоксин се са високим афинитетом (скоро иреверзибилно) везује за Na^+, K^+ -АТРазу и ремети њено нормално функционисање – она почиње непрекидно да се отвара и затвара (невезано за фосфорилацију и везивање Na^+/K^+), чиме се ефективно пумпа претвара у јонски канал (омогућава

пасивни транспорт). Ово доводи до транспорта Na^+ и K^+ низ градијент концентрације и нарушавања јонског градијента неопходног за функционисање већине ћелија. Симптоми тровања укључују рабдомиолизу (лизу скелетних мишића), грчеве, мучнину, повраћање, дијареју, брадикардију, отказивање бубрега итд. Смрт најчешће наступа као последица оштећења миокарда.



Palythoa grandis



Слика 9.3. Палитоксин – друга најтоксичнија позната непептидна супстанца, и његов биолошки извор

9.2 ТОКСИНИ МЕКУШАЦА

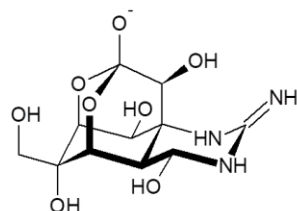
Раздео мекушци (Mollusca) обухвата око 85 000 врста копнених, слатководних и морских организама. Најпознатије класе су пужеви (Gastropoda), шкољкаши (Bivalvia), и главоношци (Cephalopoda). У овој групи, отров се може јавити код неких октопода и конуса (конусних пужева), док се код лигњи и шкољки јавља углавном само акумулација токсина из спољашње средине.

Међу октоподима се истиче модропегаста хоботница (*Harpalochlaena* spp., Octopodidae) (Слика 9.4.), која спада у најотровније морске животиње. Насељава коралне гробене између Јапана и Аустралије. Иако су мале (12–20 cm) и релативно доцилне, могу бити опасне за човека уколико су узнемирене. Пљувачка овог октопода садржи токсине које производе бактерије у пљувачним жлездама, а које он користи у лову на зглавкаре као што су ракови. Лучење пљувачке у близини плена (или приликом уједа) довољно је да га онеспособи. Отров садржи тетродотоксин (који је присутан и у ткивима ове животиње), као и протеазе, хијалуронидазу, аминне

(хидроксифенилетаноламин, норадреналин, серотонин, допамин, ацетилхолин, триптамин, таурин, тирамин, хистамин). Главна неуротоксична компонента је тетродотоксин (Слика 9.4.), који се везује за напонски контролисане Na^+ -канале у миоцитима (контрактилним ћелијама скелетних мишића) и неуронима, блокира ове канале и спречава неуротрансмисију и контракције. Долази до парализе (уз често потпуно очувану свест, будући да тетродотоксин не пролази кроз крвно-мождану баријеру), отежаног дисања, конвулзија, и смрти услед отказивања респираторног и кардиоваскуларног система у року од најчешће 4–6 h. Антидот не постоји. Терапија подразумева вештачку респирацију док се отров не уклони из тела, након чега најчешће следи потпуни опоравак.



Hapalochlaena lunulata



тетродотоксин

Слика 9.4. Неуротоксин тетродотоксин и његов биолошки извор

Поред токсина, главоношци као механизам одбране од предатора користе и камуфлажу и мимикрију (способни су за промену боје и текстуре коже, чиме опонашају окружење – камење, алге и друге животиње) и коришћење мастила (сепије) (Слика 9.5.). Наиме, када су нападнути, из кесице смештене између шкрга избацују млаз црне, плавоцрне или смеђе обојене течности која формира „димну завесу,” смањује видљивост и омогућава им бекство.

Алтернативна тактика (енг. *blanch-ink-jet-manooeuvre*), подразумева испуштање малих облака мастила са повећаним садржајем слузи, који дуже задржавају облик. Ови облаци по величини и облику одговарају самом главоношцу, и имају функцију збуњивања предатора (нарочито пошто сам главоношац притом промени боју и, у неким случајевима, поприми облик алге, односно постане невидљив). Често ће предатор, након неуспешног напада на овакав облак, даље игнорисати главоношце дате врсте.

Док неки од предатора поседују додатне системе за хемодетекцију плена упркос маскирању, нека испитивања указују на могућност да су у мастилу присутна и једињења која ометају ове системе.

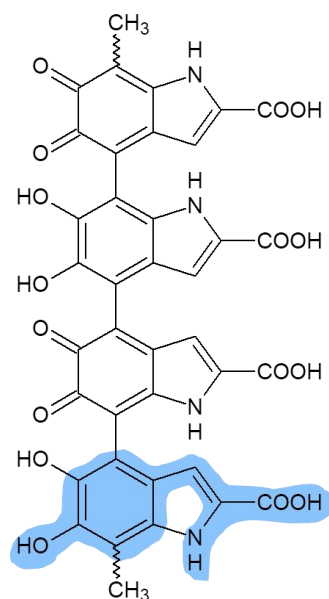
Главна компонента мастила је меланин (сепиомеланин) (Слика 9.5.), скоро универзални полимерни пигмент који се код животиња синтетише из тирозина, а који је код главоножаца структурно сличан са 5,6-дихидроксииндолем и L-3,4-дихидроксифенилаланин (L-DOPA) (Слика 4.4.). Поред тога, присутна је и слуз, као и тирозиназа, допамин, аминокиселине итд.



камуфлажа



испуштање мастила



пример структуре меланина

Слика 9.5. Одбрана главоножаца – камуфлажа и испуштање мастила; пример структуре меланина који улази у састав мастила

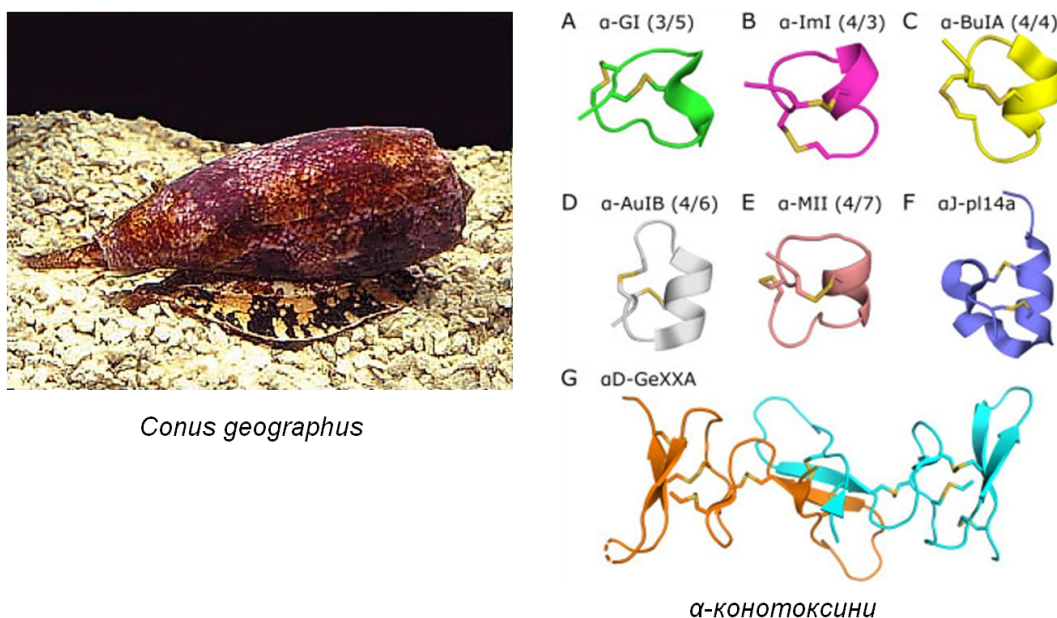
У класи пужева, најпознатији по својој токсичности је *Conus geographus*, који представља једног од најсмртоноснијих морских пужева на свету. Припада породици Conidae, која обухвата више од 800 врста морских пужева. Овај пуж има конусну шкољку дужине до 15 cm, прекривену карактеристичним шарама које подсећају на географску карту (Слика 9.6.). Живи у тропским и суптропским водама Индо-Пацифика и Црвеном мору, а храни се углавном рибом, али и ситним раковима и црвима.

Његов отров, који користи за имобилизацију плена и самоодбрану, убризгава у жртву путем назубљене хитинозне структуре налик зубу. Отров

садржи око 200 различитих биоактивних компоненти, укључујући сложену смешу неуротоксичних пептида познатих као конотоксини (Слика 9.6). Пептиди блокирају јонске канале за Na^+ , K^+ и Ca^{2+} , а самим тим и пренос нервних импулса.

Људи га често несвесно узимају у руке због привлачне шкољке и тада долази до убода јер се пуж осећа угрожено. Јавља се слабост мишића, респираторне потешкоће, парализа, а у тежим случајевима може да дође до респираторног застоја и смрти због гушења. Противотрова нема, тако да је могуће једино симптоматско лечење док тело природно не избаци токсине.

Конотоксини показују велики потенцијал примене у фармацији због свог јаког аналгетског дејства.



Слика 9.6. *Conus geographus* – један од најтоксичнијих пужева и примери пептидних конотоксина које садржи

9.3 ТОКСИНИ ЗГЛАВКАРА

Постоји преко милион врста зглавкара (Arthropoda), груписаних у 25 редова од којих 10, укључујући инсекте, ракове, арахниде (паукове, шкорпије, гриње, крпеље) и стоноге, користе специјализоване органе – усне ножице (паукови, стоноге) или жаоке (опнокрилци, шкорпије) да убризгају токсине у циљу онеспособљавања плена или одбране од предатора. У неким случајевима, ови токсини и код човека могу имати озбиљне последице по здравље, или чак узроковати смрт (годишње неколико хиљада људи у

Централној и Јужној Америци, Северној Африци и Индији умире од убода шкорпије).

Велика већина токсичних једињења инсеката представљају секундарне метаболите биљака (нпр. (E)-2-хексенал, бензалдехид, салицилалдехид, цитрал и цитронелал). У неким случајевима инсекти ова једињења синтетишу *de novo*, али их често и само преузимају из биљне хране и складиште у свом организму.

Због велике структурне разноврсности, токсини зглавкара биће даље обрађени према класама једињења.

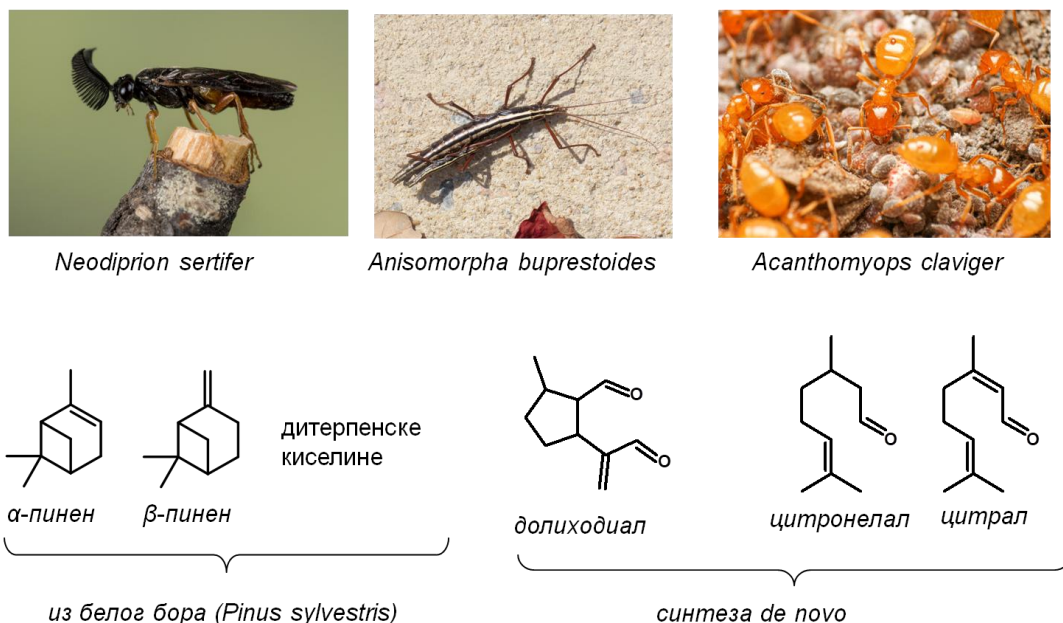
9.3.1. Изопреноиди

Нижи терпеноиди представљају релативно неспецифичне токсине присутне у одбрамбеном секрету многих инсеката. Интензиван мирис и испарљивост ових једињења често су и сами довољни да одврате нападача. Додатно, неки терпеноиди у гасовитом стању изазивају иритације, док у течном стању, могу довести до настанка опекотина ако дођу у контакт са кожом.

Ларве риђе борове осе (*Neodiprion sertifer*, Hymenoptera) (Слика 9.7.), као одговор на напад, луче уљасту репелентну супстанцу, која садржи терпеноидне компоненте, укључујући монотерпене α - и β -пинен (Слика 9.7), и дитерпенске киселине: пинифолну, пимаринску, палустринску, абијетинску, неоабијетинску и дехидроабијетинску. Интересантно је да је хемијски састав овог уља идентичан саставу смоле белог бора (*Pinus sylvestris*, Pinaceae), биљке којом се ове ларве хране. То указује да ларве не синтетишу ова једињења самостално, већ их преузимају из биљке домаћина и складиште у свом организму, како би их користиле за одбрану. Испарљиви монотерпени α - и β -пинен су штетни за већину зглавкара и вероватно представљају главне репеленте које ова биљка користи за одбрану, док се за дитерпенске киселине претпоставља да имају улогу у фиксацији испарљивих компоненти. Инсект из хране издваја терпеноидне компоненте, складишти их у посебним кесицама у дигестивном тракту, и избацује по потреби. Коришћење готових токсина из биљака сматра се

еволюционо напредном карактеристиком, јер је економичније од синтезе *de novo*.

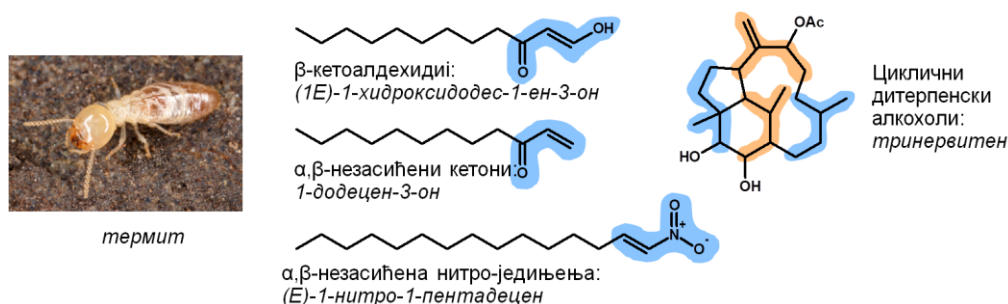
Насупрот томе, *Anisomorpha buprestoides* и мрав *Acanthomyops claviger* синтетишу своје одбрамбене терпене – долиходијал односно цитронелал и цитрал – уобичајеним мевалонатним путем (Слика 9.7).



Слика 9.7. Примери одбрамбених терпена и инсеката који их садрже

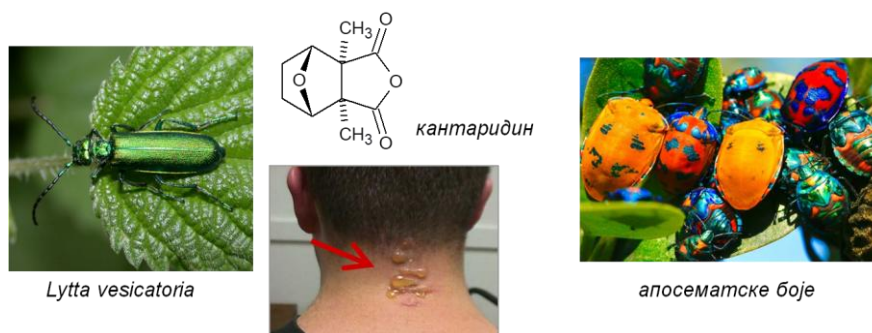
Код термита, одбрамбене хемикалије присутне су код стерилних војника (чине 10–30 % колоније). Овој касти одбрана је једина функција, и токсини могу чинити и до 8 % од њихове масе. Идентификоване су бар три различите стратегије аплицирања одбрамбених једињења – ујед и убризгавање, контакт, и прскање лепка. Разне врсте термита користе одбрамбене секрете различитог састава (претежно терпеноидне). Експериментима са изотопским обележавањем потврђено је да се одбрамбени дитерпени синтетишу *de novo* у инсектима, преко мевалоната као интермедијера.

Поред специфичних терпеноида (као што су тринервитени термита из рода *Nasutitermes*) (Слика 9.8.), у токсинима термита јављају се и алифатична електрофилна једињења (α,β-незасићена нитро- и карбонилна једињења) (Слика 9.8.), која делују као контактни отрови. Јединке (радници) исте врсте заштићене су од дејства ових једињења захваљујући присуству специфичних редуктаза задужених за детоксификацију.



Слика 9.8. Контактни отрови код термита

Велики број (око 7500 врста) тврдокрилаца родова *Mylabis* и *Lytta* из фамилије Meloidae, од којих је најпознатија шпанска мушица (*Lytta vesicatoria*), као одбрамбени секрет садржи терпеноид кантаридин (Слика 9.9.). Кантаридин се налази у хемолимфи ових инсеката; у организму *Lytta vesicatoria*, садржај може достићи и 5 %. У случају опасности, рефлексним лучењем хемолимфе на спојевима зглобова ово једињење се излучује на површину и делује као репелент за предаторе (првенствено захваљујући горком укусу). Кантаридин је веома токсичан – снажан је иританс и пликавас – и количине присутне у једном инсекту могу бити довољне за изазивање токсичних ефеката у случају гутања. Једино мужјаци синтетишу ово једињење; женке га добијају од мужјака током парења, и касније користе као заштитну превлаку за јаја. Многи инсекати из наведена два рода користе апосематско обојење да би благовремено упозорили потенцијалне предаторе (Слика 9.9.).

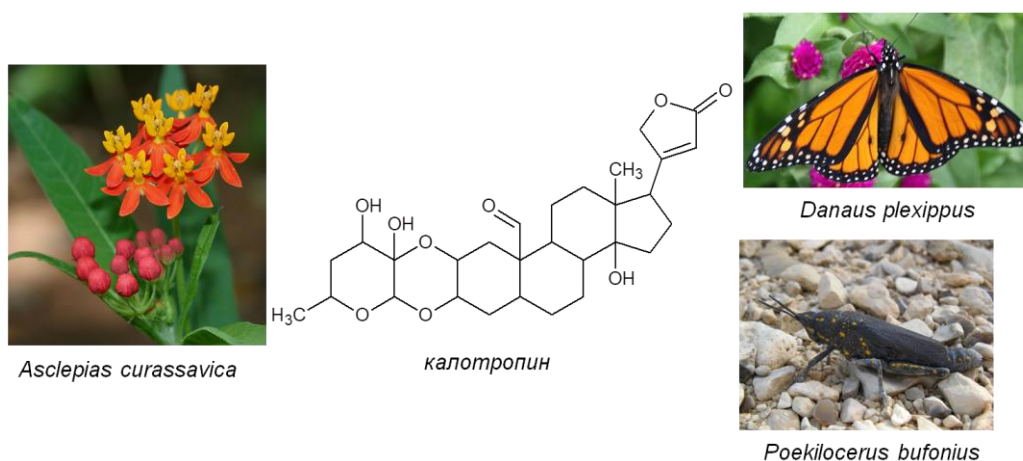


Слика 9.9. Структура кантаридина који делује као иританс, изглед шпанске мушице (*Lytta vesicatoria*) која га садржи, и других тврдокрилаца са апосематским бојама

Препарати на бази шпанске мушице се захваљујући способности да иритирају уrogenитални тракт и повећавају доток крви (чим оропашају ефекте услед сексуалног узбуђења) од давнина користе као афродизијак.

