

**UNIVERZITET CRNE GORE**

**PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**

**BIOLOGIJA-EKOLOGIJA**

*EKOFIZIOLOGIJA*

**SEMINARSKI RAD**

**BIOAKTIVNE SUPSTANCE ZNAČAJNE ZA EKOFIZIOLOŠKE ADAPTACIJE BILJAKA (TERPENI, ETERIČNA ULJA)**

Mentor: Student:

dr Dragana Petrović Jana Iković 10/17

Podgorica, Mart 2018. godine

SADRŽAJ

1.UVOD.................................................................................................................................... 3

2.MATERIJALI I METODE.................................................................................................... 4

3.REZULTATI.......................................................................................................................... 4

3.1 TERPENI............................................................................................................................ 4

3.2. ETERIČNA ULjA.............................................................................................................. 7

4. ZAKLJUČAK ....................................................................................................................... 10

5.LITERATURA........................................................................................................................ 11

1. UVOD

Možda najveće misterije oko biljnih isparenja tiču se njihove funkcije u životu biljke. Iako se generalno pretpostavlja da jedinjenja koja emituju cvjetovi služe za privlačenje i vođenje oprašivača (Reinhard et al., 2004), samo su neki pokušaji napravljeni da pokažu sposobnost pojedine supstance za privlačenje specifičnih oprašivača. Mnoga isparenja koja emituju cjetovi imaju antimikrobnu ili antiherbivornu aktivnost (DeMoraes et al., 2001; Friedman et al., 2002; Hammer i sar., 2003), i tako mogu djelovati i kao zaštitni faktor za reproduktivne djelove biljaka od neprijatelja. Među vegetativnim isparenjima, najintenzivnije proučavana supstanca je izopren, jednostavan petougljenični terpen koji se emituje iz lišća mnogih drvenastih vrsta. (Sharkei and Yeh, 2001b). Funkcija izoprena je i dalje kontroverzna, i ovo jedinjenje može djelovati povećavajući toleranciju fotosinteze na visokim temperaturama stabilizacijom tilakoidne membrane (Sharkei et al., 2001a) ili gašenjem reaktivnog kiseonika (Loreto i Velikova, 2001). Oslobađanje isparenja iz vegetativnih organa kao pratnja štete nastale od strane biljojeda izgleda je generalno karakteristika biljne vrste. Doprinos za ovo posebno pitanje pokrivaju isparenja izazvana biljojedima iz kupusa (*Brassica oleracea*; Vuorinen i sar., 2004b), krastavca (*Cucumis sativus*; Mercke et al., 2004), i kukuruza (*Zea mais*, Degen et al., 2004). Ove supstance su se pokazale kao indirektna odbrana biljaka. To jest, one privlače artropode koje ili hvataju ili su paraziti herbivora pa tako minimizuju dalja oštećenja biljnog tkiva (Pare i Tumlinson, 1999; Dicke i Van Loon, 2000). U nekim slučajevima, biljojedima izazvana isparenja mogu takođe delovati direktnom odbranom, odbijanjem (DeMoraes i sar., 2001; Kessler and Baldvin, 2001) ili trovanjem (Vancannei et al., 2001) biljojeda i patogena (Andersen i sar., 1994). Mogućnost da ove supstance funkcionišu i u komunikaciji između biljaka diskutovano je u radovima (Arimura i sar., 2000; Dicke i Bruin, 2001; Engelberth i sar., 2004). Biljojedima izazvana isparenja bi mogla imati dodatnu fiziološku ulogu unutar biljke. Kao i izopren, neki biljojedima izazvani monoterpeni i sekvistereni imaju potencijal za kombinovanje sa reaktivnim kiseonikom (Hoffmann i sar., 1997, Bon i Moortgat, 2003), i tako imaju ulogu zaštite od unutrašnjeg oksidativnog oštećenja (Delfine et al., 2000; Loreto i sar., 2004b) (Natalia D. et al., 2004).

1. MATERIJALI I METODE

Ovaj rad zasniva se literaturnim podacima iz različitih izvora od kojih su najznačajniji: Natalia Dudareva, Eran Pichersky, and Jonathan Gershenzon - Biochemistry of Plant Volatiles, Plant Physiol. Vol. 135, 2004.

