

Forsvar mot å bli spist

©Halvor Aarnes 2000 Notat. S.E.&.O.

Dyreriket avhenger av planteriket, men alle plantene blir ikke spist opp. Plantene skal både kunne tiltrekke insekter, fugl og dyr for pollinering og frøspredning, men samtidig holde dem vekk for å hindre at plantene blir spist opp. Planter som vrakes av dyr er soleier, tistel, brennesle, einer, høymol, tyrihjelm, mjørdurt, sølvbunke, sivarter. Disse blir stående igjen på beiteland.

Overskrifter fra Aftenposten i 1981 og 1988 var av følgende typer: "**Lam døde på beite. Hundrevis av lam i Aust-Agder er forgiftet etter å ha spist løkplanten rome**". "**Fem kviger døde, spiste giftplanter. Fem kviger på en gård i Orkdal måtte i forrige uke bøte med livet etter at de hadde spist den meget giftige planten tyrihjelm..**". "**Travhester spiste barlind og døde. Tre av Rogalands beste travhester døde søndag av forgiftning. Hestene døde fordi de hadde spist giftig barlind, viser gårsdagens obuksjon**".

Plantene inneholder mye attraktiv mat for beitende dyr og insekter, og ville sannsynligvis ikke ha overlevd igjennom millioner av år uten noen form for beskyttelse. Flykte fra farer som truer har de ingen mulighet til. Spesielt utsatt er store frø som inneholder mye opplagsnæring. Derfor er ofte frø fra ville planter giftige. Det er rimelig å anta at dyr og insekter vil forsøke å unngå planter som smaker bittert og som gir ubehag etter fordøyelse. Ingen forsvarsmetode er garantert å holde evig og et insekt kan finne en strategi for å unngå plantens forsvarsapparat. En slik strategi er bruk av monooxygenase og dioksygenase som katalyserer oksidasjon av sekundære stoffskifteprodukter fra plantene, som gjør stoffene mer vannløselige slik at de kan skilles ut.

Forsvaret ligger ofte i flere dominante og recessive alleler. F.eks. ligger resistensen mot en rustsopp (*Melampsora lini*) på 27 alleler på 5 loci (gener) hos lin (*Linum usitatissimum*). Dersom et dominant allel A har 10 % fordel over den recessive a vil det ta 100 generasjoner for å nå en genfrekvens på 90 % for A. For ettårige planter vil dette si 1000 år og for et tre 20.000-50.000 år. Hvis den recessive a har en fordel på 10 % så vil det ta 1000 generasjoner for at den nye frekvensen av a skal bli 90 %.

Plantene har tatt i bruk både mekaniske og kjemiske metoder for å forsvare seg.

Mekanisk beskyttelse

Plantene kan ha torner, tagger, pigger, nåler eller brodder. Både kristtorn, berberis og tistler har **bladtorn**er hvor bladspissen er utviklet til lange nåler. Blad av tistel har tenner og tagger langs kanten og er vanlig i buskvegetasjonen i middelhavsklima. Det er som kjent mulig å skjære seg på gress, og gras kan ha stive hår og børstehår. Slåpetorn, hagtorn, tinnved, geitved og nyperose har **greintorn**er. Bringebær har **barktorn**er. De fleste beitende dyr kvier seg for å komme i kontakt med slike planter. Brennese har **neslehår** i epidermis. Brytes spissen på neslehåret blir det en spiss kanyle som kan sprøyte histamin og acetylcholin inn i huden på den som kommer i kontakt med planten. Valurt har blad med stive **hår (trikomer)** og kongsløys har en store mengde filthår, som dessuten hindrer transpirasjon. Hår med sekreter beskytter spesielt mot mindre

insekter. **Rafider** er bunker med nålformede krystaller som kan lamme tyggemuskelen hos dyr. Finnskjegg og sneller er blad med høyt innhold av **kiselsyre** som gjør planten mindre attraktiv for beitende dyr. Karakteristisk er lukten av pors på myrer og hvis man kommer i kontakt med solbærblad med sekundærmolekyl i kjertelhår. Det finnes en mengde planter som tilsynelatende mangler beskyttelsesmekanismer og allikevel klarer seg bra.. Bladspisende insekter har ofte spesialisert seg på en art som enkelte år kan bli hardt angrepet, men allikevel ser ut til å klare seg.