Међутим, треба напоменути да је ефективна доза веома блиска леталној (која износи око 0,5 mg/kg), и лако може резултирати трајним оштећењима ткива (укључујући бубреге и слузокожу гастроинтестиналног и уринарног тракта), те су они у многим земљама забрањени. Друге употребе укључују уклањање брадавица и тетоважа.

Већ је поменута (поглавље 4.1.2.) употреба кардиотоничних гликозида од стране неких инсеката у циљу заштите од предатора. Летпир монарх (*Danaus plexippus*, Nymphalidae) користи ова једињења, акумулирана у организму из хране која их садржи (биљке рода *Asclepias*), да би се заштитио од птица (Слика 9.10.). Скакавац *Poekilocerus bufonius* храни се истим биљкама и такође акумулира карденолиде (Слика 9.10.). Међутим, за разлику од летпира монарха, који ова једињења користи пасивно (испољавају дејство тек када птица покуша да поједе инсекта), скавци их у случају опасности излучују у виду пене помоћу специјалних жлезда на леђима.



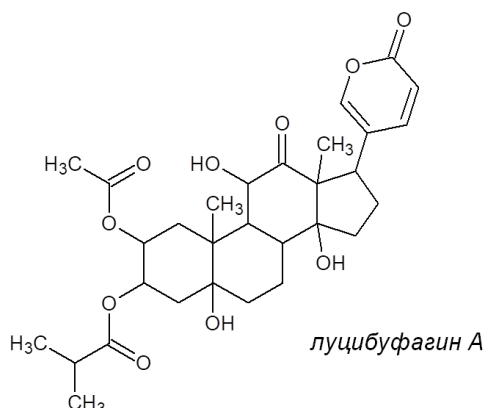
Слика 9.10. Примери инсеката који користе карденолиде као токсине и биљка којом се хране

Поред кардиотоничних гликозида, и други стероиди могу имати заштитну функцију. У хемолимфи неколико свитаца рода *Photinus* (Lampyridae) детектовано је више естара 12-оксо-2,5,11-трихидроксибуфалина, структурално сличних буфаидиенолидима из жаба, означених као луцибуфагини А–Е (Слика 9.11.). Ова једињења штите свице од предације од стране гуштера, птица и сисара. Женке другог рода свитаца, *Photuris*, нису у стању да синтетишу луцибуфагине. Међутим,

имитирајући светлосне сигнале *Photinus* женки, оне привлаче *Photinus* мужјаке и једу их, чиме за себе прибављају ова заштитна једињења.



Photinus ignitus



Слика 9.11. Пример инсекта који користи једињења слична буфадиенолидима као токсине

9.3.2. Алкалоиди

Дуго се сматрало да су алкалоиди искључиво производи секундарног метаболизма биљака. Међутим, крајем XX века ова једињења пронађена су и у низу морских организама, злавкара и жаба. Следи да способност синтезе алкалоида није ограничена на биљке, мада код инсеката (нарочито *Lepidoptera*) највећи значај у одбрани вероватно имају алкалоиди биљног порекла акумулирани у инсекатима.

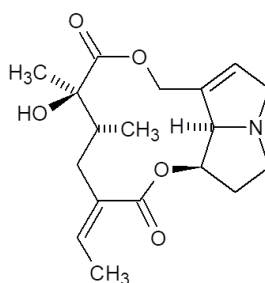
Најбоље истражен случај су већ помињени (поглавље 4.1.1.) сенецио алкалоиди (нпр. сенеционин), пронађени у мољцима *Arctia caja* и *Tyria jacobaeae* и лептиру монарху (*Danaus plexippus*) (Слика 9.12.), који се хране биљкама рода *Senecio*. Присуство ових једињења у инсекатима, захваљујући израженој хепатотоксичности, одбија потенцијалне предаторе.



Danaus plexippus



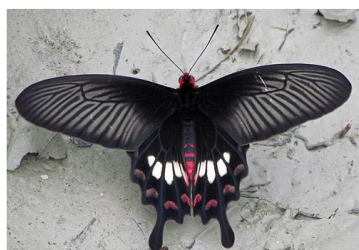
Arctia caja



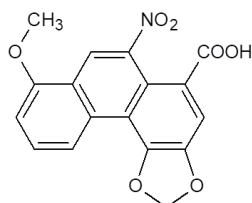
Senecio vulgaris

Слика 9.12. Пример алкалоиди који инсекти акумулирају из биљке којом се хране

Код инсеката који се хране биљкама рода *Aristolochia* (Aristolochiaceae), укључујући лептира *Atrophaneura aristolochiae*, запажено је акумулирање цитотоксичног и нефротоксичног нитро-једињења – аристолохинске киселине (Слика 9.13.).



Atrophaneura aristolochiae



аристолохинска киселина

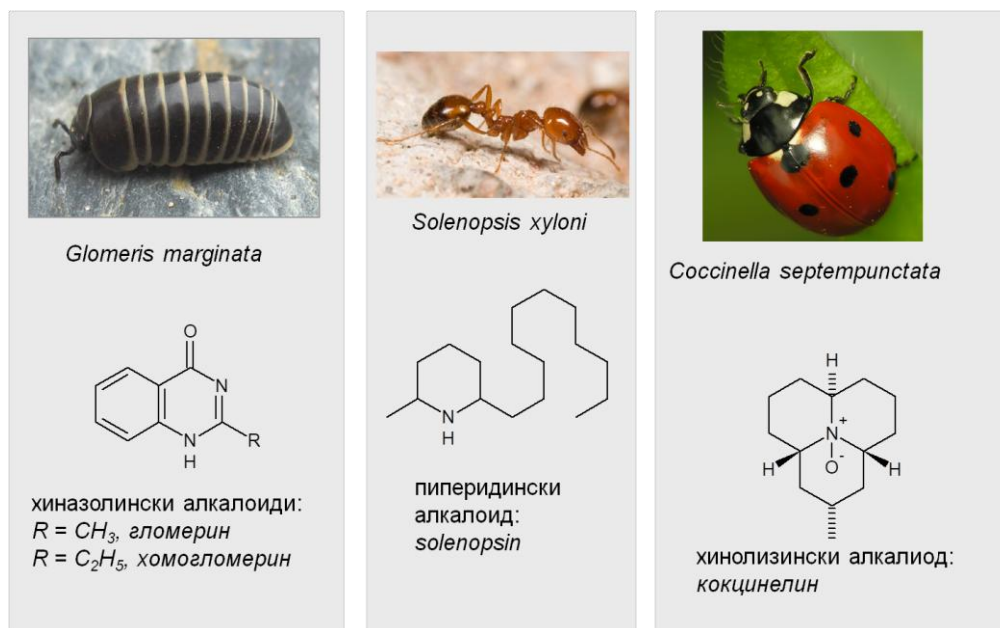


Aristolochia labiata

Слика 9.13. Лептир *Atrophaneura aristolochiae* акумулира токсичну аристолохинску киселину из биљака којима се храни (род *Aristolochia*)

Док многи инсекти користе алкалоиде из хране, неки зглавкари их изгледа синтетишу *de novo*. Европска стонога *Glomeris marginata*, на пример, производи хиназолине гломерин и хомогломерин (Слика 9.14.). Ова једињења способна су да изазову смрт код мишева и парализу код паукова који поједу стоногу. Синтеза *de novo* потврђена је храњењем изотопски обележеном антранилном киселином, која је резултовала стварањем обележених алкалоида.

Веома болан (сличан опекотини) убод ватрених мрава (*Solenopsis* spp.), потиче од отрова који они убризгавају жаоком након што су чврсто ухватили плен или нападача чељустима, за разлику од многих мрава који уједају и затим прскају киселину на рану. Главни принципи отрова су серија 2,6-диалкилпиперидина, укључујући 2-метил-6-ундецилпиперидин (соленопсин) (Слика 9.14.), који је пронађен у бар седам испитиваних *Solenopsis* врста. Једињење је структурално слично кониину из кукуте, показује хемолитичко, цитотоксично и некротично деловање, и представља први откривени непептидни животињски токсин.



Слика 9.14. Примери алкалоида који се *de novo* синтетишу код инсеката

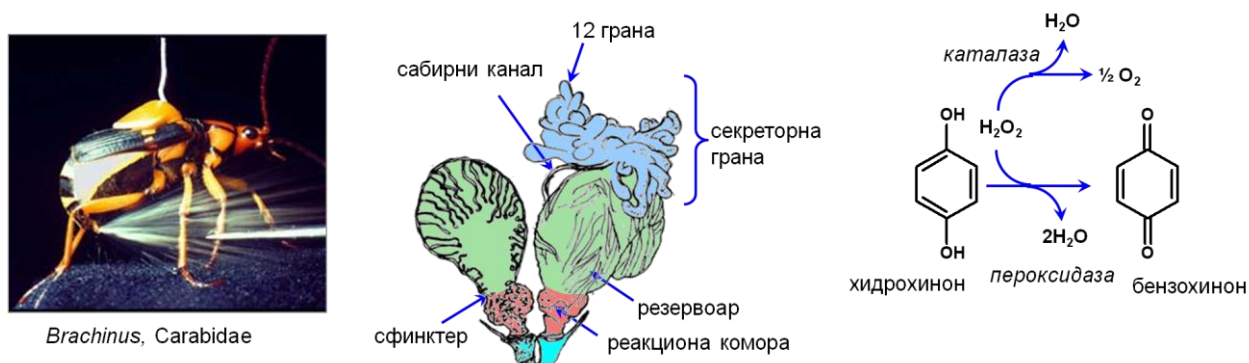
Одбрамбене алкалоиде користе и бубамаре (Coccinellidae). У случају опасности, оне на зглобовима испуштају хемолимфу, која има горак укус захваљујући хинолизин-*N*-оксидном алкалоиду кокцинелину (енг. *coccinelline*) (Слика 9.14.) и сличним једињењима. Кокцинелин је представник нове класе алкалоида, одсутне у биљкама, и експериментима са изотопским обележавањем потврђено је да се у бубамарама синтетише *de novo* из ацетата. Експериментално је доказано да ова једињења ефикасно штите бубамаре од мрава и препелица. Карактеристично јарко обојење ових инсеката има апосематску улогу, и правовремено одвраћа потенцијалне предаторе.

9.3.3. Феноли

Један од најдрастичнијих примера коришћења одбрамбених једињења уочен је код тврдоокрица бубе-бомбардера (*Brachynus*, Carabidae), која се може наћи у Европи. Када је угрожен, овај инсект избацује облак врелих (и до 100 °C) токсина према нападачу, који може повредити мање сисаре као што су ровчице, или чак усмртити бескичмењаке.

Одбрамбени систем бубе-бомбардера састоји се од пара специјализованих органа. Сваки орган чини секреторна грана (12 кратких

грانا које луче супстрате и уливају се у сабирни канал), која је везана за резервоар. Резервоар је обложен мишићним ткивом и може убризгати садржај у реакциону комору, при чему је спој контролисан мишићем-сфинктером. Унутрашњост реакционе коморе је ојачана и способна да поднесе високе притиске. На површини се налазе помоћне жлезде (гроздови секреторних ћелија) које се уливају у реакциону комору, а које луче ензиме потребне за реакцију.



Слика 9.15. Одбрамбени систем код бубе бомбардера

Овај јединствени одбрамбени механизам потиче од контролисане реакције супстрата (водоник-пероксида и хидрохинона/метилхидрохинона) и два ензима (каталазе и пероксидазе), у којој настаје главни токсин – бензохинон, који је снажан иританс и оштећује ткиво очију. Реакција је високоегзотермна и производи реакције бивају експлозивно (под дејством ослобођеног O_2 као пропеланта) избачени из задњег дела инсеката (који се може прецизно усмеравати у широком луку од $270^\circ C$), брзином од око 2,4 m/s, до растојања од око 5 cm. Избацивање није једнократно, него подразумева 2–12 пулсева у трајању од 2–24 ms. Поред буба-бомбардера (подфамилија Brachininae), и неки други тврдоокрилци из фамилије трчуљака – Carabidae (подфамилије Paussinae), користе жлезде способне за експлозивно пражњење.

Одбрамбени хинони релативно су уобичајени код зглавкара. Захваљујући перзистентном непријатном мирису ефикасни су у одвраћању предатора.

Кошенил инсекти (*Dactylopius* spp.) (Слика 9.16.), који паразитирају на кактусима *Opuntia ficus-indica*, користе црвену боју кошенил (кармин)

као заштиту од потенцијалних предатора. Главна компонента ове боје је антрахинонски С-гликозид карминска киселина (Слика 9.16.), која у овим инсектима може бити присутна у веома високим концентрацијама (17–24 %), а која је потентан репелент за мраве. Међутим, месоједна гусеница мољца *Laetilia coccidivora* развила је отпорност на токсичност карминске киселине и стога је способна да се храни кошенил инсектима. Она чак акумулира унети токсин, и у случају напада мрава поврати га на нападача.



Слика 9.16. Карминска киселина из *Dactylopius* spp. је репелент за мраве. *Laetilia coccidivora* развила отпорност на овај репелент.

Феноли, који су прекурсори хинона, такође су токсични молекули и могу представљати део заштите зглавкара од предатора. Већ и најпростији феноли, као што су *m*- и *p*-крезол и салицилалдехид, показују токсично дејство и налазе се у појединим одбрамбеним секретима. Док се за нека од ових једињења (нпр. фенол, гвајакол) зна да се у стоногама и стеницама (Hemiptera) синтетишу из тирозина као прекурсора, могуће је да други одбрамбени феноли потичу из биљне хране. Код скакаваца је у одбрамбеном секрету пронађен 2,5-дихлорфенол, за кога се претпоставља да је настао метаболисањем хербицида.

9.3.4. Пептидни и протеински токсини

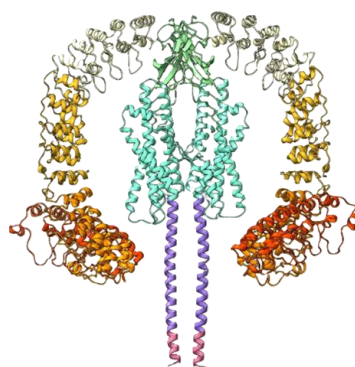
За разлику од инсеката, који користе широк спектар природних производа као токсине, код арахнида и стонога примарне токсичне компоненте су полипептидне природе.

Код паукова, ујед има и нападачку (будући да су они активни ловци и користе токсине да парализују и убију плен) и одбрамбену функцију (агресивније врсте уједају да би заштитиле себе или мрежу). За убризгавање

отрова паукови користе хелицере, усне ножице у којима се налазе или са којима су повезане отровне жлезде. Док су скоро сви паукови отровни, код велике већине хелицере нису довољно јаке да пробију човекову кожу; само око 200 врста (од преко 40 000 познатих) може изазвати озбиљне, потенцијално леталне последице. Генерално, дејство токсина паукова заснива се на неуротоксичности (деловању на нервни систем) или некротичности (разарању ткива).

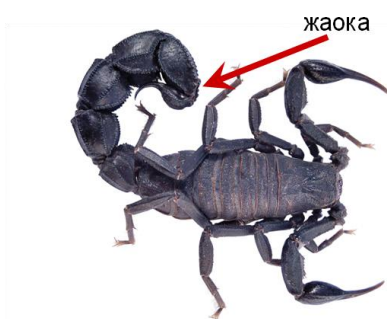
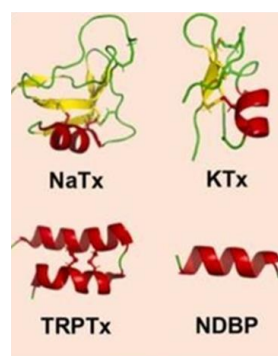
Већина паукова са опасним уједом (укључујући црну удовицу) поседује неуротоксине, који могу довести до болних грчева, поремећаја дисања и сл. Некротични токсини јављају се у фамилији Sicariidae. Ови паукови поседују ензим сфингомијелиназу D, која може довести до великих локалних лезија које споро зарастају и остављају дубоке ожиљке, па чак и до системских ефеката као што је отказивање бубрега.

Један од најпознатијих отровних паукова, одговоран за највећи број жртава, је црна удовица (*Latrodectus* spp., Theridiidae). Неке од врста (*L. tredecimguttatus*) јављају се и у Европи. Женке су карактеристичног изгледа, црног тела са шарама јаркоцрвене боје (уколико их има) (Слика 9.17.). Док је ујед мужјака безопасан за човека, ујед женке има озбиљне последице. Активна компонента отрова су латротоксини, протеини високе молекулске масе, који спречавају неуротрансмисију са пресинаптичких сензорних и моторних неурона. Најпознатији пример је α -латротоксин ($Mw = 120$ kDa) (Слика 9.17.). Сви латротоксини доводе до спонтаног, масивног ослобађања низа неуротрансмитера (GABA, норадреналин, ацетилхолин) из пресинаптичких неурона. Ово доводи до константних, веома болних мишићних контракција, првенствено у абдомену, леђима и бутинама, као и до других системских симптома који трају неколико дана. Док је смртни исход редак, могуће су дуготрајне последице (грчеви, нервоза, слабост, парализа).

*Latrodectus tredecimguttatus* α -латротоксин**Слика 9.17.** Активна компонента отрова црне удовице

Шкорпије (ред *Scorpiones*), као и паукови, користе пептидне токсине за напад и одбрану (Слика 9.18.). Међутим, за разлику од паукова, отров се не убризгава помоћу усног апарата него помоћу флексибилног, чланковитог репа на чијем се крају налази жаока са отровним жлездама. Све познате шкорпије користе отров брзог дејства за онеспособљавање плена. Отров је смеша нискомолекуларних неуротоксичних протеина, ензима (фосфолипазе A_2 , ацетилхолинестеразе, хијалуронидазе), инхибитора протеаза, супстанци које ослобађају хистамин, и серотонина.

За разлику од токсина паукова и змија, некротични агенси су ретко присутни у значајним количинама. Главне активне компоненте су мали пептиди који се везују за транспортере јона (K^+ , Na^+ , Cl^- и Ca^{2+} канале), пролонгирају акциони потенцијал и доводе до појачаног и поновљеног ослобађања неуротрансмitera. Коначна последица су поремећаји у функцији кардиоваскуларног и респираторног система, хипертензија, оштећења миокарда, и отказивање органа.

*Androctonus mauritanicus*

токсични пептиди

Слика 9.18. Активна компонента отрова шкорпије су мали пептиди

Токсини неких инсеката такође су пептидне природе. Пример су пчеле (*Apis* spp., Apidae), осе (*Vespa* spp.) и бумбари (*Bombus* spp.). Женке (радилице и матице) ових врста поседују жаоку повезану са отровном жлездом. У случају домаћих пчела (*Apis mellifera*), жаока је назубљена и, у случају убадања животиња са дебљом кожом као што су сисари, остаје у кожи заједно са делом дигестивног тракта, при чему инсект угине. Друге пчеле, осе и бумбари, с друге стране, имају глатку жаоку и могу убости више пута.

Отров пчела (апитоксин) представља комплексну смешу протеина и других једињења са различитим функцијама. Главни активни принцип, хексакозапептид мелитин (Слика 9.19.), снажан је стимулатор фосфолипазе A_2 . Апамин, октадекапептид, је неуротоксин који блокира Ca^{2+} -активирани K^+ -канале у нервном систему и глаткој мускулатури. Фосфолипаза A_2 најдеструктивнија је компонента, која разграђује ћелијске мембране, снижава крвни притисак, инхибира коагулацију крви и активира метаболизам арахидонске киселине, што резултује синтезом проинфламаторних простагландина. Хијалуронидаза доводи до ширења капилара, што потпомаже ширење отрова. Хистамин је одговоран за алергијску реакцију и бол, а допамин и норадреналин изазивају тахикардију. Код човека отров ретко изазива симптоме озбиљније од локалне инфламаторне реакције, мада убод великог броја инсеката или преосетљивост (алергија) могу довести и до фаталног анафилактичког шока (опструкција дисања или иреверзибилни васкуларни колапс).