1. REZULTATI
	1. TERPENI –

Pojam terpeni potiče od terpentina -*Balsamum terebinthinae*. Terpentin, je svijetla do tamno obojena gusta tečnost - smola u eteričnim uljima. U hemijskom pogledu to je mješavina nezasićenih ugljovodonika, a glavni sastojak je pinen. Terpentin se dobija tehnikom smolarenja tj. urezivanja kosih ureza u koru četinara iz kojih se onda izlučuje balzam koji se skuplja u bačve. Sirovi terpentin se čisti i zatim destiluje pomoću vodene pare, pri čemu u destilat prelazi terpentinsko ulje, a ostaje kolofonijum (neisparljive smolne kisjeline). Terpentin se upotrebljava kao rastvarač za masnoće, za izradu melema, lakova i sapuna. Terpentinsko ulje karakterističnog je mirisa na borovu smolu. Upotrebljava se u proizvodnji sintetskih mirisa, sapuna, insekticida, lakova, kao rastvarač i razrijeđivač.

Drvo četinara, citrusi, korijander, matičnjak, eukaliptus, lavanda, ruža, timijan i brojne druge biljke ili dijelovi biljaka (korijen, stabljika, listovi, cvjetovi, plod, sjeme) ugodnog su mirisa, specifičnog ukusa i često imaju specifično farmakološko dejstvo. Upravo su terpeni nosioci tih svojstava. Terpeni su isparljive supstance koje daju biljkama i cvjetovima njihov karakterističan miris. Brojne biljke proizvode isparljive supstance s ciljem privlačenja određenih insekata u svrhu oprašivanja ili odbijanja određenih životinja. Nadalje imaju važnu ulogu kao signalni spojevi i faktori rasta (Breitmaier, 2006.).

U prirodi, terpeni su uglavnom ugljovodonici, alkoholi i njihovi glikozidi, etri, aldehidi, ketoni, karboksilne kisjeline i estri.

Terpeni se na osnovu broja n u opštoj formuli (C5H8)n ili broja C atoma dijele na:

* hemiterpene (C5),
* monoterpene (C10),
* seskviterpene (C15),
* diterpene (C20),
* sesterpene (C25),
* triterpene (C30),
* tetraterpene (C40),
* politerpene (>C 40).

Svaka grupa se nadalje dijeli u podgrupe zavisno od broja prstenova koji se nalaze u molekulu, pa razlikujemo: Aciklične terpene- ne posjeduju prstenastu strukturu; Monociklične - prisutan jedan prsten ; Biciklične, Triciklične, Tetraciklične.

**HEMITERPENI** su izgrađeni od 5 C-atoma (1 C5 jedinica) i najjednostavniji su terpeni. Najpoznatiji je izopren koji je osnovna jedinica svih terpena. Većina hemiterpena se pojavljuje kao ulja i uglavnom su nerastvorljivi u vodi. Hemiterpeni se mogu naći u različitim djelovima biljke, a najpoznatiji hemiterpeni su tiglinska i angelinska kiselina (Breitmaier, 2006).

**MONOTERPENI** su izgrađeni od 10 C-atoma (2 C5 jedinice) i glavni su sastojci eteričnih ulja ljekovitih biljaka i začina gdje čine do 5% težine suvog biljnog materijala. Dijele isparljive i neisparljive. Isparljivi su sastojci eteričnih ulja, a neisparljivi su iridoidi i sekoiridoidi. Ispraljivost gube ako su zamijenjeni s hidroksilnim grupama ili ako se pojavljuju u obliku glikozida. Monoterpeni se mogu podijeliti u: aciklične(mircen, ocimen, citral, citronelol, geraniol), monociklične( limonen, mentol, menton, karvon, terpineol) i biciklične( tujon i karan) (Kapetanović S., 1986). Dokazan je i uticaj monoterpena na svojstvo zapaljivosti. Zapaljivost strogo zavisi od dostupnosti vode, kao što je pokazano kod svih vrsta, ali studija takođe prikazuje ulogu isparljivog sadržaja terpena i emisije u zapaljivosti. Npr. *G. alipum* koji sadrži više monoterpena su bile više zapaljive i brže su gorjele (G. A. Alessio et al. 2008).

**SESKVITERPENI** dolaze u višim frakcijama eteričnih ulja. Brojni seskviterpeni djeluju kao fitoaleksini, antibiotski spojevi koje biljke proizvode kao odgovor na napade mikroorganizama. Najvažniji predstavnik acikličkih seskviterpena je farnesen i farnesol (E,E)-Izomer α-farnesena sastojak je prirodnog zaštitnog sloja jabuka, bresaka i drugog voća. Ciklofarnezen (apscisinka kisjelina) kontroliše procese u biljkama kao što su: starenje, opadanje listova, uvenuće cvjetova i sazrijevanje plodova.