Fordøyelse av cellulose krever bakterier i tarmen. Garvestoffer, lignin og polyfenoler fordøyes ikke. Mindre vertebrater må unngå for fiberrik kost. Fuglene spiser frukt, frø og knopper som har lite fiber. Insektene kan ha endosymbionter (mycetocyter) som hjelper til med å bryte ned cellulose. Haren fordøyer bare 7-9 % av cellulosen i første omgang, men ved å innta maten på nytt med 24-38 % protein (koprofagy) utnyttes cellulosen bedre og skiller protein fra fiber.

Toksiner - giftige forbindelser i planter

Følgende stoffgrupper hører med til **sekundære metabolitter** i planter og kan i teorien kan benyttes til "kjemisk krigføring" eller signalstoffer (ca. antall kjente forbindelser angitt i parentes):

- Alkaloider (10.000)
- Cyanogene glykosider (50)
- Glukosinolater (100)
- Monoterpener (1000)
- Diterpener (1000)
- Sesquiterpener (1500)
- Triterpener/steroider (800)
- Flavonoider (3000)
- Fenylpropanoider (500)
- Aminer (100)
- Polyketider (750)
- Ikke-protein aminosyrer (400)
- Protease inhibitorer (10)

Plantenes "kjemiske krigføring"

Plantene inneholder en rekke kjemiske stoffer uten kjent funksjon, som gir giftvirkning hos pattedyr, fugl, insekter, sopp og andre planter. Disse stoffene er ofte lagret i vakuoler, og enzymer som kan omsette dem finnes i cytoplasma. Slike stoffer kalles **sekundære metabolitter/stoffskifteprodukter** fordi de har tilsynelatende ingen funksjon i det ordinære metabolismen hos plantene, selv om det ikke er noen klar grense mellom primær- og sekundærmolekulen. Det har vært spekulert over hvilken rolle disse kjemiske forbindelsene spiller, og hvilken verdi de har for planten. Noen har foreslått at de skulle være avfallsprodukter som planten ønsker å kvitte seg med. Det er imidlertid lite sannsynlig at plantene skulle bruke så mye energi og karbonskjeletter på å lage kompliserte kjemiske stoffer som bare skulle være avfall. Mer trolig er det at disse stoffene fungerer som et kjemisk forsvars- eller

kommunikasjonsapparat som øker muligheten for plantene til å overleve. Generelt virker disse stoffene som beskyttelse, men kan også virke som merkelapp og tiltrekke insekter som har spesialisert sin tilværelse på en viss plante. Det er altså tre hovedfunksjoner: skremme, tiltrekke og belønne som de sekundære stoffskifteproduktene har, men funksjonene kan byttes.

Den sveitsiske legen Paracelsus med det fulle navn Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541) formulerte den viktige setningen "Dosis sola facit venum". Dosen er det som avgjør om et stoff er giftig. Han skal visstnok ha sagt dette da han ble kritisert for å bruke kvikksølv i behandlingen av syfilis. Når det blir snakk om hva som er giftig og ikke giftig vil det alltid være spørsmål om mengden giftstoff.

Mange stoffer i plantene virker som veivisere og hjelper insektene med å finne fram til plantene. Kålsommerfugl finner igjen plantene som inneholder sennepsoljegykosider og legger egg på disse. Sennepsoljene virker også som et spisestimulus for larvene av kålsommerfugl. Feromoner sikrer at spermier og egg i brunalgen *Laminaria digitata* treffer hverandre.