Слика 9.19. Једна од активних компонента отрова пчеле – пептид мелитин

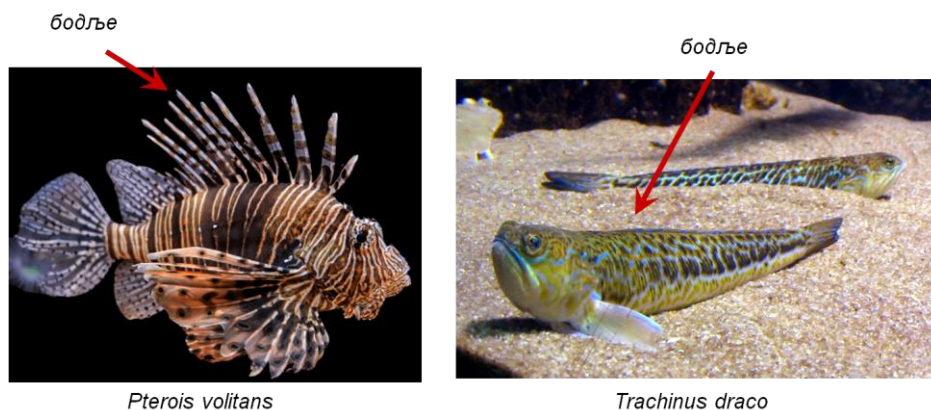
9.4 ТОКСИНИ РИБА

Код најмање 1200 врста риба утврђено је да синтетишу или акумулирају отрове у циљу одбране. Рибе фамилије *Scorpaenidae* (рибе-шкорпије, бодљике) спадају међу најотровније животиње уопште. Један од најпознатијих примера је риба-лав (енг. *lionfish*, *Pterois* spp.) (Слика 9.20.), нативна за Индо-Пацифик, али се јавља и у Атлантику. Карактерише је низ бодљи на леђима, са жлездама при основи, уздужним жлебовима, и прекривеним токсичном слузи. Контакт са бодљама доводи до истискивања отрова (услед притиска на жлезду) кроз жлеб у рану.

Отров је комплексног састава, на бази пептида, и доводи до низа локалних и системских ефеката, укључујући појачање срчане и неуромускулатурне активности услед повећања интрацелуларне концентрације Ca^{2+} (могуће – путем формирања каналâ у мембранама). Код рибе-лава, наведени ефекат примарно је последица деловања на адренергичне и мускаринске холинергичне рецепторе. У озбиљнијим случајевима (код човека – ретко) може доћи до смрти услед отказивања респираторног система.

У Атлантику и Средоземном мору, па и Јадранском мору, јављају се отровне рибе фамилије *Trachinidae* (риба-паук) (Слика 9.20.). Отровни апарат такође је смештен у дорзалним бодљама, и до отровања долази уколико се нагази на рибу која вреба плен укопана у песак. Јак бол на месту убода може да траје од неколико сати до неколико дана. Отров садржи неколико протеина, укључујући дракотоксин и кинин¹/кининима сличне супстанце, као и серотонин, адреналин и норадреналин. Главни токсин – дракотоксин – деполаризује ћелијске мембране, а показује и хемолитичку активност.

¹ нема везе са алкалоидом кинином или хинином



Слика 9.20. Врсте риба са отровним бодљама

Међу најпознатијим отровним рибама су тропске рибе надувалице, надималице или надуване рибе (енг. *puffer fish*, *Tetraodontidae*) (Слика 9.21.), у које спада бар 189 врста. Карактерише их низ одбрамбених система који надомештају њихову спорост. Уколико уоче предатора, оне пуне свој екстремно еластични стомак водом (или ваздухом, уколико су ван воде), при чему постају много веће и практично сферичне. Приликом надувавања, истичу и оштре бодље распоређене по површини коже.

Уколико предатор успе да поједе рибу, бива изложен отрову присутном у многим ткивима (највише у јајницима и јетри, мање у цревима и кожи; у мишићима је присутан само у траговима). Док за велике предаторе као што је ајкула не мора увек бити леталан, отров је довољно снажан да убије човека. Уопште, сматра се да су ове рибе најотровнији кичмењаци на Земљи после жабе *Phyllobates terribilis*.

Активни принцип је тетродотоксин ($LD_{50} = 8 \mu\text{g/kg}$), већ поменут у Поглављу 9.2., који доводи до утрнулости усана и језика, вртоглавице, повраћања, утрнулости целог тела, тахикардије, хипотензије, мишићне парализе и коме (уз очувану свест). Парализа дијафрагме затим доводи до смрти у року од 4–24 h. Антидот за сада не постоји.

Иначе, тетродотоксин се не синтетише у самој риби, већ у одређеним бактеријама из родова *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas* и *Vibrio* које живе у симбиози са рибама.



Takifugu rubripes



специјалитет fugu

Слика 9.21. Специјалитет fugu се прави од токсичне рибе надималице

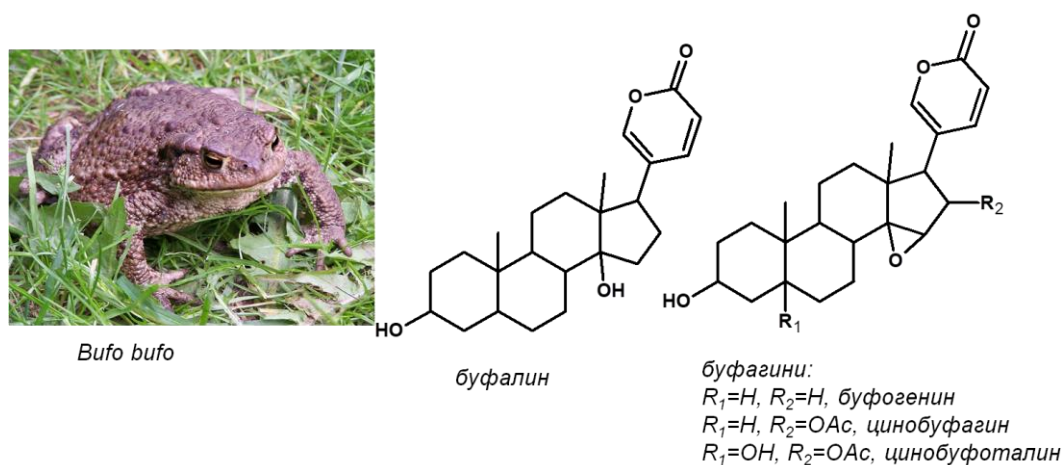
Упркос екстремној токсичности, ова риба се у Јапану користи за припрему специјалитета *фугу*. Припрема се дозвољава једино лицима која су прошла вишегодишњу обуку, положила испит (који укључује и конзумирање припремљеног јела) и добила сертификат (Слика 9.21.).

9.5 ТОКСИНИ ВОДОЗЕМАЦА

Највећи број животинских алкалоида пореклом је из водоземаца (класа Amphibia). Они у највећем броју случајева не ињектују активно отров (сем одређених даждевњака), него испољавају токсично дејство при контакту или када се поједу. Токсини се најчешће не синтетишу у организму водоземаца, него се уносе храном (биљке, инсекти) и депонују.

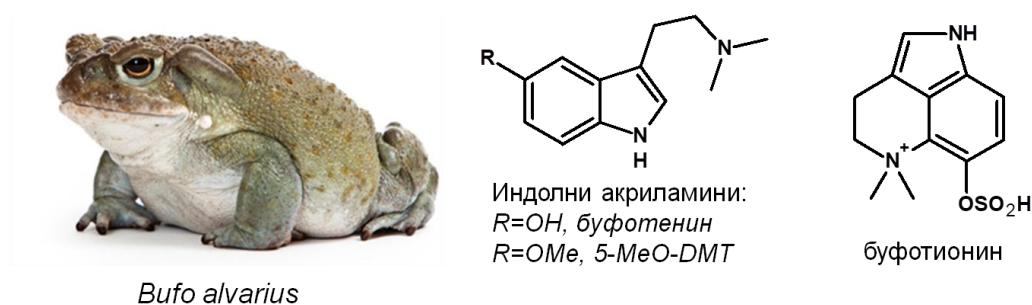
Код жаба крастача, укључујући обичну (европску) крастачу (*Bufo bufo*, Bufonidae), кожа је прекривена брадавицама – жлездама које луче секрет богат алкалоидима, непријатног укуса, који одбија већину предатора (али не и змије и јежеве). Отров (буфотоксин) представља комплексну смешу биогених амина (адреналин, норадреналин), индолних алкиламина (буфотенин, дехидробуфотенин, буфотионин, серотонин) и кардиотоничних стероида – буфадиенолида. Главни активни принципи су буфадиенолиди, од којих су најважнији буфалин, цинобуфагин, цинобуфоталин и буфогенин (Слика 9.22.). Они показују дејство слично карденолидима из биљака, у смислу изазивања фибрилације (брзих, неправилних, несинхронизованих контракција миокарда). Ове две класе кардиоактивних стероида разликују се по природи лактонског прстена на C-17, као и по

чињеници да се буфадиенолиди јављају слободни, а карденолиди у виду гликозида.



Слика 9.22. Кардиотонични буфадиенолиди из коже жаба. ОАс – ацетокси група

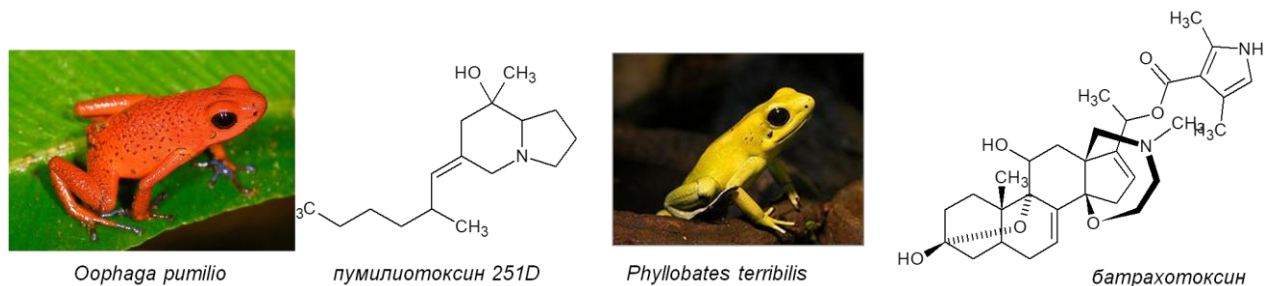
Деривати индола, укључујући буфотенин и 5-метокси-*N,N*-диметилтриптамин (5-MeO-DMT, *O*-метилбуфотенин) (Слика 9.23.), нису кардиоактивни, али показују халуциногена својства (нарочито 5-MeO-DMT) јер делују агонистички или антагонистички на серотонинергичне рецепторе у мозгу. Ова једињења налазе се у кожи неких жаба (укљ. *Bufo alvarius* и *Bufo marinus*), и понекад се користе као рекреативне дроге, мада могу довести до потенцијално леталног тровања (престанка дисања).



Слика 9.23. Индолни алкиламини из коже жаба

Жабе из фамилије Dendrobatidae, нативне за Централну и Јужну Америку, садрже низ веома токсичних једињења, на шта упозорава и њихово апосематско обојење. Урођеници су, поред кураре отрова, користили и секрет неких од жаба као отров за стрелице, одакле и назив енг. *poison dart frog*. Жлезде у кожи ових животиња луче смешу липофилних алкалоида из скоро 30 структурних класа, укључујући батрахотоксине

(карактеристичне за род *Phyllobates*, у *Dendrobates* присутне само у траговима), хистрионикотоксине, индолизидине, пумилиотоксине (род *Dendrobates*, где спада *Oophaga pumilio*), декахидрохинолине итд. (Слика 9.24.).

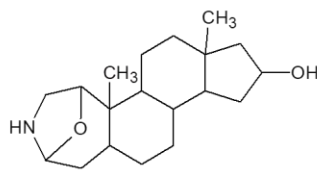


Слика 9.24. Жабе из фамилије *Dendrobatidae* и њихови токсични алкалоиди

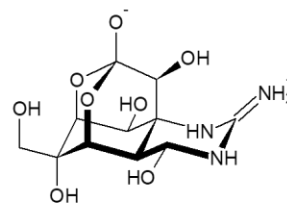
Најотровнији представник (и најотровнији кичмењак уопште) је златна отровна жаба (*Phyllobates terribilis*) (Слика 9.24.) из Колумбије, која поседује довољно токсина (1 mg) да убије 1–2 афричка слона, 10–20 људи или око 10 000 мишева. Кожа ове жабе натопљена је отровом, и забележена је смрт људи који су је само додирнули, као и паса и кокошака које су дошле у контакт са папиром по коме је ходала. Једини предатор делимично отпоран на токсин је змија *Liophis epinephelus*.

Активни принципи отрова *Phyllobates* жаба су батрахотоксини, чија је летална доза око 1–2 $\mu\text{g/kg}$ (10 $\times$ отровнији од тетродотоксина, али много мање потентни од ботулинум токсина). Батрахотоксин је неуротоксин; иреверзибилно се везује за напонски контролисане Na^+ -каналне, што доводи до трајне деполаризације неурона и прекида преноса сигнала са неурона на мишиће. Даље, омета пренос импулса у срцу, што доводи до аритмија, фибрилације и срчаног удара. Антидот за сада не постоји. Истовремено, Na^+ -канални жабе отпорни су на дејство овог токсина. Само порекло батрахотоксина у жабама није потврђено, али се претпоставља да потиче из хране (тврдокрилаца рода *Melyridae*).

Као и жабе, и даждевњаци (укључујући шареног даждевњака, *Salamandra salamandra*, Salamandridae) (Слика 9.25.) су способни да се активно бране у случају напада предатора, лучењем алкалоидног токсина самандарина. Самандарин је неуротоксичан, доводи до мишићних конвулзија, хипертензије и хипервентилације.

*Salamandra salamandra*

самандарин

*Taricha granulosa*

тетродотоксин

Слика 9.25. Токсични алкалоиди даждевњака

Активни принцип код врсте *Taricha granulosa* (Salamandridae) је већ поменути тетродотоксин (Слика 9.25.). Једина животиња способна да поједе овог даждевњака и преживи је змија *Thamnophis sirtalis*, код којих у неким популацијама Na^+ -канал није способан да веже тетродотоксин.

9.6 ТОКСИНИ ГМИЗАВАЦА

Док и неки гуштери и варани поседују отровне жлезде, убедљиво најважнији отровни гмизавци (класа Reptilia) су змије (подред Serpentes). Већина змија су неотровне и плен убијају стецањем. Међутим, низ врста може уједом убризгати токсине у жртву у циљу онеспособљавања плена или одбране. Ујед је у потпуности контролисан, и змија може прилагодити количину отрова величини плена (и сврси – у случају самоодбране, змија често не инјектује токсине). За инјектовање се користе горњи очњаци, који су шупљи и повезани са жлездом која производи токсин.

Две најважније фамилије отровница су гује одн. Elapidae (која укључује кобре, мамбе, коралне змије), са кратким фиксираним очњацима, и напредније љутице односно Viperidae (звечарке, поскоци), са дугим очњацима који се склапају, а који омогућавају дубоко ињектовање.

Отров елапида (у које спадају и индијска кобра, *Naja naja*, и црна мамба, *Dendroaspis polylepis*) (Слика 9.26.) примарно је неуротоксичан – блокира пренос сигнала са неурона на мишиће, чиме спречава контракције и доводи до парализе. Смрт најчешће наступа услед гушења, када престану контракције дијафрагме, 30–60 минута након уједа. У неуротоксичне пептиде змијског отрова спадају

- фасцикулини код мамби (разарају ацетилхолин естеразу; ацетилхолин остаје везан за постсинаптички неурон, што доводи до грча – тетануса),
- мали протеини дендротоксини код мамби (блокирају транспорт јона кроз мембрану чиме спречавају формирање и пропацију нервног импулса) и
- α -неуротоксини код кобре (блокирају рецепторе постсинаптичке мембране моторне плоче, изазивајући релаксацију, парализу и престанак дисања или рада срца, слично кураре токсину).

Поред неуротоксичних ефеката, отрови елапида могу показивати и некротичка својства (ретко), кардиотоксичност, цитотоксичност (путем лизе ћелијске мембране) итд.



Naja naja



Dendroaspis polylepis

Слика 9.26. Представници фамилије Elapidae

Змијски отров породице Viperidae је модификована пљувачка и представља смешу протеина (угл. ензима), укључујући

- фосфодиестеразе (нарушавају кардиоваскуларни систем, првенствено снижавају крвни притисак),
- фосфолипазу A_2 (хидролизује липиде мембране еритроцита и других ћелија, чиме доводи до хемолизе и некрозе),
- инхибиторе холинестеразе (плен губи контролу над мишићима),
- хијалуронидазу (повећава пермеабилност ткива),
- оксидазе аминокиселина и
- протеазе (имају дигестивну функцију),

- кардиотоксине (доводе до деполаризације мишићних ћелија миокарда) итд.

Отровнице са територије Србије – шарка (*Vipera ursinii*) и поскок (*Vipera ammodytes*) – спадају у Viperidae (Слика 9.27.). Отров виперида типично садржи протеазе, естеразе и хијалуронидазе. Симптоми (бол, отицање, некроза, унутрашње и спољашње крварење, хиповолемија, мучнина, повраћање, дијареја) потичу првенствено од цитотоксичног и коагулопатског дејства (поремећаја коагулације). Смрт је код човека ретка, и наступа услед пада крвног притиска. Због протеолитичког и фосфолипазног дејства, чак и у случају опоравка, уједени уд може подлећи некрози, што захтева ампутацију. Ензими из отрова имају додатну функцију да започињу варење протеина, липида и нуклеинских киселина, пошто је дигестивни систем виперида често слаб.



Vipera ursinii



Vipera ammodytes

Слика 9.27. Представници фамилије Viperidae

9.7 ТОКСИНИ ПТИЦА И СИСАРА

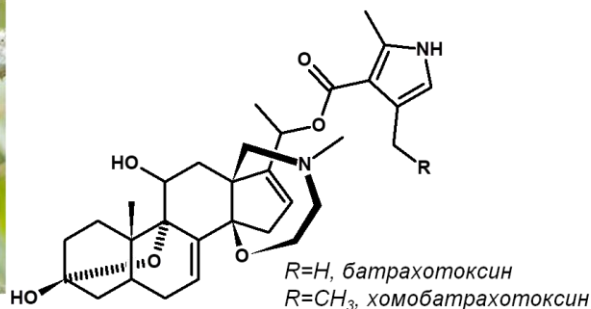
Отровност је код **птица** (класа Aves) веома ретка. Док није позната ниједна врста која активно убризгава токсине, неке су отровне на додир или уколико се поједу. Овакве птице типично акумулирају токсине из хране – биљака и инсеката.

Један од примера је питохуи (*Pitohui* spp., Pachycephalidae), ендемична за Нову Гвинеју. Перје неких врста (*P. kirhocephalus*, *P. dichrous*) садржи већ поменути неуротоксин батрахотоксин (поглавље 9.5.), хомобатрахотоксин и низ сличних једињења, који вероватно потичу од *Choresine* инсеката којима се ова птица храни (Слика 9.28.).

Препелица (*Coturnix coturnix*), уколико се у периодима миграције храни кукутом (*Conium maculatum*), може акумулирати токсичне супстанце које изазивају отказивање бубрега.