**DITERPENI** su terpeni izgrađeni od 20 C atoma. U prirodi postoji oko 5000 acikličnih i cikličnih diterpena, izvedeni su iz geranilgeranil pirofosfata. (3R, 7R, 11R)-Enantiomer fitana nađen je u meteorima, ljudskoj jetri. (E)-1,3-fitadien i njegov (Z)-izomer nađeni su u zooplanktonu. Fitol je aciklički diterpen dobijen hidrolizom hlorofila. Hlorofil u hloroplastima biljnih ćelija je ester (+)-(2E,7R,11R)-2-fiten-1-ola. Isparljivi diterpeni su jako rijetki i oni su sastojci eteričnih ulja. Neki od važnih diterpena su: forskolin, steviozid, ginkolidi, lakton abijetinskog tipa, fitol, smolne kisjeline, diterpenski alkaloidi akonitin i taksol,i giberelini. Osim toga, postoje i toksični diterpeni, a to su: forbolestri, mezerein i tetraciklični diterpeni.

**SESTERPENI** su pronađeni u krompiru (*Solanum tuberosum*).

**TRITERPENI** su izgrađeni od 6 C5 jedinica, a formiraju se povezivanjem dvije seskviterpenske jedinice formirajući skvalen koji je prekursor svih triterpena. Skvalen možemo pronaći u ribljem ulju, ali i nekom biljnom ulju npr.u repici i sjemenu pamuka. Njegov sadržaj varira zavisno od ulja. 13

**TETRATERPENI** su terpeni sa 8 izoprenskih jedinica, poznatiji kao karotenoidi. Karotenoidi su najraširenija vrsta pigmenta koja se nalazi u biljkama, bakterijama, gljivama, pticama, ribama, insektima i drugim životinjama. Većina karotenoida su visoko nezasićeni i zbog toga ih je teško izolovati. Boja većine karotenoida varira od žute do crvene.

Njihova uloga u biljkama je da apsorbiraju svjetlost i štite biljku od fotoosjetljivosti. Karotenoide možemo podijeliti u dvije velike grupe:

* karotene koji ne sadrže kiseonik u svojoj strukturi i koji su po svojoj strukturi ugljovodonici, i
* ksantofile koji sadrže kiseonik u svojoj strukturi i uglavnom su po strukturi alkoholi.

Od svih karotenoida, likopen posjeduje najveće antioksidativne sposobnosti (ima 11 konjugovanih dvostrukih veza, bez ciklizacije na krajevima).

Ksantofili su oksigenovani derivati karotenoida u kojima funkcionalna grupa može biti hidroksilna, metoksi, karbonilna, okso, formil ili epoksi.

**POLITERPENI** imaju više od 40 C-atoma (>8 C5 jedinice), a najpoznatiji je kaučuk. Neke biljke proizvode poliizopren sa trans dvostrukim vezama, poznat kao guta-perka. Guta-perka (*Gutta-percha*) je rod tropskog drveća (Palaquium) koji sadrži polimer izoprena (trans-1,4-poliizopren). Prirodna guma je elastomer koji je dobiven iz mliječne koloidne suspenzije ili lateksa, nađenog u soku nekih biljaka. Glavni izvor lateksa je drvo kaučukovac (*Hevea brasillensis*).

Biosinteza terpena je kontrolisana enzimima koje imaju biljke i životinje. Biosinteza terpena u biljkama, životinjama i mikroorganizmima uključuje slične enzime, ali postoje i važne razlike između tih procesa. Tako biljke proizvode mnogo širu lepezu terpena u odnosu na životinje i mikroorganizme što se odražava na kompleksnu organizaciju biosinteze biljnih terpena u tkivnom i genetskom nivou. (Kapetanović S., 1986)

* 1. ETERIČNA ULjA

Eterično ulje je dragocjeni prirodni biljni proizvod koji se koristi u različitim oblastima iz medicine do ukusa i mirisa od antike. Veliku primjenu u velikoj mjeri pripisuje duga lista bioloških svojstava koja nisu samo funkcionalna za samu biljku, već i korisni ljudima. Oni su antioksidanti (Adorjan & Buchbauer, 2010, Amorati, Foti, Valgimigli, 2013; Bakkali et al., 2008), djeluju antikancerogeno (Sharma i sar., 2009), anti-alergijski, antiinflamatorno (Passos et al., 2007), antivirusno (Astani, Reichling, & Schnitzler, 2011), antibakterijski (Bourgou, Rahali, Ourghemmi, & Saidani Tounsi, 2012; Inouie, Takizava, & Iamaguchi, 2001), i antimikrobno (Gkogka, Hazeleger, Posthumus, & Beumer, 2013), repelent za insekte (Rajkumar i Jebanesan, 2007) .