Insektene kan også bruke stoffer fra planten til å lage sine egne **feromoner** (signalstoffer) slik som granbarkbillene bruker terpenener fra gran. Feromoner laget av de to greske ordene pherein = overføre og hormon = å stimulere. Døende trær slipper ut stoffer som tiltrekker barkbiller. Barkbiller er små insekter som invaderer trær, borer i veden og formerer seg slik at de kan forårsake masseangrep. Noen foretrekker den nedre, noen den øvre delen av stammen, noen lever i kronen og noen på skyggesiden. De angriper ofte svake og døende trær, lager ganger under barken hvor hunnen legger egg. Eggene klekkes og larvene lever på ved og graver seg videre. I enden av larvegangene forpupper larvene seg og gjennomgår metamorfose. De nye barkbillene vokser, borer seg ut og flyr til nye trær. Hos polygame arter lander hannen først og borer hull. Hunnen kommer senere. Hos monogame arter kommer hunnen først. De første som kommer produserer feromoner som tiltrekker andre. Avføringen inneholder feromoner. Myrcen, et monoterpen fra harpiksen til treet, kan brukes som utgangsmateriale for feromonene ipsenol og ipsdienol, monoterpenet α -pinen gir *cis*-verbenol. Oksidasjonen av terpenener kan gjøres av bakterier i tarmen til insektet. *cis*-verbenol kan sannsynligvis lages av insektet selv. Navigering skjer etter feromoner. I 1979 var avisene oversvømt av katastrofealarm. Granbarkbillene (*Ips typographus*) truet norsk granskog. Vi hadde ikke tidligere opplevd slike massive billeangrep på levende trær. Billene trengte igjennom ytterbarken inn til vekstlaget (vaskulære kambiet) utenfor veden. Treets første forsvarsapparat med sterk utflod av kvaesviktet etterhvert. De første pionerbarkbillene oksiderer terpenener i kvaen til bruk som sine egne feromoner. Disse signalstoffene forteller andre konkurrenter at treet er opptatt, og tilkaller artsfrender i stort antall. Barkbillefeller ble konstruert i stort antall og inneholdt syntetisk fremstilte feromoner. Det er mulig ut fra treets kvaes å lage syntetisk de samme luktstoffene som billene kommuniserte med.

Beveren markerer sitt territorium (revir) med flavonoider fra knopper av osp og vier.

En lang rekke medisiner er oppdaget via **etnobotaniske** (etno -studiet av mennesker) studier:

- ★ Kinin fra å bekjempe malaria (*Cinchona pubescens*).
- ★ Reserpin for å senke blodtrykk (*Rauvolfia serpentina*).
- ★ Kodein for å redusere hoste (*Papaver somniferum*).
- ★ Salicylsyre for å redusere feber (*Salix* og *Filipendula ulmaria*).

- ★ Pseudoefedrin for å redusere neseblødning (*Ephedra sinica*).
- ★ Pilocarpin for å redusere trykket i øyet (*Pilocarpus jaborandi*).

Allelopati

Plantene vokser som regel så tett at det alltid vil være konkurranse mellom dem. Striden utkjempes om lys, plass, vann og næringssalter. I denne krigen brukes også "kjemiske stridsmidler". Darwin så at alle organismer kan lage mer avkom enn det er plass for. Slik også med planter. Hvis en plante gir 50 frø og alle spirer og gir nye 50 avkom hver vil dette i løpet av 25 generasjoner gi 10^{22} planter. Alle disse er det ikke plass til. Det må være en mekanisme som avgjør hvor mange individer av en art det er plass til.

I en tett skog vil regnvann som treffer bladverk og trekroner renne av ved kanten som på en paraply, eller ned langs stengel og stamme. Mange kjemiske forbindelser blir på denne måten vasket ut fra stengler og blader. Noen slike stoffer påvirker andre planter i nærheten og kan f.eks. hindre frø fra andre planter å spire og etablere seg i nærheten.