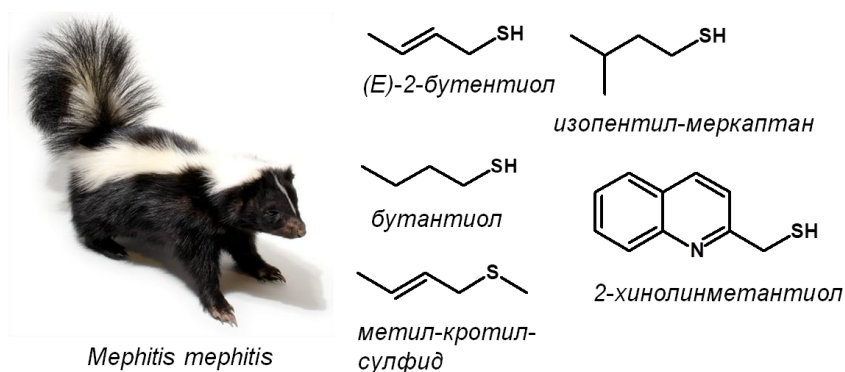
Pitohui dichrous



Слика 9.28. Птица која у перју садржи токсичне алкалоиде

За разлику од бескичмењака и нижих кичмењака, савремени **сисари** веома ретко користе хемијска средства за одбрану и напад, и примарно се ослањају на интелигенцију, снагу, брзину и механичка оружја (канџе, рогови), која делују много брже од отрова. Отров је за сада пронађен код кљунара, ровчица и можда кртца и неких лорија. Неки од сисара користе за одбрану супстанце непријатног мириса; поред најпознатијег примера – твора – ова појава уочена је и код опосума и армадила.

Пругасти твор (*Mephitis mephitis*, Mephitidae), сродник ласица и јазаваца, класичан је пример примене одбрамбених супстанци. Када је угрожен, из две аналне жлезде избацује смешу једињења сумпора којом гађа нападача са високим степеном тачности, до растојања 2–5 m. Смеша укључује једињења као што су метантиол (метил-меркаптан), бутантиол, (*E*)-2-бутен-1-тиол, 3-метил-1-бутантиол (изопентил-меркаптан), метил-кротил-сулфид, 2-хинолинметантиол (Слика 9.29.). Смеша има интензиван перзистентан мирис, код човека детектабилан при концентрацији од 10 ppb, који је веома непријатан и подсећа на покварена јаја, бели лук и спаљену гуму. Овај мирис је у стању да одбије и велике животиње као што су медведи. Присутна једињења делују и као иританси, и могу изазвати привремено слепило. Пошто поседује ограничене залихе ове смеше (за 5–6 пражњења), које се споро обнављају, твор се примарно ослања на апосематско обојење и претеће понашање у случају контакта са предатором.



Слика 9.29. Одбрамбена једињења непријатног мириса код твора

Занимљив случај примене одбрамбених супстанци у комбинацији са понашањем срећемо код опосума (*Didelphis virginiana*, Didelphidae) (Слика 9.30.). Наиме, уколико је угрожен, опосум пада у стање слично коми (танатоза, енгл. *playing possum*), са отвореним очима и испруженим језиком. Истовремено, аналне жлезде испуштају секрет са мирисом трулежи. С обзиром да предатори једу само свеже убијен плен, они ће избегавати оваквог опосума.



Didelphis virginiana



Ornithorhynchus anatinus

Слика 9.30. Сисари који користе одбрамбене хемикалије

Кљунар (*Ornithorhynchus anatinus*, Ornithorhynchidae) (Слика 9.30.) је примитивни сисар ендемичан за источну Аустралију и Тасманију, са низом карактеристика неуобичајених за сисаре (полагање јаја, кљунолика њушка, производња отрова, нижа телесна температура, неуобичајен геном). На задњим ногама поседују “мамузу”, која је код мужјака повезана са отровном жлездом смештеном у бутини. Приликом напада, кљунар обухвата жртву задњим ногама, зарива мамузе у ткиво и инјектује отров (0,1–4 mL). У отрову је идентификовано бар 19 пептида (у којима се могу

наћи и D-аминокиселине, што је једини уочен случај код сисара), заједно са низом непептидних компоненти. Потпуно окарактерисана једињења могу се сврстати у три категорије:

- пептиди слични дефензинима (OvDLPs, енг. *Ornithorhynchus venom defensin-like peptides*),
- натриуретички пептиди C-типа (OvCNP, енг. *Ornithorhynchus venom C-type natriuretic peptides*) и
- фактор раста нерава (OvNGF, енг. *Ornithorhynchus nerve growth factor*).

Детектоване су и пептид изомераза, хијалуронидаза и протеазе. Наведена једињења испољавају низ ефеката, укључујући снижење крвног притиска, повећање довода крви у околини ране, бол итд. За разлику од змијског отрова, токсини кљунара не изазивају некрозу. Док ова смеша за крупније животиње није летална (мада може да убије, на пример, пса), тренутно доводи до отицања и до изузетно јаког и дуготрајног бола који онеспособљава нападача, а који чак ни морфин не може да ублажи. Додатно, осетљивост на бол је повећана (чиме се интензивира дејство отрова) и траје данима или месецима; ефекат потиче од OvNGF. Није познато да ли бол потиче од локалног едема, или директне стимулације ноцицептора. Други симптоми укључују мучнину, болове у стомаку, знојење, отицање лимфних жлезда и мишићну слабост у убоденом уду.

Тачна функција отрова кљунара није сигурна. Док он може имати улогу у одбрани, уочено је да се низ предатора успешно храни овим животињама. Чињеница да је продукција отрова најинтензивнија у периоду парења може указивати на примарну функцију у успостављању доминације над другим мужјацима (за које токсин није леталан и доводи само до привремене парализе удова).

МЕТОДЕ У ЕКОЛОШКОЈ БИОХЕМИЈИ

10

10.1 ОПШТЕ ТЕХНИКЕ УЗОРКОВАЊА

Први корак у свакој анализи, па и анализама везаним за еколошку биохемију, јесте узорковање. Оно мора бити:

- репрезентативно – узета мала количина узорка мора адекватно одражавати стање целе популације,
- репродуктивно – мора увек имати сличне перформансе (прецизност, истинитост, границу детекције и квантификације),
- етички и еколошки прихватљиво – спроведено уз минимално нарушавање екосистема и минималну патњу организама,
- тако спроведено да не нарушава праћене параметре (нпр. не мења типично понашање животиња, не уводи додатне стресоре), и
- брзо, безбедно и економски приступачно.

Сем у случају узгојених огледних популација организама (нпр. пацова у кавезима, биљака у саксијама или на огледним пољима), није могуће нити етички прихватљиво узорковање комплетне популације или комплетног супстрата на коме организми живе. Стога, уобичајени поступак је узимање већег броја појединачних узорака који ће заједно чинити репрезентативну целину. Појединачни узорци могу се дефинисати на више начина:

- код **случајног узорковања**, из целе популације се насумично узима одређен број примерака; поступак је примењив ако је популација хомогена;
- код **систематског узорковања**, унапред се дефинише временски или просторни образац (на пример, испитивана ливада дели се на квадратну мрежу и из сваког квадрата узима по један примерак);

- код **стратификованог узорковања**, популација се прво дели на групе по неком критеријуму (нпр. старости јединке) и затим се из сваке групе случајно или систематски узоркује;
- код **композитног узорковања**, меша се већи број узорака сакупљених на различитим местима и/или током дужег временског периода, и из хомогенизоване смеше узима мали број проба за анализу.

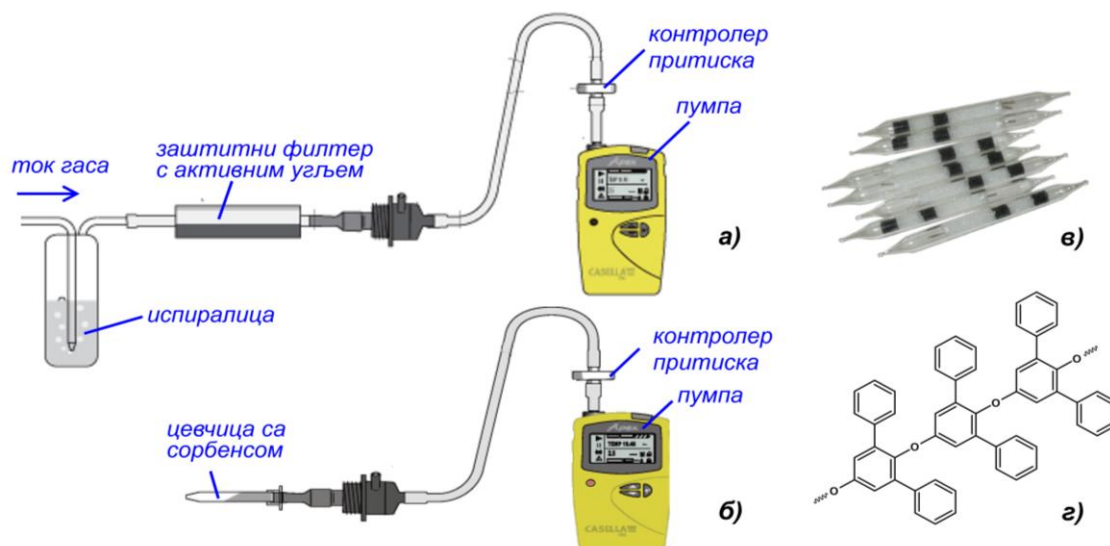
Треба напоменути да је у случају рада са биолошким материјалима природна варијација (мерена нпр. преко стандардне девијације) типично велика, те је неопходно прикупити много већи број узорака (нпр. 20 уместо уобичајених 3).

10.1.1. Узорковања испарљивих једињења

Многа од једињења од интереса за еколошку биохемију (феромони, атрактанти и репеленти) представљају испарљива органска једињења (енг. *volatile organic compounds*, VOCs). То су једињења ниске молекулске масе, претежно липофилна, из класа терпеноида (монотерпени, испарљиви сесквитерпени), нетерпенских алифатичних једињења (угљоводоници, алкохоли, алдехиди и кетони, естри) и ароматичних једињења (фенилпропаноиди), а ређе и деривата азота и сумпора.

Док је сама анализа испарљивих једињења релативно једноставна (уобичајено се ради гасном хроматографијом, GC), узорковање може бити компликовано због отежане манипулације узорком (ваздухом), као и због веома ниских концентрација једињења од интереса, што условљава преконцентрирање узорка.

Једна од класичних техника узорковања гасова је помоћу **испираница** (енг. *bubblers, impingers*, Слика 10.1.). Ваздух се помоћу пумпе, претходно подешене на жељени проток, пропушта кроз испираницу с одговарајућим апсорпционим раствором (супстанцом која аналит добро раствара или с њим реагује). Ваздух бива разбијен у ситне мехуриће велике површине, те долази до преласка жељених компоненти у раствор. Након завршеног узорковања, садржај испиранице се разблажује до дефинисане запремине и анализира, најчешће спектрофотометријски.

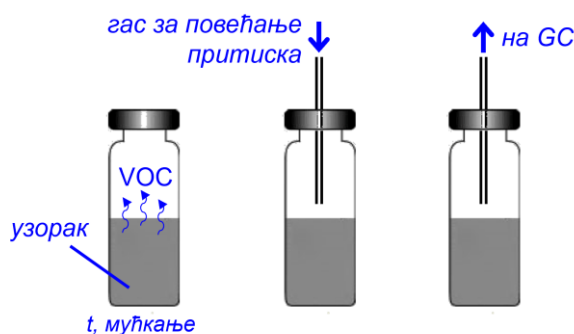


Слика 10.1. Прибор за узорковање гасова: а) систем са испираницом, б) систем са цевчицом са сорбенсом, в) изглед цевчица са сорбенсом, г) структура Тенах фазе

Новија алтернатива, која омогућава боље преконцентровање анализата, а компатибилнија је и с гаснохроматографском анализом, је узорковање помоћу **цевчица са сорбенсом** (енг. *sorbent tubes*). Најчешће се користе стаклене цевчице у којима су фиксирана два слоја чврстог сорбенса као што су активни угаљ, силикагел, или нека реактивна материја на носачу (нпр. динитрофенилхидразин на силикагелу, за узорковање карбонилних једињења). При проласку ваздуха кроз цевчицу, VOC се везују на предњем слоју сорбенса. Након завршеног узорковања, оба слоја сорбенса екстрахују се малом запремином (нпр. 1 mL) одговарајућег растварача и анализирају најчешће GC техником. Предњи слој се користи за квантификацију анализата, а задњи као контрола (уколико се на њему детектује значајна количина анализата, дошло је до пробоја капацитета цевчице и потенцијалних губитака, те се резултат не може сматрати валидним).

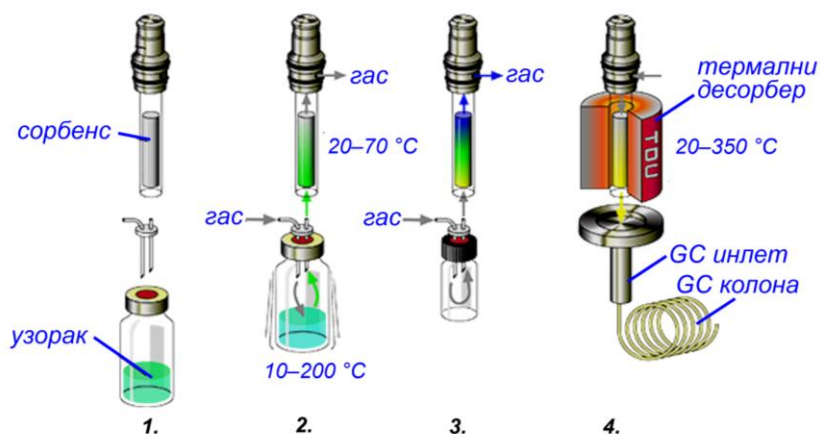
Поред стаклених цевчица, у употреби су и металне **цевчице за термалну десорпцију** (енг. *thermal desorption tubes*), напуњене сорбенсом као што је Тенах (поли(2,6-дифениленоксид)). Уместо екстракције растварачем, аналити се контролисаним загревањем у термалном десорберу (енг. *thermal desorption unit*) превode у гасно стање и директно инјектују у гасни хроматограф. Предност овог приступа је могућност аутоматизације, као и вишеструког коришћења исте цевчице.

Једна од честих техника узорковања испарљивих једињења из течног или чврстог материјала (нпр. биљних ткива, земљишта) је **статичка headspace техника** (енг. *static headspace*, Слика 10.2.). Узорак, коме могу бити додати растварачи, средства за исољавање и сл. смешта се у херметички затворени суд – виал, при чему долази до успостављања равнотеже између течне и парне фазе. Прелазак анализата у парну фазу може стимулисати загревањем и мућкањем. Након задатог времена уравнотежења, *headspace* фаза (парна фаза изнад чврсте или течне материје) узоркује се иглом и преноси директно на GC. Техника је једноставна и по потреби се може извести и у импровизованим условима (уљано или пешчано купатило за термостатирање, гасни шприц за узорковање). Недостатак је слаба осетљивост, те се не може користити за анализе трагова.



Слика 10.2. Принцип статичке *headspace* технике

Боља алтернатива је **динамички headspace** (енг. *dynamic headspace*, *purge-and-trap*, Слика 10.3.). Узорак се смешта у затворени суд (виал, ексикатор, испираницу и сл.) и преко њега, или кроз њега ако је течан, пропушта гас, нпр. пречишћени ваздух. VOC-ови испаравају и, ношени гасом, пролазе кроз замку (енг. *trap*) са сорбенсом као што је активни угаљ, Porapak Q, Tenax и сл. Захваљујући константном току гаса, не долази до уравнотежења него је извлачење испарљивих једињења исцрпно, а захваљујући коришћењу сорбенса долази до везивања и преконцентровања. Након завршеног преношења VOC-ова, сорбенс се може осушити пропуштањем чистог ваздуха, након чега се анализи термалном десорпцијом испаравају и преносе на GC.



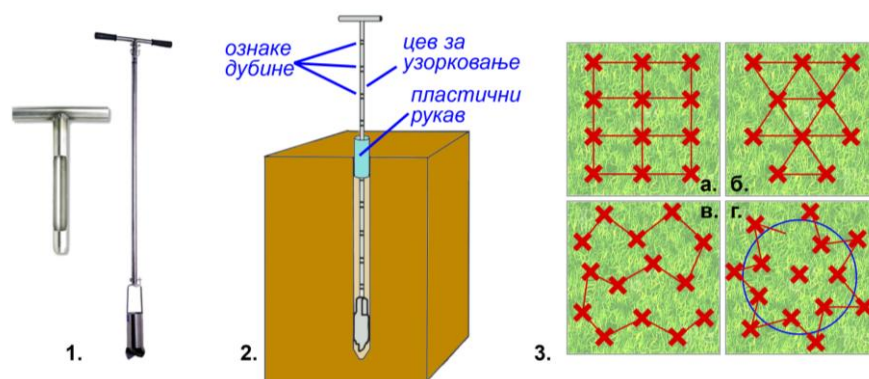
Слика 10.3. Принцип динамичке headspace технике: 1. припрема, 2. десорпција анализата из узорка и сорпција на замци, 3. испирање замке, 4. десорпција анализата са замке на GC

10.1.2. Узорковање земљишта

Анализа узорака земљишта значајна је нпр. код испитивања алелопатских односа биљака, симбиозе биљака и микроорганизама, интеракција између паразитских биљака и домаћина. Земљиште се типично узоркује посебним сондама (енг. *soil sampling tube, auger*, Слика 10.4.) које се забијају у земљу до жељене дубине, и у којима се задржава цилиндрични стуб узорка, тзв. језгро (енг. *core*). Уколико је неопходно узорковање само са одређене дубине, прво се извлачи и одбацује слој земљишта изнад, а затим узима сâм узорак.

Типично се узимају композитни узорци – узоркује се с већег броја места (8–12, па и до 20–30, у зависности од димензија терена), и појединачна језгра се мешају и хомогенизују. Места за сондирање бирају се:

- методом случајног избора,
- помоћу дефинисане мреже,
- кретањем у цик-цак линији, или
- у цик-цак кругу око одређеног локалитета (нпр. оболеле биљке).



Слика 10.4. Узорковање земљишта. 1. аугери за узорковање, 2. принцип узорковања, 3. избор места за сондирање (а,б – помоћу дефинисане мреже, в – кретање у цик-цак линији, г – кретање око одређеног локалитета)

Уколико је потреба анализа алелохемикалија из ризосфере (зона земљишта која окружује корен), биљка се у одређеном периоду (нпр. неколико недеља) гаји у саксији при контролисаним условима. Биљка се затим вади из саксије, стресањем у пластичне кесе уклања се земљиште зоне корена (енг. *root-zone soil*), а затим се са корена сакупља везани слој земљишта (енг. *rhizosphere soil*).

Узорци земљишта просејавају се у циљу уклањања камења, остатака корена, инсеката, глиста и сл. До анализе, чувају се у осушеном стању (сушени на ваздуху) или на ниским температурама ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Треба напоменути да сушење може довести до иреверзибилног везивања појединих супстанци за честице земљишта, као и до губитка испарљивих једињења.

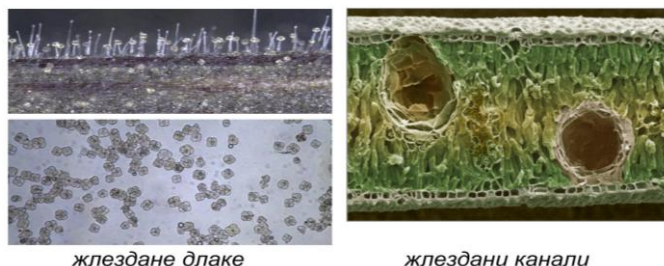
10.2 СПЕЦИФИЧНЕ ТЕХНИКЕ УЗОРКОВАЊА И АНАЛИЗЕ

10.2.1. Узорковање етарских уља биљака

У случају анализе испарљивих компонената ускладиштених у виду **етарских уља** (енг. *essential oils*), један приступ подразумева **директно узорковање** из одговарајућих жлезданих структура – жлезданих длака код породице уснатица (*Lamiaceae*) или жлезданих канала код главочица (*Asteraceae*), штитара (*Apiaceae*) и четинара (*Coniferae*). Ово се може постићи:

- директним извлачењем уља (коришћењем микроскопа и микрошприца), или

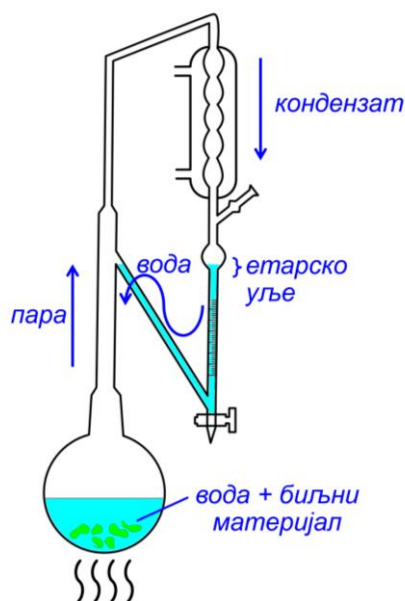
- скидањем жлезданих длака абразијом, одн. мућкањем са стакленим или кварцним куглицама (енг. *bead-beating method*), након чега се оне изолују филтрацијом и екстрахују нпр. дихлорметаном.