Istorijski gledano, termin esencijalno ulje potiče od aktivne komponente lijeka “quinta essentia” koji je pripremao švajcarski ljekar, Theophrastus Bombastus von Hohenheim, takođe poznat kao
Paracelcus, u petnaestom vijeku (Guenther, 1948).

Komponente eteričnih ulja se sastoje od raznovrsnih i složenih mješavina potencijalno stotina hemijskih sastojaka sa niskomolekularnim težinama od 50 do 200 Da (Rovan, 2011). Aktivni organski sastojci mogu biti podijeljeni u četiri grupe definisane hemijskim strukturama: terpeni (mono i seskviterpene), terpenoidi (alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, etri, fenoli i epoksidi),
fenilpropeni i druga aromatična jedinjenja (derivati sumpora i azota) (Hildgaard et al.,
2012). U mirisu može ili da dominira pojedinačna komponenta koja čini oko 75%, kao što je cinnamaldehid u cimetu (Alzoreki i Nakahara, 2003; Oussalah, Caillet &
Lacroik, 2006) ili mješavina sastojaka kao što su mentol, menton, pulegon, 1,8-cineol i
terpineol-4 u mente (Hafedh, Fethi, Mejdi, Emira, i Amina, 2010).

Inače poznati kao sekundarni metaboliti, većina jedinjenja se biosintetizuju brojnim metaboličkim putevima u biljnim procesima. Kako se biljka suočava sa ogromnim izazovima kao stacionirani autotrof, ovi sekundarni metaboliti se sintetišu kao odgovor na biotičke i abiotske stresove. To uključuje oprašivanje i rasipanje sjemena, lokalne fluktuacije u snadbijevanju jednostavnih hranjivih sastojaka neophodnih za sintetizovanje sopstvene hrane i suživota biljojeda i patogena u njihovom neposrednom okruženju (Hermsmeier, Schittko & Baldvin, 2001; Reimond, Veber, Damond, & Farmer, 2000). Generalno, podrazumijeva se da ovi sekundarni metaboliti uglavnom igraju zaštitnu ulogu (kao apsorpcija UV zračenja i antiproliferativni agensi), odbranu od štetočina i bolesti, i atraktivni agensi (Kennedi and Vightman, 2011). Proizvodnja zavisi od interakcije između genetičke, ontogenetskog i fiziološkog stanja biljke sa uslovima okoline. Zapravo, regulisanje isparljivih jedinjenja unutar biljke dodatno je komplikovana dinamičkim diferencijalnim komponentama abiotskih faktora kao što su fizičkohemijske karakteristike zemljišta, vlage, temperature i intenziteta svetlosti. Razumijevanje biosintezeeteričnih ulja u odnosu na ekofiziologiju ostaje neodređeno zbog mnogoborjinih promenljivih uključenih u ekosistem.

Eterična ulja imaju značajnu antimikrobnu aktivnost, što pokazuje i rad na bioaktivnim komponentama *Linum capitatum,* gdje su testirani različiti ekstrakti koji sadrže bioaktivne komponente i eterično ulje cvjetova *Linum capitatum* Kit. (Linacea) na antimikrobnu aktivnost
četiri bakterije (*Staphilococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilus, Pseudomonas aeruginosa*), buđi(*Aspergillus niger*) i kvasca (*Candida albicans*). Rezultati pokazuju da ekstrakti pokazuju najbolju aktivnost protiv *Aspergillus niger* a manje protiv *Pseudomonas aerugonosa i Candida albicans.* Izolovani flavonoidi takođe izlažu različitu antimikrobnu aktivnost. Među testiranim, samo kaempferol-3-O-galaktozid izražava aktivnost protiv dva mikroorganizama uključujući *B. anthracis i P. aureginosa*. Takođe, velike zone inhibicije pokazuje kaempferol i kaempferol-3-O-galaktozid protiv tipa *Herpes simplek virusa* (Slavica B. Ilić, et al. 2004).

Rod *Eucalyptus* čiji su listovi jako bogati eteričnim uljima dokazano je imaju alelopatska svojstva te utiču na širok spektar biološke aktivnosti jedinke. Listovi su vrlo bogati različitim terpenoidima, od kojih je najznačajniji 1,8-cineol. Takođe, neki monoterpeni iz eteričnih ulja *Eukaliptusa* imaju nematicidan učinak, dok neka jedinjenja djeluju antibakterijski i antifungalno, te se na taj način biljka štiti od patogena u tlu. Pokazalo se da plantaže *Eukaliptus*-a imaju negativan uticaj na ekosistem, budući da često inhibiraju rast bilo kakve vegetacije u nižim slojevima, dovode do degradacije tla te svojim alelopatskim djelovanjem uništavaju autohtonu floru ( Kaur S. et al. 2012).