Allelopati kalles fenomenet hvor kjemiske stoffer fra en plante påvirker spiring, vekst og utvikling av en annen plantart. Det er sikkert mange eksempler på allelopati fra norsk flora, men de er ennå lite undersøkt. Det er betegnende hvordan liljekonvall, mjørdurt, kjempebjønnekjeks og russekål fullstendig utkonkurrerer andre planter i nærheten. Konkurransfordelen kan skyldes mer velutviklet rotsystem og evne til å skygge for andre planter, men kan også skyldes innholdsstoffer som umettede laktoner, terpenoider eller garvestoffer utskilt fra planten eller fra nedbrytning av planterester. Røsslyng og mjølbær skiller ut karboksyfenolsyrer og hydroksycinnamater som hemmer vekst av andre planter i nærheten.

Allelopati finnes også i akvatiske økosystemer.

Fytoaleksiner

Fytoaleksiner er stoffer som lages når planten blir angrepet. Det er omtrent som når vår kropp lager interferon når vi blir angrepet av virus. De fleste fytoaleksiner er isoflavanoider som pisatin hos erter, eller de er derivater av terpenener og fettsyrer. Det enkleste fytoaleksin er benzosyre. Tyttebær og multer er i utgangspunktet kjent for å inneholde mye benzosyre og råtner derfor ikke så lett. I dette siste tilfellet fungerer ikke benzosyre som et fytoaleksin strengt definisjonsmessig. Eksempler på fytoaleksiner er glyceollin fra soyabønne og medicarpin fra alfalfa som begge er isoflavonoider. Rishitin og capsidiol fra søtvierfamilien er sesquiterpenener.

Mutualisme og koevolusjon

Gjennom evolusjonen har plantene utviklet mekanismer for spredning av avkom og sikring av overlevelsesmuligheter av de nye individene som vokser opp. Samarbeidet mellom insekter og frøplanter startet i midten av Kritt-tiden for over 100 millioner år siden. Samarbeidet omfatter pollinering, frøspredning og beskyttelse (maur). Et annet samarbeid ble inngått mellom sopp og planter.

Lukt

Plantene skal både kunne tiltrekke insekter, fugl og dyr for pollinering og frøspredning, men samtidig holde dem vekk for å hindre å bli spist opp. Rukkerose (*Rosa rugosa*) har lukt som skyldes benzylalkohol, pentan-1-ol, citronellon og farnesen. Åkersvineblom og stankstorknebb hører med til de illeluktende plantene. Biller og fluer har ofte velutviklet sans for ubehagelig lukt. Åtsellukt kan ha betydning for å lokke til seg pollinerende insekter. Selv om vår luktesans er forskjellig fra dyrenes er det ikke unaturlig å tenke seg at en fæl lukt kan skremme vekk beitende dyr. Solbærblad har på undersiden små beholdere med eteriske oljer lukket med voks. Kommer man i kontakt med bladene fjernes voksen og lukten gir ikke tvil om at det er solbærblad man er i kontakt med. Mange duftstoffer er bundet til glukose og slippes fri vha. enzymet β -glukosidase.

Noen lukter slippes bare ut om natten. Bier har evne til å merke blomstene de har besøkt med luktstoff som hindrer dem i å bruke ekstra energi på allerede besøkte blomster. Orkidéen *Ophrys* lar blomsten etterligne hunnbier og får hannbien (*Andrena*) til å kopulere med blomsten og pollinerer den på samme tid. Det er kjent 150 forskjellige flyktige stoffer fra *Ophrys lutea* (alifatiske hydrokarboner, alkoholer, aldehyder, ketoner, estere, aromatiske stoffer som *E*, *E*-farnesol, nerol, 6-metyl-5-hepten-2-one). Geraniol og *E,E*-farnesol leder biene til blomsten. **Kjemisk mimikry** kalles fenomenet hvor blomsten lager de samme stoffer som tiltrekker i bienes reproduksjonen. Forskjellige plasseringer av sidegrupper ved karbon dobbeltbindinger angis i noen tilfeller med: *E* - entgegen- motsatt, og *Z*- zusammen, samme. En annen betegnelse er *cis* og *trans*.