Слика 10.5. Складишне структуре етарских уља. Лево: жлездане длаке стабљике парадајза, и њихов изолат добијен абразијом и филтрацијом, десно: жлездани канали

Овако се добија уље хемијски идентично оном у биљци, али у веома малим количинама, довољним само за GC анализу.

Уколико су неопходне веће количине, користе се поступци као што су екстракција и дестилација. Најчешће се примењује континуална **хидродестилација у апаратури по Клевинџеру** (енг. *Clevenger apparatus*, Слика 10.6.). Уситњени биљни материјал и вода стављају се у балон и загревају до кључања. Водена пара са собом носи и испарљиве компоненте из биљке. Кондензат се хвата у бочној грани апаратуре. Притом, етарска уља, која су лакша, испливавају на површину, док вода пада на дно и континуално се враћа у балон преко прелива.

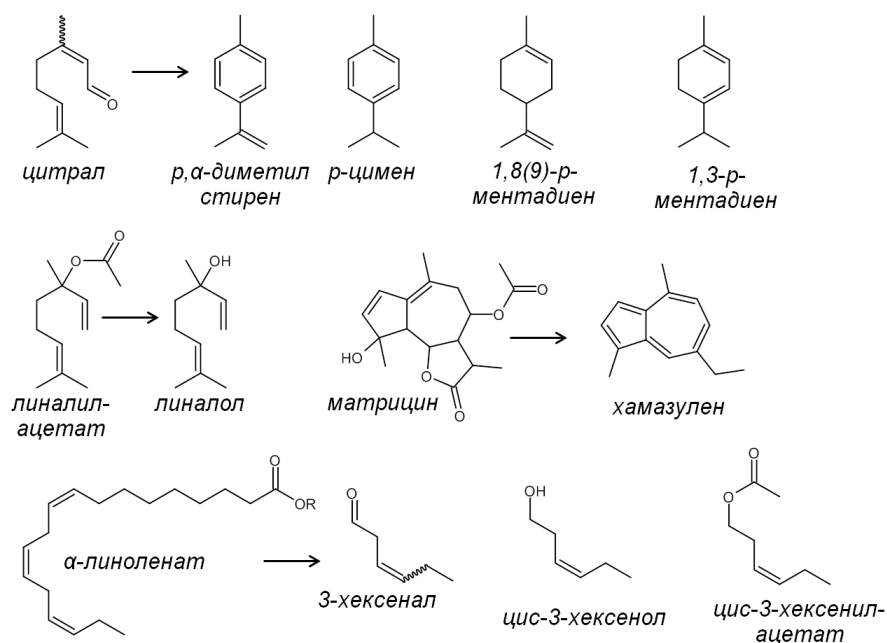


Слика 10.6. Апаратура за хидродестилацију по Клевинџеру

Након завршетка дестилације, уље (коме се може додати хексан ради растварања) се извлачи пипетом.

Треба напоменути да састав производа добијеног дестилацијом не мора верно одражавати профил испарљивих компоненти у биљци. За почетак, природа материјала утиче на динамику екстракције и дестилације – док ће код дестилације из жлезданих длака бити брза и ефикасна, код

дрвенастих материјала оксигенована једињења ће се брзо екстраховати у воду и даље дестиловати док ће угљоводоници бити асоцирани с масним капљицама и увек делимично заостајати у материјалу. Даље, примена високих температура, уз присуство воде и киселина, доводи до промена у хемијском саставу етарског уља и формирања артификаата. На пример, неки монотерпени подлежу дехидратацији и диспропорционисању (Слика 10.7.), терпенски естри делимично хидролизују, неки сесквитерпенски лактони конвертују се у бицикличне аромате азулене, итд. Такође, водорастворне и веома испарљиве компоненте могу бити изгубљене. На крају, пошто се користи целокупан уситњени биљни материјал, а не само жлездане и складишне структуре, поред компоненти етарског уља у дестилату ће бити присутне и компоненте настале при повреди биљног ткива (производи липидне пероксидације, као што су алифатични алкохоли и алдехиди) и компоненте кутикуле (масне киселине и дуголанчани алкани).



Слика 10.7. Примери формирања артификаата при хидродестилацији биљног материјала

10.2.2. *Headspace* узорковање испарљивих једињења биљака

Испарљиве компоненте у биљном материјалу могу се одређивати и статичком *headspace* техником. Предност у односу на хидродестилацију је једноставнији и бржи поступак и мања количина потребног материјала – до неколико стотина милиграма уситњеног узорка смешта се у виал и даље анализира по уобичајеном поступку. Недостатак је слабија осетљивост (будући да је количина материјала мала), дискриминација (испарљивије компоненте, нпр. монотерпени, биће присутније у парној фази од мање испарљивих, нпр. сесквитерпена и монотерпенских естара), а биће присутна и једињења настала услед повреде биљке.

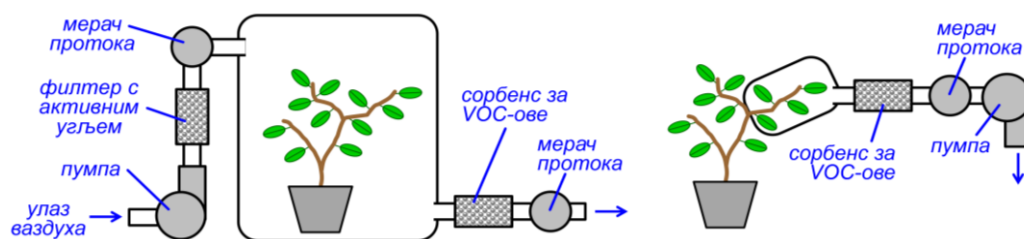
Динамички *headspace* користи се за ***in situ* узорковање испарљивих једињења** емитованих од стране живе биљке, било у лабораторијским условима било у природном хабитату (Слика 10.8.).

Најједноставније је узорковање из целе биљке, мада је оно изводљиво само ако је она малих димензија. Понекад је неопходно испитивање емисије из одређених делова биљке, као што су цвет или лист, нпр. у циљу поређења VOC из репродуктивних и вегетативних ткива, испитивања да ли је одговор на стрес локализован или системски, повезивања емисије са ативношћу ензима специфичних за одређено ткиво итд. У овом случају, користи се или одсечени део биљке (мада ће то довести до стреса и поремећаја профила испарљивих једињења) или се само део живе биљке затвара у посебну комору.

Код динамичког *headspace* узорковања, ваздух (који може претходно бити пречишћен) провлачи се кроз комору у којој је биљка затворена. VOC ношени ваздухом везују се затим на цевчици са сорбенсом, чиме се омогућава узорковање великих количина ваздуха током дужег временског периода и концентровање VOC.

In situ узорковање јесте могуће и техничком статичког *headspace*-а, мада се он због ниских концентрација VOC мора купловати са SPME (енг. *solid phase microextraction*, микроекстракцијом чврстом фазом). У овом случају, у комору у коју је биљка затворена умеће се и SPME влакно – влакно од стопљене силике превучено сорбенсом. Сорбенс ће везивати и

концентровати VOC из парне фазе. Након довољно дугог узорковања, влакно се пребацује у инлет гасног хроматографа, где долази до термалне десорпције и преношења VOC на хроматографску колону.

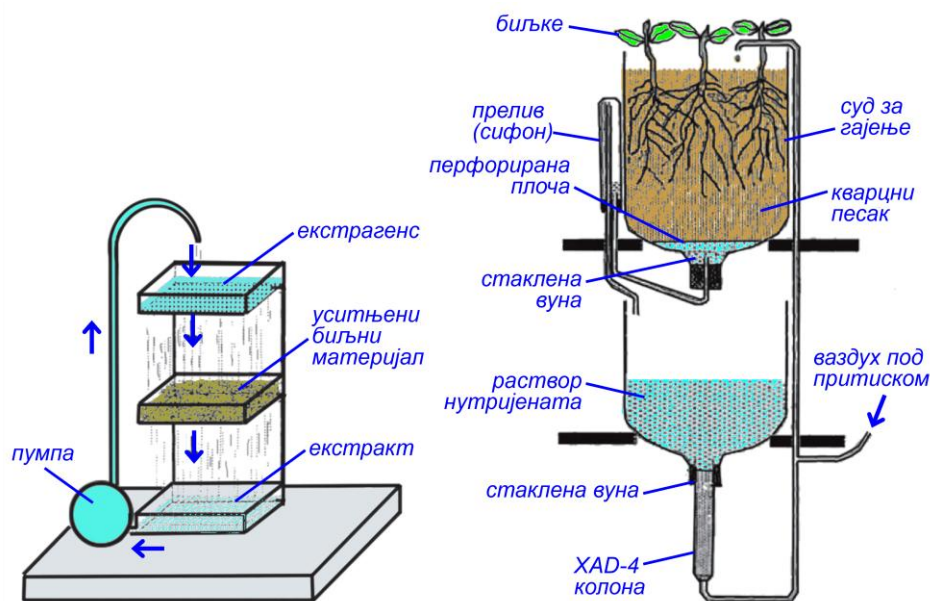


Слика 10.8. Динамичко *headspace* узорковање испарења из целе живе биљке (лево) и дела живе биљке (десно)

10.2.3. Испитивање излучевина биљака

У неким случајевима, супстанце које биљка излучује (енг. *exude*), или које се излучују (цеде, енг. *leach*) у околину из отпадака (лишћа, коре, гранчица) могу имати алелопатско дејство. Овакве супстанце могу се узорковати нпр. помоћу **плувиотрона** (Слика 10.9.). Апаратура се састоји од три тацне смештене у металне оквиру, при чему су горње две тацне перфориране. У средњу тацну поставља се материјал – узорак биљног отпада. Горња тацна пуни се водом. Вода капље на средњу тацну као киша, натапа биљни материјал, излучује неке од компонената. и кроз отворе пада у доњу тацну, одакле се пумпом поново враћа у горњу. Након 48 h рецикулације, екстракт се филтрира и даље анализира.

Излучевине (ексудати) корена живе биљке могу се узорковати **системом са двоструким судом** (енг. *double-pot continuous root-exudate trapping system*, Слика 10.9.). Биљка се гаји у стакленом суду с инертном испуном (кварцним песком) која се натапа Hoagland-овим раствором нутријената ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , H_3BO_3 , MnCl_2 , ZnSO_4 , CuSO_4 , H_2MoO_4). Када је коренски систем добро развијен, на доњи део резервоара са нутријентима повезује се колона пуњена XAD-4 смолом (адсорбент на бази стирен-дивинилбензен кополимера). Приликом рецикулације раствора нутријената кроз колону, долази до везивања ексудата корена. Након неколико дана, колона се скида, испира, елуира и добијени екстракт даље припрема за анализу.



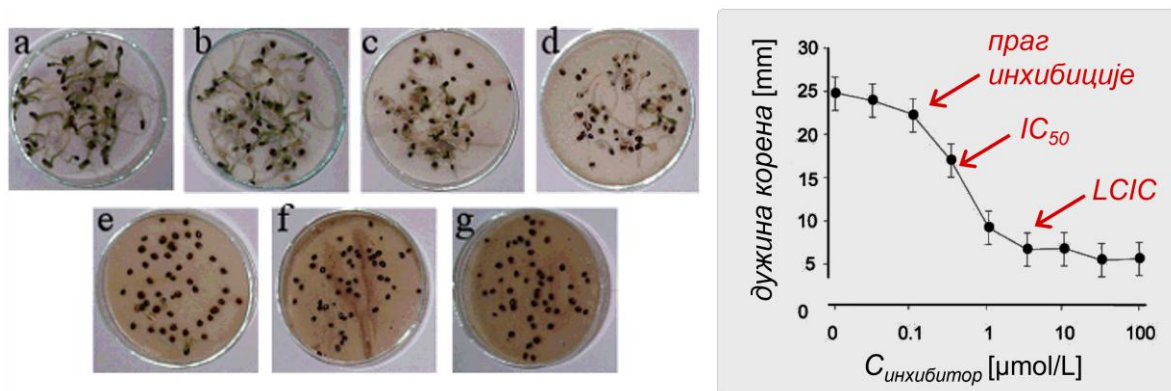
Слика 10.9. Апаратуре за сакупљање излучевина биљака – плувиотрон (лево) и систем са двоструким судом (десно)

Алтернативни поступак је гајење биљке при контролисаним условима у чашама са **агаром као подлогом** током нпр. недељу дана. Након уклањања биљака, ексудати се из агара екстрахују растварачем, нпр. етром.

10.2.4. Испитивање алелопатије

Алелопатски ефекти испитују се излагањем биљке алелохемикалијама при контролисаним условима и праћењем различитих морфолошких и физиолошких параметара.

Један од уобичајених лабораторијских поступака је **тест утицаја на клијање семена** (енг. *seed germination assay*, Слика 10.10.). Семенке посматране врсте-реципијента постављају се у херметички затворену петри-шољу заједно са дефинисаном количином потенцијалног алелопатског агенса (чистог једињења, биљног екстракта, ексудата и сл.) и инкубирају при контролисаним условима. Свакодневно се пребројавају проклијале семенке (семенке код којих је клица пробила омотач) и израчунавају одређени индекси клијања, као што су укупна герминација (проценат проклијалих семенки), брзина герминације, коефицијент брзине герминације и сл.



Слика 10.10. Тест утицаја растворних агенаса на клијање семена. LCIC (*Least complete inhibitory concentration*) – најнижа концентрација која изазива потпуну инхибицију, IC_{50} – концентрација која изазива 50 % инхибиције

Експеримент се може изводити и након клијања (енг. *postgermination assay*). Већ проклијале семенке, с кореновима уједначене дужине, на исти начин се излажу различитим концентрацијама алопатског агенса. Прате се погодни морфолошки или физиолошки параметри, као што су дужина корена или изданка, димензије листа, маса биљке, садржај хлорофила и сл. Из графика зависности праћеног параметра од концентрације агенса, одређују се праг инхибиције (минимална концентрација агенса која изазива ефекат), IC_{50} (концентрација која резултује 50 %-тном инхибицијом раста) и најнижа концентрација која обезбеђује потпуну инхибицију.

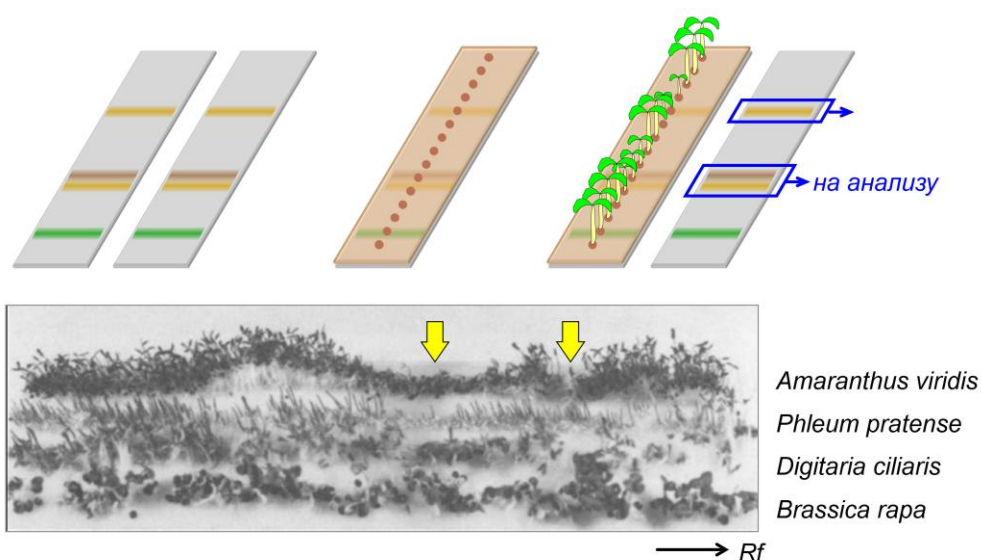
Алопатски утицај испарљивих компоненти (етарског уља), за кога се сматра да је значајан у топлим, сувим крајевима, тестира се у *headspace* систему (Слика 10.11.). У већи стаклени суд (нпр. ексикатор) поставља се влажни филтер-папир као подлога, и на њега распореди већи број (нпр. 30) проклијалих семенки испитиване биљке-реципијента.

У центар посуде постави се отворени суд са око 2 g етарског уља или чистог једињења. Систем се држи при контролисаним условима (температура, притисак, осветљеност) и након задатог времена (24 h, 48 h, 96 h) биљке се узоркују и оређују се параметри као што су дужина корена и маса осушених семенки. Поређењем са системом без етарског уља може се извести закључак о евентуалним алопатским ефектима. Уколико је потребно, гасним шприцем може се извући и садржај атмосфере суда ради GC анализе.



Слика 10.11. Тест утицаја испарљивих агенаса на клијање семена

Експеримент са клијањем може се извести и **биоаутографски** – комбинацијом хроматографског раздвајања и теста биоактивности (Слика 10.12.). На две TLC плоче развије се хроматограм испитиваног екстракта или етарског уља из биљке-емитера. Једна плоча се затим прекрива слојем агара, у који се засеју семенке биљке-реципијента (у случају шире плоче, могуће је паралелно испитивање више реципијената). Плоча се инкубира неколико дана, и прати се утицај појединих хроматографских трака (зона) на клијање. Друга плоча се паралелно изазива неким реагенсом за доказивање, или се зоне стружу, екстрахују и анализирају нпр. GC-MS, HPLC-DAD или HPLC-MS техником, а у циљу идентификације активних компоненти.



Слика 10.12. Биоаутографско испитивање алелопатског утицаја. Горе – принцип. Доле – утицај компонената ексудата корена *Reynoutria sachalinensis* на зелени амарант, маџи реп, сврачицу и репу

10.2.5. Испитивање фагоатрактантног и фагорепелентног дејства

Фагоатрактантно или фагорепелентно дејство једињења или смеше може се испитати поређењем учесталости храњења дате животиње нетретираном и третираном храном.