**TERPENOIDI**, koji čine najčešće i strukturno raznoliku grupu sekundarnih metabolita biljke, igra važnu ulogu u biljnim insektima, biljnim patogenima i biljnim interakcijama (Dudareva i sar., 2004, Paschold i sar., 2006). Terpenoidi su obično prisutni u višim biljkama i više od 23 000 individualnih struktura je identifikovano (Kollner et al. 2004). Terpenoidi se normalno proizvode u vegetativnim tkivima, cvjetovima i, povremeno, korijenovima (Dudareva i sar., 2004).

Biljke imaju direktne i indirektne odbrambene reakcije kada su napadnute od biljojeda ili zaražene gljivičnim i bakterijskim patogenima. Direktne odbrane uključuju fizičke strukture, kao npr trnje, i akumulaciju hemijskih ili biohemijskih jedinjenja koja imaju aktivnosti antibiotika ili toksičnosti. Fitoaleksini su jedinjenja niske molekulske mase koji se proizvode kao dio sistema odbrane biljaka. Kod riže (*Oriza sativa* L.), je identifikovano četrnaest diterpenoidnih fitoaleksina. Ovi policiklični diterpenoidi se sintetizuju iz geranilgeranil diposfata (GGDP). Akumuliraju se u listovima u odgovoru na patogene gljivice *Magneportha grisea* ili ultravioletno zračenje, i ispoljavaju antimikrobna svojstva (Prisic i sar. 2004).

Na sposobnost indirektne odbrane ukazuje fenomen biljaka koje imaju sposobnost da se indirektno brane protiv herbivora poboljšanjem efikasnost prirodnih neprijatelja herbivora. Ove sposobnosti uključuju fizičke strukture i hemijske osobine. Jedan od primjera indirektne odbrane biljaka je oslobađanje mješavine specifičnih isparenja, koje privlače karnivore, nakon napada herbivora na njih.

Na indirektnu reakciju odbrane je posebna pažnja usmjerena, naročito kod kukuruza i pamuka koji su dobro proučavani sa genetičkim, biohemijskim, fizioloških i ekoloških pristupa (Rodriguez-Saona et al. 2003; Arimura i sar. 2004a; Mithofer i sar. 2005; Schnee et al. 2006). Istraživanje u kukuruzu pokazalo je da je kariofilen koji se emituje iz korijena bio podzemni signal koji je izazvao biljke koji snažno privlači entomopatogene nematode (Rasmann et al. 2005) (Ai-Xia Cheng et al. 2007).

1. ZAKLJUČAK

Različite studije pokazuju što direktne što indirektne uticaje terpena i eteričnih ulja na biljke, njihovu antioksidativnu, antimikrobnu, antiinflamatornu, alelopatsku, antiherbivornu aktivnost. Međutim, mnoštvo radova, takođe ukazuje na manjak preciznih istraživanja i širinu otvorenosti ovog polja za buduća istraživanja.

1. LITERATURA
* G. A. AlessioA,C, J. PeñuelasA, J. LlusiàA, R. OgayaA, M. EstiarteA and M. De LillisB - Influence of water and terpenes on flammability in some dominant Mediterranean species, International Journal of Wildland Fire 2008, 17, 274–286
* Ai-Xia Cheng , Yong-Gen Lou , Ying-Bo Mao , Shan Lu , Ling-Jian Wang and Xiao-Ya Chen - Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions, Journal of Integrative Plant Biology 2007, 49 (2): 179−186
* Kapetanović S., 1986., Hemija (Organska jedinjenja), Šumarski fakultet u Sarajevu, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, 109-114
* Kaur, S.,Singh, H., Batish, D., Kohli, R. (2012): Role of Monoterpenes in Eucalyptus Communities; Currnt Bioactive Compounds 2012, 8, 101-107
* Natalia Dudareva, Eran Pichersky, and Jonathan Gershenzon - Biochemistry of Plant Volatiles, Plant Physiol. Vol. 135, 2004
* Slavica B. Ilić, Sandra S. Konstantinović, Zoran B. Todorović - Antimicrobial activity of bioactive component from flower of *Linum capitatum* (KIT UDC 547.972.2: 543) , FACTA UNIVERSITATIS Series: Physics, Chemistry and Technology Vol. 3, No 1, 2004, pp. 73 – 77
* Yee Ling LEE & Phebe DING - Production of Essential Oil in Plants: Ontogeny, Secretory Structures and Seasonal Variations , PJSRR (2016) 2(1): 1-10 © Universiti Putra Malaysia Press