Alkaloider

Alkaloidene har fått navnet sitt fra det arabiske ordet al-qali som betyr basiske. Morfin fra *Papaver somniferum* var det første alkaloidet som ble isolert av Sertürner i 1806, og nå er det kjent omtrent 10.000 forskjellige alkaloider. Det er en rekke eksempler gjennom menneskets historie på bruk av alkaloider som gift eller legemiddel. Sokrates død i år 399 f.kr. skyldes et giftbeger med alkaloidet coniin fra skarntyde (*Conium maculatum*). Kleopatra brukte atropin fra *Atropa belladonna* for å få større pupiller. Barken fra *Cinchona officinalis* inneholder kinin som ble brukt som anti-malaria middel. Taxol er et sesquiterpen fra *Taxus brevifolia* er et middel som kan brukes mot kreft. Alkaloidene kaffein fra kaffe og te og nikotin fra tobakk, midler som stimulerer sentralnervesystemet er i daglig bruk av mange mennesker. Det er relativt lite kunnskap om de biokjemiske biosynteseveiene for alkaloidene i plantene og regulering av disse. Alkaloidene kan deles i hovedgrupper

Virkingen av alkaloider på mennesker er velkjent, men hvorfor bruker plantene så mye energi og nitrogen på å lage disse stoffene? Nikotin brukes som insekticid, og så langt har ingen insekter utviklet resistens mot nikotin. Nikotin lages også som resultat av såring av planten.

Kutchan, T.M.: Alkaloid biosynthesis- The basis for metabolic engineering of medicinal plants. Plant Cell 7 (1995) 1059-1070.

Alkaloidene utgjør en svært lite homogen gruppe slik at det ofte er vanskelig å gjøre

generaliseringer. De viser dog visse fellestrekk som innhold av nitrogen, gjerne i en aromatisk ring og som navnet indikerer er de basiske. Alkaloidene klassifiseres etter ringsystemet de er laget av. Vi har således følgende alkaloider (i parentes er angitt hvilke aminosyrer de lages fra)

1) **Tropanalkaloider** (ornithin). Tropan- og nikotinalkaloider finnes hovedsakelig i søtvierfamilien (Solanaceae). I denne gruppen finnes hyoscyamin (racematet kalles atropin) fra *Atropa belladonna*; kokain fra *Erythroxylon coca* (Erythroxylaceae); scopolamin fra *Datura stramonium* og *Duboisia*. B-vitaminet niacin er laget fra nikotinsyre

2) **Pyrrrolizidin alkaloider** (ornithin). Hos arter av *Crotolaria*, *Echium*, *Heliotropium* og *Senecio*.

3) **Pyridin alkaloider** (ornithin). Hos arter av *Conium*, *Lobelia* og *Nicotiana*.

4) **Isoquinolin alkaloider** (tyrosin). Benzylisoquinolinalkaloidene er en heterogen og stor gruppe alkaloider. Hit hører emetin (antiemøbisk), cholchicin (reagerer med mikrotubuli), berberin (antimikrobiell), morfin, kodein, sanguinarin (antimikrobiell). Bisbenzylisoquinolinalkaloider er en dimer av tetrahydrobenzylisoquinoliner. (+)Tubucurarin fra *Chonodendron tomentosum* er et muskelavslappende middel som også har vært brukt som pilegift. Hos arter av *Argemone*, *Chelidonium*, *Corydalis*, *Dicentra*, *Papaver* og *Sanguinaria*.

5) **Indol alkaloider** (tryptofan). Til indolalkaloidgruppen hører kinin, antikreftmiddel campotethecin fra *Camptotheca acuminata*; giften stryknin fra *Strychnos nux-vomica*; og kjemoterapimidlene og spindelgiftene vinkristin og vinblastin fra *Catharanthus roseus*. Ajmalin er et antiarytmisk middel fra *Rauvolfia serpentina* som virker ved å hemme glukoseopptak i mitokondriene i hjertet. Reserpin og psilocybin finnes hos sopp.

6) **Quinolizidin alkaloider** (lysin). Hos arter av *Baptisia*, *Cytisus*, *Laburnum*, *Lupinus*, *Sophora*.