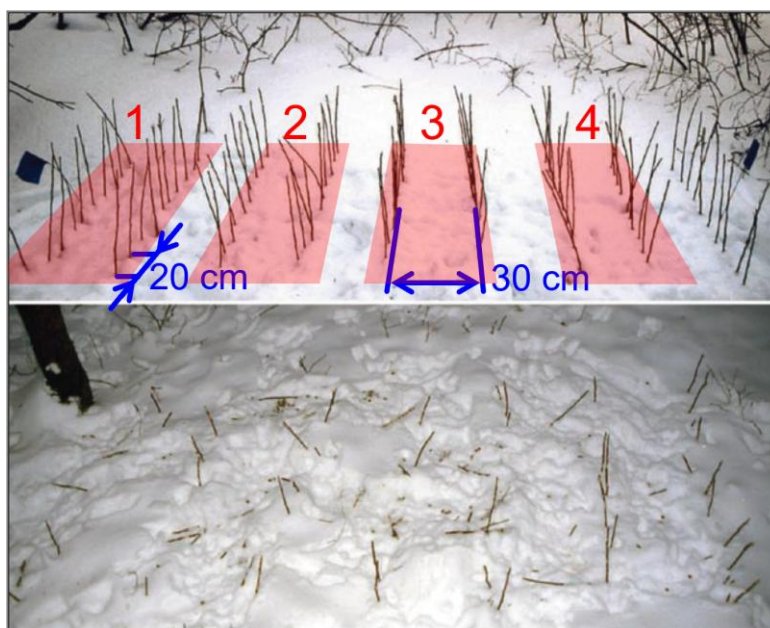
На пример, приликом испитивања **утицаја метил-антранилата** (компоненте ароме грожђа) **на птице** (Слика 10.13.), припрема се пет хранилица са семенкама. У три, семенке се третирају различитим концентрацијама (0,5 %, 1 % и 2 %) раствора метил-антранилата у етанолу (пробе), у једној само етанолом (енг. *solvent blank*) а у једној се не третирају (слепа проба, енг. *blank*). Хранилице се каче на дрвеће у подручју где су птице активне. По потреби, пре почетка експеримента могуће је привући птице у дату област качењем хранилица са нетретираним семенкама. У току извођења експеримента, да би се избегли евентуални утицаји позиције на резултате, хранилице се пермутују 2 пута дневно. Током неколико дана, прате се потрошња семенки у хранилицама и врсте птица које посећују хранилице. На основу резултата, могуће је извести закључке о евентуалном деловању метил-антранилата и зависности ефекта од концентрације. Испитивањима је потврђено да метил-антранилат и нека сродна једињења делују одбојно на различите птице, укључујући голубове, чворке, црвенокриле косове, канадске гуске итд. Захваљујући томе, метил-антранилат је нашао примену као репелент за заштиту травњака и усева.



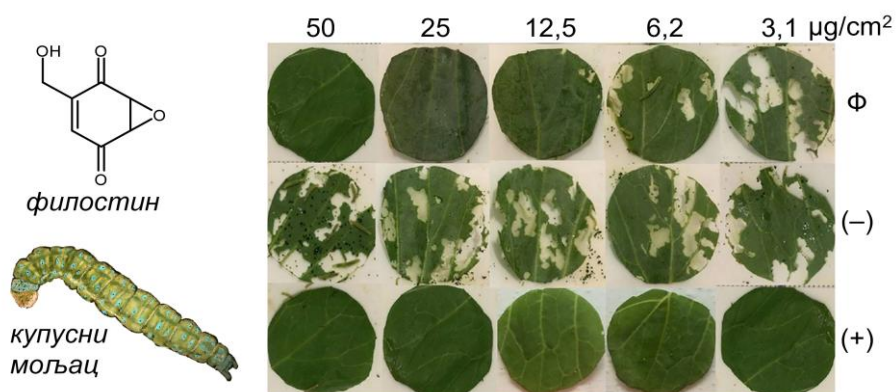
Слика 10.13. Испитивање фагорепелентног дејства метил-антранилата према птицама

Могуће је и испитивање **преференција животиња које се хране кором дрвета**, као што су зечеви. Експеримент се изводи у току зиме,

када су природни извори хране екстремно ограничени, те је вероватније да ће животиње прихватати и често посећивати храну понуђену на месту извођења експеримента. За оглед се користе јестиве гране, нпр. јабуке, крушке или вишње, исечене до једнаке дужине (нпр. 50 cm). Гране се забадају у земљу, распоређене у матрицу 10×10 (Слика 10.14.). По два реда гранчица представљају један „псеудожбун“ и подвргавају се једнаком третману – натапању раствором тестиране супстанце (чистог једињења или биљног екстракта) или остављају као контрола. Током 3–5 ноћи прати се колико животиње конзумирају гранчице из сваке групе (колико је врхова оглодано, колика дужина гранчица је поједена, или с које дужине је скинута кора), при чему се сваког дана постављају нове гранчице. Време праћења прилагођава се понашању животиња – ако животиње у почетку игноришу мамац, експеримент се продужава, а ако га брзо једу те постоји ризик да ће потпуно обрстити и гранчице третиране репелентом, скраћује се.



Слика 10.14. Испитивање преференција животиња које се хране кором дрвета. Горе – матрица гранчица, са псеудожбуновима означеним бројевима, доле – иста матрица након неколико ноћи изложености животињама.



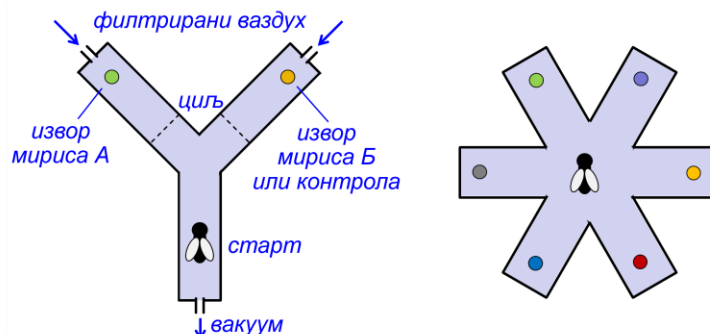
Слика 10.15. Испитивање преференција хербиворних инсеката – фагорепелентно дејство филостина (из гљивице *Diaporthe mirisicae*) на ларву купусног мољца (*Plutella xylostella*). Φ – проба (филостин), (-) – негативна проба (нетретирани листови купуса), (+) – позитивна проба (листови третирани екстрактом нима, *Azadirachta indica*).

Преференције хербиворних инсеката, које су комбинација позитивног одговора на нутријенте (шећери, протеини) и позитивног или негативног утицаја на секундарне биомолекуле (танине и дуге феноле, алкалоиде, терпене), лако се испитују тестом са диском листа (енг. *leaf disk test*, *leaf disk choice test*). Исецају се дискови листа или филтер-папира уједачених димензија, нпр. 2,5 cm², третирају нпр. различитим концентрацијама фагорепелената, и равномерно распоређују у петри-шољу. У шољу се смешта и инсект или ларва, и након одређеног времена (нпр. 15 min) бележи колики део сваког диска је поједен, и колико времена је инсект провео на сваком од дискова (Слика 10.15.).

10.2.6. Испитивање феромона

Феромонска комуникација код инсеката и малих сисара често се испитује коришћењем **Y-лабиринта** (енг. *Y-maze*, *T-maze*, *two-way choice apparatus*, Слика 10.16.) који се састоји од три крака (цеви или канала) спојена у центру. Животиња која се тестира поставља се на улаз, а у друга два крака постављају се извори мириса – потенцијалних феромона. Ако је потребно истовремено тестирати већи број узорака, може се користити и **радијални лабиринт**, са већим бројем кракова. Струјом ваздуха може се, по потреби, обезбедити дифузија одораната кроз систем. Током експеримента, бележи се први избор животиње (у који ће крак прво ући) и

време проведено у сваком од кракова, на основу чега се изводе закључци о атрактантном или репелентном дејству.

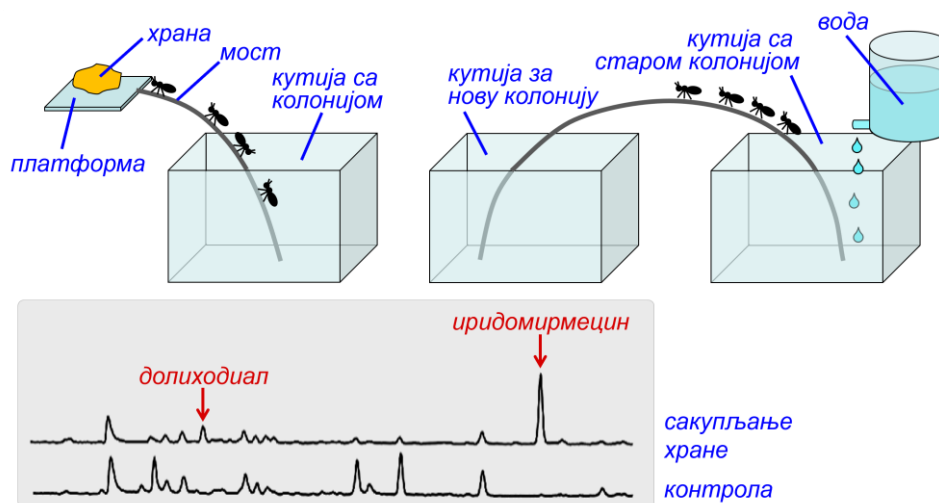


Слика 10.16. Апаратуре за испитивање феромонског деловања – Y-лабиринт (лево) и радијални лабиринт (десно)

Пример је испитивање комуникације преко мириса код мишева (*Mus musculus*). Када се у један крак лабиринта стави филтер-папир третиран урином мужјака, а у други нетретиран или третиран урином женке, мужјаци и женке различито ће се понашати. Тако, доминантни мужјаци ће покушати да својим урином покрију мирис урина других мужјака. Слабији мужјаци и младунчад само испитују ознаке и држе се територије свог доминантног мужјака. Женке које се доминантно паре привлачиће ознаке локалног доминантног мужјака, избегаваће ознаке суседних и непознатих мужјака, а истовремено ће се „потписивати“ преко ознака других женки.

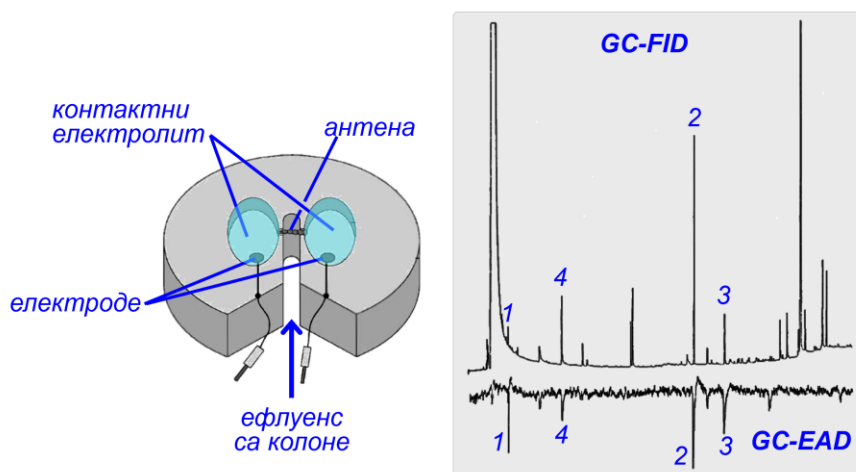
Феромони маркирања путање значајни су код друштвених инсеката који одлазе у сакупљање хране за колонију. Директно екстраховање ових једињења из површинског слоја земљишта није практично због комплексности матрикса, и изузетно ниских концентрација. Уместо тога, користе се технике које омогућавају контролисано наношење и преконцентровање маркера. Ово се може постићи постављањем моста од инертног материјала (стаклене жице или жице превучене тефлоном) између лабораторијске колоније и циља – хранилице са раствором сахарозе (Слика 10.17.). Инсекти ће феромон наносити на жицу, са које се касније лако може екстраховати и даље анализирати. Алтернативно, мост се делом може направити и од SPME влакна. У овом случају, феромони ће се адсорбовати на влакну, и даље се термалном десорпцијом директно преносе на GC.

Сем хране, мотивација за кретање инсеката може бити и релокација (евакуација) колоније изазвана нпр. плављењем старе колоније (енг. *flooding-induced nest relocation scenario*).



Слика 10.17. Апаратуре за испитивање феромона за маркирање путање, приликом потраге за храном (лево) и релокације (десно). Доле, пример гасног хроматограма испарљивих једињења са влакна.

У комплексним смешама испарљивих једињења, супстанце са феромонском активношћу могу се идентификовати техником гасне хроматографије купловане са електроантенографском детекцијом (енг. *electroantennographic detection*, EAD, Слика 10.18.). GC-EAD се заснива на чињеници да антене инсеката садрже високоселективне олфакторне рецепторе, који при активацији генеришу електрични потенцијал – нервни импулс. Антена са огољеним крајевима (или глава инсекта, са антенном са огољеним крајем) поставља се у носач, при чему крајеви антене преко електролита (чији је састав прилагођен саставу хемолимфе) успостављају електрични контакт с паром Ag/AgCl електрода. Електроде су повезане на уређај за појачавање сигнала, који се затим преко A/D конвертера прослеђује GC инструменту. Измерени потенцијал сразмеран је концентрацији супстанце. GC-EAD се често комбинује с другим техникама детекције, нарочито масеном спектрометријом (MS), која омогућава идентификацију детектованих феромона.



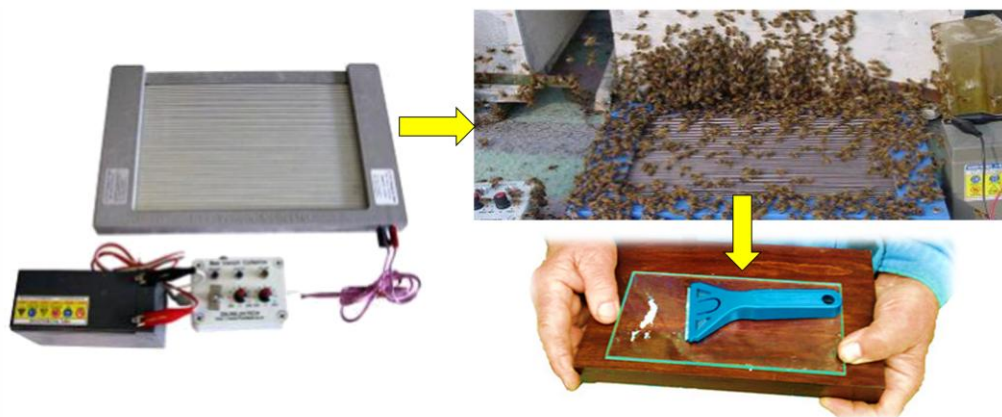
Слика 10.18. Електроантенографија. Лево, пример детектора на бази антене инсекта. Десно, FID и EAD хроматограми екстракта феромонске жлезде балегара (*Xylocopa boenellii*). Најактивнија једињења су 2-бутанон (**1**), цис-метил-каскарилат (**2**), скатол (**3**) и бутерна киселина (**4**)

10.2.7. Узорковање животињских отрова

Постоје различите технике за сакупљање отрова из животиња, најчешће путем контролисаног изазивања одговора – уједа, убода или лужења.

Први поступци за сакупљање пчелињег отрова подразумевали су „мужу“, одн. држање пчеле између прстију и **узорковање капи** која се појави на врху жаоке. Алтернативно, могуће је и **вађење резервоара отрова** из абдомена пчеле, у ком случају долази до угинућа.

Данас се за сакупљање користе **уређаји који електричним импулсима стимулишу пчеле** да убадају и луже отров. На улаз кошнице поставља се оквир колектора, који се састоји од носача са мрежом металних жица, повезаних на извор пулсирајуће једносмерне струје (Слика 10.19.). Испод оквира постављена је стаклена плоча. Када пчела дође у контакт са две суседне жице, које су повезане на супротне полаве извора струје, она затвара коло и прима благи електрични шок, који схвата као опасност и одговара убадањем. Отров се депонује на стакленој плочи, с које се лако може састругати. Овим се постиже ефикасно сакупљање неколико стотина милиграма отрова уз минималну штету по пчеле – добро подешен систем не повреди више од 5–15 пчела по кошници (која садржи и до 50 000–80 000 пчела) током 30–40 min узорковања.



Слика 10.19. Поступак узорковања пчелињег отрова електричном стимулацијом

Алтернативно се може користити и **хемијска стимулација**. Општи анестетици, као што су етар и трихлоретен, као и алармни феромони изоловани из инсеката, могу код инсеката изазвати екситацију. У цев кроз коју тече струја ваздуха са мало паре анестетика смешта се неколико стотина инсеката. Након депоновања отрова, „измужени“ инсекти мењају се свежим, све док се у цеви не сакупи довољно отрова, који се затим може екстраховати.

11. Извори слика

- 2.4. Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 2002.
- 2.5. <https://www.mocbilja.rs/kukuruz-zea-mays-1/>
<https://nova.rs/auto/elektricna-mobilnost-u-petoj-najvecoj-drzavi-na-svetu-je-propala-a-verovali-ili-ne-razlog-je-secerna-trska/>
<https://www.agroinfo.rs/ratarstvo/proso-zaboravljena-zitarica-3583>
- 2.7. <https://rasadnikmalivrt.rs/product--cuvarukuca-lekovita-veca#group>
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Agava_3401151.jpg
<https://pt.wikipedia.org/wiki/Anan%C3%A1s#/media/Ficheiro:Ananas!.jpg>
- 2.9. <https://westchestertreelife.com/2015/12/how-trees-survive-winter/tree-cell-membrane-winter/>
- 2.11. <https://askentomologists.com/wp-content/uploads/2015/10/dry.png>
- 2.12. https://www.researchgate.net/profile/Bruno-Maresca/publication/292729798/figure/fig2/AS:669453540945944@1536621570566/Possible-arrangements-of-amphipathic-membrane-lipids-a-Bilayer-lamellar-phase-in_W640.jpg
- 2.14. <https://www.joelsartore.com/fis041-00157/>
<https://www.americanocceans.org/species/winter-flounder/>
<https://entomologytoday.org/2019/03/07/maximizing-mealworms-research-aims-to-improve-rearing-methods/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Choristoneura#/media/File:Choristoneura_hebenstreitella01.jpg
<https://www.eekwi.org/animals/other-invertebrates/snow-fleas>
- 2.15. Karshikoff A, Ladenstein R. Ion pairs and the thermotolerance of proteins from hyperthermophiles: a traffic rule for hot roads. *Trends Biochem Sci*, 2001, 26: 550–556.
- 2.16. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:070801_black_smoker_02.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Fly_Geyser#/media/File:Fly_geyser.jpg
- 2.17. <https://www.needpix.com/photo/download/1194486/flooded-rice-fields-rice-rice-plant-free-pictures-free-photos-free-images-royalty-free-free-illustrations>
- 2.22. <https://en.wikipedia.org/wiki/Aerenchyma#/media/File:Aerenchyma2.JPG>
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aerenchyma_in_hydrophyte_leaf_%2833958474393%29.jpg
- 2.25. <http://www.asunion.rs/mikoriza/rhizo-vam-basic/>
- 2.26. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/92/Astragalus_bisculatus.jpg
<https://alclanativeplants.com/product/grindelia-squarrosa/>
- 2.30. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salicornia_procumbens_plant_%2803%29.jpg
<https://flora-on.pt/#/hir2M>
- 3.1. https://en.wikipedia.org/wiki/Floral_morphology#/media/File:Mature_flower_diagram.svg
- 3.2. https://en.wikipedia.org/wiki/Insect_mouthparts#/media/File:Evolution_insect_mouthparts_coloured_derivate.png
<https://www.flickr.com/photos/andymorffew/21310837273/>
Queiroz JA, Quirino ZG, Machado IC. Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. *AoB Plants*. 2015, 7:127.
- 3.4. <https://www.gardendesign.com/flowers/orange.html>
<https://www.gardenersworld.com/how-to/grow-plants/pink-roses/>
<https://www.planetnatural.com/blue-flowers/>
- 3.5. <https://www.britannica.com/science/anthocyanin#/media/1/27352/252532>
- 3.8. Trouillas P, Sancho-Garcia JC, De Freitas V, Gierschner J, Otyepka M, Dangles O. Stabilizing and modulating color by copigmentation: insights from theory and experiment. *Chem Rev*, 2016, 116: 4937–82.
- 3.9. <https://www.ipmimages.org/browse/subthumb.cfm?sub=4224#>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ad/Prole%C4%87no_cve%C4%87e_3.JPG
- 3.10. <https://ivanapfc.wordpress.com/2016/04/09/narcis/>

- <https://urbangarden.rs/proizvod/lala-van-der-mark/>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c3/Beautiful_Chrysanthemum.JPG
<https://saffronscents.ae/saffron-the-king-of-spices/>
<https://etarskaibiljnaulja.rs/prirodne-sirovine-za-negu-i-lepotu/neven-cvet-581.html>
- 3.11. <https://identify.plantnet.org/de/k-world-flora/observations/1021735059>
<https://www.gardenia.net/plant/opuntia-ficus-indica-prickly-pear>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Red_beet_%28Beta_vulgaris_L.%29.jpg
 - 3.12. <https://www.pickpik.com/european-honeybee-pollinator-insect-flower-blue-rubus-fruticosus-145419>
<https://www.mklibrary.com/flowers-that-attract-bees/>
<https://www.pickpik.com/animal-beautiful-bee-bloom-blooming-blossom-102720>
https://i0.wp.com/okinawanaturephotography.com/wp-content/uploads/2018/02/IMG_9348.jpg
 - 3.13. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7c/Humming_flowers.jpg
<https://www.needpix.com/photo/download/293222/rainbow-lorikeet-parrot-colourful-bird-australian-wild-blossom-red-flowers>
 - 3.14. Qian J, Jiang L, Qing H, Chen J, Wan Z, Xu M, Fu J, Zhang C. ZeMYB9 regulates cyanidin synthesis by activating the expression of flavonoid 3'-hydroxylase gene in *Zinnia elegans*. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 981086.
 Davies, KM. Modifying Anthocyanin Production in Flowers. Y: Winefield, C., Davies, K., Gould, K. (Yp) Anthocyanins. Springer, New York, NY. 2008.
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:2006-10-16-Salvia8.jpg>
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:2007-04-20Saintpaulia_ionantha04.jpg
https://www.fs.usda.gov/wildflowers/plant-of-the-week/images/scarletgilia/Ipomopsis_aggregata_hegji02_lg.jpg
http://www.llife.com/Encyclopedia/SUCCULENTS/Family/Gesneriaceae/22905/Sinningia_cardinalis
 - 3.15. https://www.fs.usda.gov/wildflowers/plant-of-the-week/images/scarletgilia/Ipomopsis_aggregata_hegji02_lg.jpg
<https://www.inaturalist.org/photos/22701051>
 - 3.16. [https://en.wikipedia.org/wiki/Cymbalaria_muralis#/media/File:\(MHNT\)_Cymbalaria_muralis_-_flower.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Cymbalaria_muralis#/media/File:(MHNT)_Cymbalaria_muralis_-_flower.jpg)
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f2/Digitalis_purpurea_003.JPG
https://species.wikimedia.org/wiki/Papaver_somniferum#/media/File:Papaver_somniferum_flowers.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Streptocarpus_formosus00.jpg
 - 3.17. <https://www.nikoncafe.com/threads/rudbeckia-hirta-the-good-ol-uv-nikkor-always-delivers.318246/>
 - 3.20. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Cleren_ar_flodyn_-_A_fly_on_a_flower_-_geograph.org.uk_-_509899.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7f/Helleborus_foetidus_RF.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Dracunculus_muscivorus.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Dracunculus_muscivorus.jpg
 - 3.22. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:86087-1/general-information>
<http://alpinky.com/skalnicky/A/Arum%20nigrum.htm>
 - 3.23. https://en.wikipedia.org/wiki/Bactrocera_dorsalis#/media/File:Bactrocera_dorsalis.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cassia_fistula_flowers_5.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Zieria_smithii#/media/File:Zieria_smithii.jpg
 - 3.24. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8d/Bee_Orchid_%28Ophrys_apifera%29_%2814374841786%29_-_cropped.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/05/Ophrys_bombyliflora_Mallorca_01.jpg
<http://aramel.free.fr/INSECTES18ter-20.shtml>

- 3.25. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/90/Stanhoepa_jenischiana_Orchi_009.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2f/Orchid_bee_%28Apidae%2C_Eulaema_cingulata_%28Fabricius%29%29_%2836383528753%29.jpg
- 3.27. [https://en.wikipedia.org/wiki/Rhododendron_luteum#/media/File:Rhododendron_luteum_\(flower\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Rhododendron_luteum#/media/File:Rhododendron_luteum_(flower).jpg)
https://en.wikipedia.org/wiki/Arbutus_unedo#/media/File:Badaia_-_Barranco_de_los_Goros_-_Madro%C3%B1o_02.jpg
- 3.28. <https://pixabay.com/photos/stamen-pistil-flower-lily-nature-4755543/>
<https://www.sciencephoto.com/media/33463/view/morning-glory-pollen-grains-sem>
<https://www.wakefieldexpress.co.uk/lifestyle/outdoors/bumble-bee-captured-in-mid-flight-with-bags-of-pollen-on-her-legs-3368659>
<https://beelekar.ru/product/perga-100-grgranuly>
- 4.1. <https://pixnio.com/hr/biljke/cvijece/kaktus/kaktus-veliki-trnje>
<https://pxhere.com/en/photo/779625>
<https://www.pexels.com/de-de/foto/lebensmittel-essen-gesund-landwirtschaft-3910158/>
- 4.2. <https://pxhere.com/en/photo/1157954>
- 4.3. <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/convallaria-majalis/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Canavalia_ensiformis#/media/File:Canavalia.jpg
- 4.4. [https://en.wikipedia.org/wiki/Vicia_sativa#/media/File:\(MHNT\)_Vicia_sativa.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Vicia_sativa#/media/File:(MHNT)_Vicia_sativa.jpg)
https://en.wikipedia.org/wiki/Mucuna_pruriens#/media/File:Mucuna_pruriens_flower.jpg
- 4.7. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60439867-2>
- 4.8. <https://sr.puntomarino.com/what-is-cassava-description-application/>
<https://www.facebook.com/photo/?fbid=812784815759549&set=a.165665503804820>
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cassava_\(Manihot_esculenta\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cassava_(Manihot_esculenta).jpg)
- 4.10. https://en.wikipedia.org/wiki/White_mustard#/media/File:Gele_mosterd_bloemen_Sinapis_alba.jpg
- 4.11. https://en.wikipedia.org/wiki/White_mustard#/media/File:Sinapis_seeds.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Korina_2015-06-12_Brassica_nigra_2.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Rhamphospermum_nigrum#/media/File:Black_mustard.jpg
- 4.12. <https://wiki.poljoinfo.com/kupusova-pepeljasta-vas/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Pieris_rapae#/media/File:Pieris.rapae.caterpillar.jpg
Mpumi N, Machunda RS, Mtei KM, Ndakidemi PA. Selected insect pests of economic importance to brassica oleracea, their control strategies and the potential threat to environmental pollution in Africa. *Sustainability*, 2020, 12: 3824.
- 4.14. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Jacobaea_vulgaris_subsp._vulgaris_flowers,_Jakobskruid_bloemen.jpg
<https://identify.plantnet.org/es/invasion/species/Senecio%20jacobaea%20L./data>
- 4.16. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Arctica_caja_1_Luc_Viatour.JPG
https://en.wikipedia.org/wiki/Garden_tiger_moth#/media/File:Garden_Tiger_Moth.JPG
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Danaus_plexippus_158zz.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Monarch_%28Danaus_plexippus%29,_Larva_%2837734052396%29.jpg
[https://en.wikipedia.org/wiki/Cinnabar_moth#/media/File:Cinnabar_moth_\(Tyria_jacobaeae\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Cinnabar_moth#/media/File:Cinnabar_moth_(Tyria_jacobaeae).jpg)
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tyria_jacobaeae_Caterpillar._-_Flickr_-_gailhampshire.jpg
- 4.18. https://en.wikipedia.org/wiki/Nicotiana_tabacum#/media/File:Tabak_P9290021.JPG
- 4.19. https://en.wikipedia.org/wiki/Amanita_phalloides#/media/File:Amanita_phalloides_1.JPG
- 4.20. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ricinus_communis_%28cultivars%29_2040.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Abrus_precatorius_Crab%27s_Eye_%2816423378571%29.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Soybean#/media/File:Glycine_max_003.JPG

- <https://www.rcsb.org/structure/1ABR>
<https://www.rcsb.org/structure/1AVU>
<https://www.rcsb.org/structure/2AAI>
- 4.21. https://en.wikipedia.org/wiki/Phaseolus_vulgaris#/media/File:French_beans_J1.JPG
<https://www.rcsb.org/3d-view/1FAT/1>
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Viscum_album_fruit.jpg
<https://www.rcsb.org/structure/7PVB>
 - 4.23. https://en.wikipedia.org/wiki/Tanacetum_parthenium#/media/File:Feverfew.jpg
https://www.wotncr.org/wildflowers/nepeta_cataria.html
 - 4.24. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5a/Pyrethrum_cinerariifolium-3-xavier_cottage-yercaud-salem-India.JPG
 - 4.25. <https://cdstar.shh.mpg.de/bitstreams/EAEA0-B881-7C4F-0499-0/full.jpg>
 - 4.27. https://en.wikipedia.org/wiki/Digitalis_purpurea#/media/File:Digitalis_Purpurea.jpg
 - 4.28. <https://www.pharmacy180.com/article/cardiac-glycosides-1181/>
 - 4.29. [https://en.wikipedia.org/wiki/Asclepias#/media/File:Asclepias_curassavica_\(Mexican_Butterfly_Weed\)_W_IMG_1570.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Asclepias#/media/File:Asclepias_curassavica_(Mexican_Butterfly_Weed)_W_IMG_1570.jpg)
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Monarch_%28Danaus_plexippus%29,_Larva_%2837734052396%29.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Hypolimnas_misippus#/media/File:Danaid_eggfly_Female.jpg
[https://en.wikipedia.org/wiki/Blue_jay#/media/File:Blue_jay_in_PP_\(30960\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Blue_jay#/media/File:Blue_jay_in_PP_(30960).jpg)
 - 4.30. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salix_alba_Morton.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/88/Aeneicollis_bull_lake_july_2_2019-39.jpg
 - 4.31. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hypericum_perforatum.JPG
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Tselina.png>
 - 4.32. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Melilotus_albus_02.JPG
 - 4.33. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Derris_elliptica_kz2.jpg
 - 4.34. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3b/Hedera_helix_-_br%C5%A1jan_2.jpg
<https://vijverplantenonline.nl/product/cicuta-virosa-2/>
 - 4.35. https://en.wikipedia.org/wiki/Garlic#/media/File:Italian_garlic_PDO.JPG
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1b/Onions.jpg>
 - 4.36. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:332105-2>
https://en.wikipedia.org/wiki/Rheum_rhabarbarum#/media/File:Rheum_undulatum_-_Bergianska_tr%C3%A4dg%C3%A5rden_-_Stockholm,_Sweden_-_DSC00564.JPG
<https://www.inaturalist.org/photos/15642726>
<https://www.facebook.com/photo/?fbid=1880985768603600&set=pcb.1880988618603315>
 - 5.2. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/80/Operophtera_brumata01.jpg
[https://en.wikipedia.org/wiki/Winter_moth#/media/File:Operophtera_brumata_\(caterpillar\)_focus_stacking-20230508-RM-131624.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Winter_moth#/media/File:Operophtera_brumata_(caterpillar)_focus_stacking-20230508-RM-131624.jpg)
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Quercus_robur_JPG_%28d1%29.jpg
 - 5.3. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Solanum_tuberosum_002.JPG
<https://www.inaturalist.org/photos/174841>
 - 5.4. <https://plantidtools.fieldmuseum.org/en/nlp/catalogue/3686990>
https://en.wikipedia.org/wiki/Jacquinia_pungens#/media/File:Jacquinia-pungens.jpg
<https://biologiadaptasagem.com.br/2022/01/16/hymenaea-courbaril-jatoba/>
 - 5.5. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/bd/Morus_nigra_%28fruit%29_-_Samarkand_June_2022.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Bombyx_mori#/media/File:Silkworms3000px.jpg
 - 5.7. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pieris.brassicae.female.mounted.jpg>
<https://www.deviantart.com/dietersigl/art/Brevicoryne-brassicae-714920332>
<https://bugguide.net/node/view/522559/bgpage>
<https://www.gardenia.net/plant/brassica-oleracea-capitata>
 - 5.8. <https://uk.inaturalist.org/photos/105382708>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b6/A Armoracia_rusticana.jpg
 - 5.9. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7f/Phyllotreta_nemorum_%28Linnaeus%2C_1758%29.jpg

- <https://bs.plantnet.org/image/o/8994313d12aceeb60e742552fb65ce93b5b0c596>
- 5.10. <https://stock.adobe.com/images/monarch-butterfly-danaus-plexippus-on-tropical-milkweed-asclepias-curassavica-charleston-south-carolina-u-s-a/115471165>
<https://www.flickr.com/photos/13984968@N02/3601294472>
 - 5.11. https://en.wikipedia.org/wiki/Angelica_sylvestris#/media/File:Angelica_sylvestris_2.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Daucus_carota#/media/File:Daucus_carota_May_2008-1_edit.jpg
<https://flora-on.pt/#/h5yIg>
https://en.wikipedia.org/wiki/Papilio_machaon#/media/File:PapilioMachaon2016_001.JPG
 - 5.12. https://en.wikipedia.org/wiki/Acrididae#/media/File:Acrididae_grasshopper-2.jpg
<https://www.rainforestanimals.net/arthropods/leafcutterant/>
 - 5.13. Kaupp U. Olfactory signalling in vertebrates and insects: differences and commonalities. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11: 188–200.
 - 5.16. [https://rulek.rs/vanila/#iLightbox\[gallery_image_1\]/0](https://rulek.rs/vanila/#iLightbox[gallery_image_1]/0)
<https://kalonji.co.ke/products/ginger-powder>
<https://www.istockphoto.com/photos/hot-pepper>
<https://www.istockphoto.com/photos/hot-pepper>
 - 5.18. <https://www.iplantz.com/plant/1452/stevia-rebaudiana/>
<https://www.mocbilja.rs/sladic-glycyrrhiza-glabra-l-liquiritia-officinalis-moench/>
 - 5.19. https://en.wikipedia.org/wiki/Synsepalum_dulcificum#/media/File:MiracleBerry.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Gymnema_sylvestre#/media/File:Gymnema_sylvestre_R.Br_-_Flickr_-_lalithamba.jpg
 - 5.20. https://en.wikipedia.org/wiki/Mountain_gorilla#/media/File:Susa_group,_mountain_gorilla.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b2/Mantled_Guereza.jpg
[https://www.naturepl.com/stock-photo/bioko-black-colobus-\(colobus-satanas-satanas\)-monkey-in-rainforest-endangered/search/detail-0_01245268.html](https://www.naturepl.com/stock-photo/bioko-black-colobus-(colobus-satanas-satanas)-monkey-in-rainforest-endangered/search/detail-0_01245268.html)
 - 5.21. https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrhula#/media/File:Bullfinch_male.jpg
<https://www.pinterest.com/pin/for-the-home--262968065726732278/>
<https://shetlandcommunitywildlife.org/tag/zostera-marina/>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e4/Canada_goose_flight_cropped_and_NR.jpg
 - 6.2. <https://www.arbolapp.es/en/species/info/juglans-regia/>
 - 6.3. https://es.wikipedia.org/wiki/Encelia_farinosa#/media/Archivo:Encelia_farinosa_2005-02-20.jpg
 - 6.4. <https://www.agric.wa.gov.au/export-services/dryland-natural-rubber-grower-group-rd-grants-program>
 - 6.5. <https://www.laspilitas.com/nature-of-california/plants/93--artemisia-californica>
<https://www.calflora.org/cgi-bin/viewphoto.cgi?arg=/app/up/entry/160/48022.jpg>
 - 6.7. <https://shop.sbbotanicgarden.org/products/adenostoma-fasciculatum-chamise>
https://www.calflora.org/entry/occdetail.html?seq_num=io89875
 - 6.9. https://ucanr.edu/blogs/Green//blogfiles/36078_original.jpg
Chiwocha S, Dixon K, Flematti G, Ghisalberti E, Merritt D, Nelson D, Riseborough JM, Smith S, Stevens J.. Karrikins: A new family of plant growth regulators in smoke. *Plant Sci*, 2009, 177: 252-256.
 - 6.10. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Quercus_falcata_in_Marengo_Alabama_USA.JPG
https://cdn11.bigcommerce.com/s-i7i23daso6/images/stencil/1280x1280/products/16975/38613/Pteridium-aquilinum-Common-Bracken_0015340__98035.1707728617.jpg?c=1
 - 6.11. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c2/Polygonum_aviculare_Pihatatar_C_H7247.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:%28Tagetes_erecta%29_Marigold_flowers_at_Mudasarlova_Park_03.JPG
https://en.wikipedia.org/wiki/Parthenium_hysterophorus#/media/File:Parthenium_hysterophorus_plant_with_flowers.jpg
 - 6.12. <https://www.mocbilja.rs/bela-imela-viscum-album-1/>

- https://en.wikipedia.org/wiki/Orobanche_hederae#/media/File:Orobanche_hederae1.jpg
<https://identify.plantnet.org/sr/k-world-flora/species/Striga%20hermonthica%20%28Delile%29%20Benth./data>
<https://www.hikepyrenees.co.uk/blog/dodder/>
- 6.13. Louarn J. Exploitation des champignons mycorhiziens a arbuscules pour la protection du tournesol contre Orobanche cumana. PhD thesis, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France. 2013. <http://thesesups.ups-tlse.fr/2602/>
 - 6.14. https://en.wikipedia.org/wiki/Cotton#/media/File:Cotton_plant,_Ware_County,_GA,_US.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Sorghum#/media/File:Sorghum_bicolor03.jpg
 - 6.15. <https://www.alamy.com/haustorium-von-viscum-album-a=-unterer-teil-des-stammes-der-mistel-h=-holz-der-mistel-i=-hauptwurzel-der-mistel-f=-wurzeln-der-mistel-die-in-der-rinde-c-des-baumastes-wachsen-g=-knospen-der-mistel-e=-senker-bei-d-halbquerschnitt-durch-das-holz-b-des-wirtes-21-may-2008-julius-sachs-1832-1897-267-haustorium-mistel-sachs-image187761168.html?imageid=9DA560CF-8867-447F-B5B1-A6CC7AB29708&p=650648&pn=2&searchId=1e6afd968b8d230fb7bb9ffd476cfeba&searchtype=0>
[https://cs.wikipedia.org/wiki/Haustorium_%28rostliny%29#/media/Soubor:A_transverse_section_of_parasitism-specific organ_of the European mistletoe \(Viscum album subsp. album L.\) called haustorium inside the tissues of its host tree red buckeye \(Aesculus pavia L.\).jpg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Haustorium_%28rostliny%29#/media/Soubor:A_transverse_section_of_parasitism-specific organ_of the European mistletoe (Viscum album subsp. album L.) called haustorium inside the tissues of its host tree red buckeye (Aesculus pavia L.).jpg)
 - 6.16. <https://lavalheureuse.com/boutique-web/en/organic-tea-astragalus-huang-qi-astragalus-membranaceus-cut-roots-p367/>
<https://wcbotanicalclub.org/purple-gerardia-purple-false-foxf glove-agalinis-purpurea/>
<https://www.botanic.cam.ac.uk/the-garden/plant-list/lespedeza-thunbergii/>
 - 6.17. <http://floraofohio.blogspot.com/2013/05/indian-paintbrush-castilleja-coccinea.html>
<https://bs.plantnet.org/image/o/e3c1525705803a64b081357ca3c3973439cb9ef3>
<https://www.independencepass.org/2022-wildflower-checklist-blog/kw25gbcr84z6kg6-lhzja-klyt5-44a2e-n5zk9-nz6jr-amew9-tmds7-6fdmz-remln-xjw29-rfxcf-a2sb5-grnm-8hp23>
 - 6.19. <https://plantinfo.co.za/plant/phaseolus-lunatus-butter-beans-lima-bean/>
 - 7.1. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mazafati_dates_-_whole,_halved_and_seed.jpg
<https://www.woodlandtrust.org.uk/trees-woods-and-wildlife/british-trees/a-z-of-british-trees/white-willow/>
<https://www.commanster.eu/Commanster/Plants/Trees/Trees/Pinus.sylvestris.html>
 - 7.2. <https://dynamedical.com.my/blog/pueraria-mirifica-and-cancer-prevention/>
 - 7.4. <https://www.naturepl.com/stock-photo-green-mature-soybean-glycine-max-pods-on-plants-with-green-leaves-nature-image01652550.html>
https://s2.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/schaugarten/PhaseolusvulgarisL/BPhaseolusvulgarisL2.jpg
<https://www.infoflora.ch/en/flora/medicago-sativa.html>
<https://goseed.com/cover-crops/q-red-clover/>
 - 7.5. <https://osogovonature.com/2021/09/03/trifolium-subterraneum-1/>
 - 7.6. <https://www.inaturalist.org/photos/12408086>
<https://earthone.io/plant/distichlis%20spicata>
 - 7.7. Singh Kaleka A, Kaur N, Kour Bali G. Larval Development and Molting. Y: Mikkola H (Yp): Edible Insects. IntechOpen. 2019.
<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85530>.
 - 7.9. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0a/Tisa_na_medvednici.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Taxus_baccata_MHNT.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d4/Polypodium_vulgare_001.JPG
 - 7.10. https://en.wikipedia.org/wiki/Cycas#/media/File:Big_Cycas.jpg
 - 7.12. <https://www.inaturalist.org/photos/19255441>
<https://www.gardeningknowhow.com/ornamental/cacti-succulents/saguaro/saguaro-cactus-care.htm>
 - 7.13. https://en.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica#/media/File:Neem_tree_leaves.JPG