Alkaloidene finnes igjennom hele planteriket, men det finnes spesielle plantefamilier og slekter som er spesielt rike på alkaloider. Alkaloider finnes spesielt rikelig innen familiene Papaveraceae, Fabaceae og Asteraceae. De er mindre vanlig hos enfrøbladete planter. De kan hemme DNA og RNA-syntese (caffeine). Degrudere RNA (meskalin). Nedbryte membraner (tomatin). Mange alkaloider påvirker neurotransmittere. Calabarplanten (*Physostigma venenosum*) har bønner som inneholder et alkaloid fysostigmin, et karbamat som reagerer med cholinesteraser. De kolinerge neuroner kan enten ha muskarin eller nikotin receptorer. Atropin fra *Atropa belladonna* binder seg til muskarinreceptoren

Landøyda er et ugras som har god beskyttelse av pyrrolizidin-alkaloider, ofte kalt *Senecio*-alkaloider. Det er de eneste alkaloidene man vet er kreftfremkallende. Mange dyr har blitt forgiftet av disse plantene. Men det er også insekter og larver som lever hele sitt liv i tilknytning til planter som landøyda. Kjemiske stoffer fra landøyda omformes av insektet og brukes til kjemisk språk for å lokke til seg og kommunisere med artsfrender. Insektet tar opp og lagrer pyrrolizidin-alkaloidene. De blir dermed giftige for andre insektspisende dyr og fugler. Det er et velkjent prinsipp at giftige insekter tar opp giftige stoffer fra plantene som de bruker i sitt eget forsvarsapparat. Mange insekter har levd sammen med og basert hele sin tilværelse på en plantart.

Kaffebønnen (*Coffea arabica*) inneholder store mengder av purinalkaloidet kaffein og klorogensyre som begge beskytter frøet mot biotiske angrep.

Opiumsvalmuen

Opiumsvalmuen er hovedkilden til opiatene kodein og morfin. En kremfarget latex tyter fram fra snitt i den umodnet kapselen. Opium, den størkede latexen, inneholder minst 25 alkaloider. Dominerende er morfin (opptil 52 % av totalinnholdet), kodein og thebain. Papaverin, noscopin og narcein finnes også i større mengder. Latexen består av en rekke partikler suspendert i en stor sentral vakuole. Latexen inneholder endoplasmatisk retikulum, kjerner, mitokondrier, Frey-Wyssling partikler og runde legemer (1000 x g vakuoler). Disse vakuolene inneholder alkaloider.

Colchicin og andre spindelgifter

Under vanlig celledeling går de dupliserte kromosomene til hver sin ende av cellen og atskilles av den nye celleveggen som lages. De to dattercellene får samme kromosomtall som foreldrene. Alkaloidet colchicin som finnes i planten tidløs (*Colchicum autumnale*) gjør at kromosomene ikke skiller lag under celledelingen. De blir værende i sentrum av cellen omgitt av en kjernemembran og cellen har nå fått fordoblet kromosomtallet. Colchicin lager polyploide planter.

Andre typer "spindelgifter" som binder seg til tubulin er alkaloidene vinkristin og vinblastin fra planten (*Catharanthus roseus*) som vokser bl.a. på Madagaskar. Disse stoffene har lignende effekt som colchicin. Diterpenoidet taxol ble over 30 år siden isolert fra alle delene av en art barlind *Taxus brevifolia*. Det inneholder et taxan ringsystem og en sjelden 4-oxetan-ring med en ester sidekjede. Det får derved andre egenskaper enn vinca alkaloidene og colchicine når det gjelder reaksjon med mikrotubuli. Taxol gir dannelse av stabile bunter med mikrotubuli som et resultat av reorganisering av cytoskjelettet med mikrotubuli.

Rughvete er en ny plante laget ved hjelp av colchisin. Rug har 14 kromosomer og hvete har 42 kromosomer. Ved vanlig krysning gir dette en steril hybrid med 28 kromosomer. Hybriden får 7 pluss 21 kromosomer fra foreldrene. Men fordobles kromosomtallet hos rug og hvete gir dette kjønnsceller med henholdsvis 14 og 42 kromosomer i stedet for vanlig 7 og 21. Ved krysning av disse plantene gir dette et avkom med 56 kromosomer. Dette er rughvete som gir god avling og som egner seg godt i sur jord med mye aluminium.