- 7.14. <https://www.planetnatural.com/plumbag>
<https://botanicalarchive.com/en/products/drosera-capensis/>
- 7.16. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/62/Abies_balsamea_branch.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9f/Pyrrhocoris_apterus_%28aka%29.jpg
- 7.17. <https://www.anniesheirloomseeds.com/cinnamon-basil-ocimum-basilicum/>
<https://www.gardeningknowhow.com/edible/herbs/mint/growing-peppermint-plant.htm>
- 7.18. <https://www.gardenia.net/plant/ageratum-houstonianum-floss-flower>
<https://bugguide.net/node/view/1421623/bgimage>
<https://sites.duke.edu/dukeinsects/oncopeltus-fasciatus>
- 7.19. https://species.wikimedia.org/wiki/Pinus_ponderosa#/media/File:Pinus_ponderosa_8144t.jpg
<https://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5289069#>
- 7.20. <https://antropocene.it/en/2023/02/03/commiphora-myrrha-2/>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f2/SGR_laying.jpg
- 7.21. <https://www.prairiehaven.com/wp-content/uploads/2011/01/Antheraea-polyphemus-6-11-14-4.jpg>
<https://www.gardenersdream.co.uk/quercus-rubra-tree-p3393>
- 7.22. https://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I_LKD309&res=640
<https://observation.org/media/photo/17964572.jpg>
- 8.2. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/37/Autographa_gamma.6902.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2b/Tucking_in%2C_yet_watchful_%287568587412%29.jpg
- 8.3. <https://bugguide.net/node/view/589973>
<https://bugguide.net/node/view/603265>
<https://russellipm.com/insect/grapholita-molesta-oriental-fruit-moth/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Lycorea_halia#/media/File:Lycorea_halia_halia_MHNT_dos.jpg
- 8.4. <https://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5289069#>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/48/Hepialus_hecta.jpg
- 8.5. https://idtools.org/id/leps/tortai/Adoxophyes_orana.htm
https://en.wikipedia.org/wiki/Clepsis_spectrana#/media/File:Clepsis_spectrana.jpg
- 8.6. https://en.wikipedia.org/wiki/Pink_bollworm#/media/File:Pectinophora_gossypiella_1265079.jpg
- 8.7. <https://pixy.org/4661812/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Psychodidae#/media/File:Clogmia_Albigipunctata_or_mot_h_fly.jpg
- 8.8. <https://www.linkedin.com/pulse/ant-random-walk-samantha-burke>
<https://x.com/yanetsepulveda/status/939531672189657089/photo/1>
- 8.9. <https://www.indiatoday.in/education-today/gk-current-affairs/story/what-is-ant-mill-spiral-of-death-2398709-2023-06-27>
<https://www.inaturalist.org/photos/331175782>
<https://bugguide.net/node/view/1364165>
- 8.10. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:BienenstichApisMelliferaMellifera.jpg>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/A_Formica_rufa_collecting.jpg
- 8.11. <https://bugguide.net/node/view/1397597/bgimage>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3c/Red_Weaver_Ant%2C_Oecophylla_longinoda.jpg
- 8.12. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5f/Alitta_succinea_%28epitoke%29.jpg
- 8.13. <http://txstate.fishesoftexas.org/carassius%20auratus.htm>
- 8.14. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Jacobson%27s_organ_in_a_reptile.svg
- 8.15. <https://animalia.bio/nl/common-garter-snake>
- 8.17. <https://wholestonefarms.com/pig-101/>
- 8.18. <https://zooinstitutes.com/animals/african-civet-tbilisi-zoopark-108697.html>
https://sh.wikipedia.org/wiki/Mo%C5%A1usno_gove%C4%8De#/media/Datoteka:Ovibos_moschatus_qtl3.jpg

- 8.19. https://www.fulcrumgallery.com/Panoramic-Images/Male-gerenuk-Litocranius-walleri-standing-in-field-Samburu-National-Park-Rift-Valley-Province-Kenya_781365.htm
- 9.1. <https://www.seattleaquarium.org/animal/anemones/>
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Tubularia-indivisa.jpg>
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/44/Jelly_cc11.jpg
<https://en.wikipedia.org/wiki/Coral#/media/File:Hertschoon.jpg>
- 9.2. https://en.wikipedia.org/wiki/Chironex_fleckeri#/media/File:Avispa_marina_cropped.png
[https://en.wikipedia.org/wiki/Portuguese_man_o_war#/media/File:Portuguese_Man-O-War_\(Physalia_physalis\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Portuguese_man_o_war#/media/File:Portuguese_Man-O-War_(Physalia_physalis).jpg)
- 9.3. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/43/Palythoa_grandis_%28Sun_Zoanthids%29.jpg
- 9.4. <https://i.ytimg.com/vi/3Bt1LvpZ1Oo/sddefault.jpg>
- 9.5. <https://www.worldwildlife.org/magazine/issues/spring-2019/articles/meet-the-master-of-camouflage-the-day-octopus>
<https://www.newscientist.com/article/2376478-compound-found-in-octopus-ink-kills-cancer-cells-but-not-others/>
- 9.6. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Conus-geographicus.jpg>
- 9.7. <https://www.inaturalist.org/photos/12362847>
<https://edisto.org/southern-two-striped-walkingstick/>
<https://www.inaturalist.org/photos/179332338>
- 9.8. <https://sverchokcorm.ru/stati/termity/>
- 9.9. <https://en.wikipedia.org/wiki/Lytta-vesicatoria#/media/File:Lytta-vesicatoria.jpg>
Nikbakhtzadeh MR, Targari S. Medically important beetles (insecta: coleoptera) of Iran. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2008, 14: 597-618.
<https://www.sydney.edu.au/science/news-and-events/2022/11/16/aposematism-the-flashiest-form-of-defence.html>
- 9.10. https://en.wikipedia.org/wiki/Poekilocerus#/media/File:Grasshopper_ST_10.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Monarch_%28Danaus_plexippus%29,_Larva_%2837734052396%29.jpg
<https://observation.org/species/595860/>
- 9.11. <https://bugguide.net/node/view/532621>
- 9.12. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Monarch_%28Danaus_plexippus%29,_Larva_%2837734052396%29.jpg
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/83/Arctia_caja_%284777700425%29.jpg
<https://bs.plantnet.org/image/o/e3c1525705803a64b081357ca3c3973439cb9ef3>
- 9.13. https://en.wikipedia.org/wiki/Pachliopta_aristolochiae#/media/File:Open_wing_position_of_Pachliopta_aristolochiae_Fabricius,_1775_%E2%80%93_Common_Rose.jpg
https://en.wikipedia.org/wiki/Aristolochia#/media/File:Aristolochia_labiata.jpg
- 9.14. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c0/Glomeris_marginata_1.jpg
http://www.arizonensis.org/sonoran/fieldguide/arthropoda/solenopsis_xyloni.html
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/de/BIEDRONA.JPG>
- 9.15. <https://core.ac.uk/reader/4427196>
- 9.16. https://www.wikiwand.com/simple/articles/Cochineal#/media/File:Cochinilla_cubana.JPG
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7a/-_5949_%E2%80%93_Laetilia_coccidivora_%E2%80%93_Scale-feeding_Snout_Moth_%2844691816612%29.jpg
- 9.17. <https://www.inaturalist.org/photos/31452386>
https://cdn.sci.news/images/enlarge12/image_13324e-Alpha-Latrotoxin.jpg
- 9.18. <https://www.inaturalist.org/observations/244729394>
https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S1043661823003341-ga1_lrg.jpg
- 9.19. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:BienenstichApisMelliferaMellifera.jpg>
https://en.wikipedia.org/wiki/Melittin#/media/File:PDB_2mlt_EBI.jpg
- 9.20. <https://simstropicalfish.co.uk/product/red-lionfish-pterois-volitans/>
https://en.wikipedia.org/wiki/Greater_weever#/media/File:Trachinus_draco_2.jpeg
- 9.21. <https://www.scuba.com/blog/pufferfish/>

- 9.22. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/08/Bufo_bufo_sitting-Iric2006.jpg
- 9.23. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/08/Bufo_bufo_sitting-Iric2006.jpg
- 9.24. <https://reptileheaven.com/product/colorado-river-toad-for-sale/>
[https://en.wikipedia.org/wiki/Strawberry_poison-dart_frog#/media/File:Oophaga_pumilio_\(Strawberry_poison_frog\)_\(2532163201\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Strawberry_poison-dart_frog#/media/File:Oophaga_pumilio_(Strawberry_poison_frog)_(2532163201).jpg)
https://en.wikipedia.org/wiki/Golden_poison_frog#/media/File:Schrecklicherpfeilgiftfrosch-01.jpg
- 9.25. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fire_salamander_%28Salamandra_Salamandra%29.jpg
<https://www.inaturalist.org/photos/27603>
- 9.26. https://en.wikipedia.org/wiki/Indian_cobra#/media/File:Indian_Cobra,_crop.jpg
[https://en.wikipedia.org/wiki/Black_mamba#/media/File:Dendroaspis_polylepis_\(14\).jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Black_mamba#/media/File:Dendroaspis_polylepis_(14).jpg)
- 9.27. <https://www.katunroads.me/en/katun-road-borderline-heights/biodiversity/fauna/reptiles/vipera-ursinii-macrops/>
https://www.researchgate.net/publication/313012719_The_Nose-horned_Viper_Vipera_ammodytes_montandoni_in_Bulgaria/figures?lo=1
- 9.28. <https://ebird.org/species/hoopit1>
- 9.29. <https://theevolutionstore.com/skunk-mephitis-mephitis/>
- 9.30. <https://bpb-us-w2.wpmucdn.com/blog.nus.edu.sg/dist/2/2787/files/2013/04/Opossum-playing-possum-x99vdx.jpg>
<https://australian.museum/learn/animals/mammals/platypus/10.1>
<https://casellasolutions.com/>
- 10.3. <https://www.tritechindia.com/gerstel-MultiPurpose-GC-GCMS.html>
- 10.4. Sanpietro DA, Catalan CAN, Vattuone MA. (Eds.). Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 2009.
- 10.5. <https://naha.org/assets/uploads/essential-oils3.jpg>
- 10.9. Sanpietro DA, Catalan CAN, Vattuone MA. (Eds.). Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 2009.
- 10.10. http://regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/1/2608_tandky.htm
- 10.11. Sanpietro DA, Catalan CAN, Vattuone MA. (Eds.). Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 2009.
- 10.13. Müller-Schwarze D. Hands-on chemical ecology – Simple field and laboratory exercises, Springer, New York, 2009.
- 10.14. Müller-Schwarze D. Hands-on chemical ecology – Simple field and laboratory exercises, Springer, New York, 2009.
- 10.15. Ratnaweera PB, Jayasundara JNM, Herath HHMSD, Williams DE, Rajapaksha SU, Nishantha KMDWP, de Silva ED, Andersen RJ. Antifeedant, contact toxicity and oviposition deterrent effects of phyllostine acetate and phyllostine isolated from the endophytic fungus *Diaporthe miriciae* against *Plutella xylostella* larvae. *Pest Manag Sci* 76: 1541–1548.
- 10.17. Choe DH, Villafuerte DB, Tsutsui ND. Trail pheromone of the argentine ant, *Linepithema humile* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae), *PLOS one*, 2012. 7: 1-7.
- 10.18. Burger BV, Petersen WGB, Ewig BT, Neuhaus J, Tribe GD, Spies HSC, Burger WJG. Semiochemicals of the Scarabaeinae: VIII. Identification of active constituents of the abdominal sex-attracting secretion of the male dung beetle, *Kheper bonellii*, using gas chromatography with flame ionization and electroantennographic detection in parallel. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1186: 245–253.
- 10.19. https://image.ec21.com/image/biovenom/oimg_GC03103154_CA03103157/Bee-Venom-Collector.jpg
<https://beestkeeping.com/products/beewhisper-6-2-bee-venom-collector>

12. Литература

1. Abdelrahman M. Bioactive molecules in plant defense: Signaling in growth and stress. Springer, 2019.
2. Ali J, Chen RZ. Chemical ecology: insect-plant interactions (1st ed.). CRC Press. 2024.
3. Baluška F (Ed.). Plant-environment interactions: from sensory plant biology to active plant behavior, Springer-Verlag, Heidelberg, 2009.
4. Barceloux DG. Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA. 2008.
5. Chirkova T, Yemelyanov V. The study of plant adaptation to oxygen deficiency in Saint Petersburg University. *Bio Comm*, 2018, 63: 17–31.
6. Chiwocha S, Dixon K, Flematti G, Ghisalberti E, Merritt D, Nelson D, Riseborough JM, Smith S, Stevens J. Karrikins: a new family of plant growth regulators in smoke. *Plant Sci*, 2009, 177: 252-256.
7. Choe DH, Villafuerte DB, Tsutsui ND. Trail pheromone of the argentine ant, *Linepithema humile* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae), *PLOS one*. 2012. 7: 1-7.
8. Daniel RM, Cowan DA. Biomolecular stability and life at high temperatures. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57: 250-64.
9. Davies KM. Modifying Anthocyanin Production in Flowers. In: Winefield, C., Davies, K., Gould, K. (Ed) Anthocyanins. Springer, New York, NY. 2008.
10. Galindo JCG, Macias FA, García-Díaz MD, Jorrín J. Chemistry of Host-Parasite Interactions, In: Macias FA, Galindo JCG, Molinillo JMG, Cutler HG (Ed.): Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals, CRC Press, Boca Raton, USA, 2004.
11. Halsey RW. In search of allelopathy: an eco-historical view of the investigation of chemical inhibition in California coastal sage scrub and chamise chaparral, *J Torrey Bot Soc*, 2004, 131: 343-367.
12. Harborne JB. Introduction to Ecological Biochemistry. Elsevier, USA, 2003.
13. Hettenhausen C, Li J, Zhuang H, Sun H, Xu Y, Qi J, Zhang J, Lei Y, Qin Y, Sun G, Wang L, Baldwin IT, Wu J. Stem parasitic plant *Cuscuta australis* (dodder) transfers herbivory-induced signals among plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017. 114: E6703-E6709.
14. Jacott CN, Murray JD, Ridout CJ. Trade-offs in arbuscular mycorrhizal symbiosis: disease resistance, growth responses and perspectives for crop breeding. *Agronomy*, 2017, 7: 75.
15. Janeczko A. Estrogens and androgens in plants: the last 20 years of studies. *Plants* (Basel), 2021, 10: 2783.
16. Karshikoff A, Ladenstein R. Ion pairs and the thermotolerance of proteins from hyperthermophiles: a "traffic rule" for hot roads. *Trends Biochem Sci*. 2001, 26: 550-6.
17. Kumar S, Dangi AK, Shukla P, Baishya D, Khare SK. Thermozyms: Adaptive strategies and tools for their biotechnological applications. *Bioresour Technol*, 2019, 278: 372-382.

18. Lazarević B, Poljak M. *Fiziologija bilja*. [online]. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb. 2019. Preuzeto sa: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:366622>. (Datum pristupa: 20.09.2024.)
19. Melo H. The sensory biology, communication, memory and intelligence of plants. Cambridge Scholars Publishing, UK, 2022.
20. Mpumi N, Machunda RS, Mtei KM, Ndakidemi PA. Selected insect pests of economic importance to *Brassica oleracea*, their control strategies and the potential threat to environmental pollution in Africa. *Sustainability*, 2020, 12: 3824.
21. Müller-Schwarze D. Hands-on chemical ecology – Simple field and laboratory exercises, Springer, New York, 2009.
22. Nikbakhtzadeh MR, Targari S. Medically important beetles (insecta: coleoptera) of Iran. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis*, 2008, 14: 597 – 618.
23. Qian J, Jiang L, Qing H, Chen J, Wan Z, Xu M, Fu J, Zhang C. ZeMYB9 regulates cyanidin synthesis by activating the expression of flavonoid 3'-hydroxylase gene in *Zinnia elegans*. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 981086.
24. Queiroz JA, Quirino ZG, Machado IC. Floral traits driving reproductive isolation of two co-flowering taxa that share vertebrate pollinators. *AoB Plants*. 2015, 7: 127.
25. Ramløv H, Friis DS. Antifreeze proteins volume 1: Environment, systematics, and evolution. Springer. New York, 2020.
26. Sanpietro DA, Catalan CAN, Vattuone MA. (Eds.). Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, USA, 2009.
27. Santhanam, R. Biology and ecology of toxic pufferfish (1st ed.). Apple Academic Press, New York, 2018.
28. Shuttleworth A, Johnson SD. The missing stink: sulphur compounds can mediate a shift between fly and wasp pollination systems. *Proc Biol Sci*. 2010, 277: 2811-9.
29. Tabata, J (Ed.). Chemical ecology of insects: Applications and associations with plants and microbes (1st ed.). CRC Press. 2018.
30. Tholl D, Boland W, Hansel A, Loreto F, Rose USR, Schnitzler JP. Practical approaches to plant volatile analysis, *Plant J*, 2006, 45: 540–560.
31. Trouillas P, Sancho-García JC, De Freitas V, Gierschner J, Otyepka M, Dangles O. Stabilizing and modulating color by copigmentation: insights from theory and experiment. *Chem Rev*, 2016, 116: 4937-82.
32. Voilley A, Etiévant P. Flavour in food, Woodhead Publishing Limited, Cambridge. 2006.
33. Willmer P, Stone G, Johnston I. Environmental physiology of animals (2nd ed.). Blackwell Publishing, USA, 2005.
34. Witzany G, Baluška F. Biocommunication of Plants. Springer Netherlands, 2012.
35. Witzany, G. (Ed): Biocommunication of Animals. Springer Netherlands, 2014.

36. Yemelyanov VV, Lastochkin VV, Prikaziuk EG. Activities of catalase and peroxidase in wheat and rice plants under conditions of anoxia and post-anoxic aeration. *Russ J Plant Physiol*, 2022, 69: 117.
37. Zhang S, Jia Q, Gao Q, Fan X, Weng Y, Su Z. Dual-specificity phosphatase CDC25B was inhibited by natural product HB-21 through covalently binding to the active site. *Front Chem*, 2018, 6: 531.
38. Burger BV, Petersen WGB, Ewig BT, Neuhaus J, Tribe GD, Spies HSC, Burger WJG. Semiochemicals of the Scarabaeinae: VIII. Identification of active constituents of the abdominal sex-attracting secretion of the male dung beetle, *Kheper bonellii*, using gas chromatography with flame ionization and electroantennographic detection in parallel. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1186: 245–253.
39. Ratnaweera PB, Jayasundara JNM, Herath HHMSD, Williams DE, Rajapaksha SU, Nishantha KMDWP, de Silva ED, Andersen RJ. Antifeedant, contact toxicity and oviposition deterrent effects of phyllostine acetate and phyllostine isolated from the endophytic fungus *Diaporthe miriciae* against *Plutella xylostella* larvae. *Pest Manag Sci* 76: 1541–1548.