Fluorid og selen

Fluoroacetat er en gift som finnes i planten *Dichapetalum cymosum*. Giftvirkningen skyldes at enzymet citrat syntase i Krebszyklus tar feil av acetyl-CoA og fluoroacetyl-CoA. Fluorocitrat som blir produktet hemmer også aconitase.

Selen tas opp av planter og inkorporeres inn i svovelaminosyrene og det dannes selenaminosyrer (selenomethionin, selenocystein) som er giftige.

Flavonoider

Flavonoider er pigmenter i planter. De kan være gule (chalconer, auroner og gule flavonoler) eller røde, blå eller purpurfargede anthocyaniner. Når de ikke har farge fungerer de som hjelpepigment eks. flavon og flavonol, og disse kan også absorbere UV-lys. Alle flavonoidene er kjemisk bygget opp av to C6-ringer koblet sammen med en C3-bro. B-ringen (C6-C3) kommer fra fenylalanin og shikimat, og A-ringen fra mevalonsyre (C6).

Alle flavonoidene har et felles 2-fenylchroman-skjelett og inndeles i forskjellige grupper avhengig av oksideringen av pyran-ringen: 2-fenylbenzopyriliumer (anthocyaniner), 2-fenylchromoner (flavoner, flavonoler, flavanoner, dihydroflavonoler, isoflavoner, isoflavanoner, 2-fenylchromaner (flavaner, flavan-3-oler), chalconer og dihydrochalconer (åpen pyran-ring), 2-benzyliden coumaranoner (=auroner). Flavonoidene finnes som O- og C-glykosider. Flavonoidene kan fungere som hydrogen-donor via glutathion til dehydroaskorbat, og tar hånd om skadelige radikaler. Flere flavonoider hemmer enzymaktiviteter bl.a. lipoksygenase og syclooksygenase.

Anthocyaniner finnes i planten som glykosid (**anthocyanin**) eller aglykon (**anthocyanidiner**). I sur løsning er de kationer og alltid hydroksylert i 3-posisjon. De vanligste aglykonene er pelargonidin, cyanidin og delphinidin.

Biosyntesen av fenylpropanoider påvirkes av en rekke typer av stress. Ultrafiolett lys kan gi syntese av anthocyaniner, flavoner, sinapyl estere, isoflavonoider og psoralener. Ved lav temperatur eller mangel på nitrogen eller fosfat lages anthocyaniner, mangler planten jern lages fenoler.

Angripes planten av patogener kan den svare med (avhengig av art) med å lage pterocarpaner, isoflavaner, prenylerte isoflavonoider, stilbener, coumariner, furanocoumariner, flavanoler, og auroner.

Isoflavonoider

Isoflavonoider er en gruppe av flavonoidene hvor posisjonen til B-ringen er endret. Isoflavonoidene kan virke som fytoaleksiner. De finnes ikke før angrepet, men lages i store mengder i løpet av noen timer lokalisert rundt infeksjonsstedet. Disse er har bredspektret giftighet mot mange typer sopp og bakterier.

Kinoner

Kinoner er oksiderte fenoler f.eks. benzokinon, naftokinon, og anthrakinon. Naftokinoner virker antibakterielt og antifungicid og finnes i veden hos flere tropiske trær. Anthrakinoner gir farge som f.eks. i *Rubia tinctorium* (Rubiaceae). Kinoner kan gi opphav til kontaktallergi. Naftokinoner er gule til oransje pigmenter.

Fytoecdysteroider

Plantene kan inneholde stoffer som gir hormonvirkning og påvirker metamorfoesen hos insekter. β -ecdyson finnes i rot og stengel til sisselrot. Jfr. historien om "papirfaktoren", insekter som ble brukt i laboratoriearbeid og effekten av amerikansk kontra europeisk papir.

Sennepsoljegykosider - glukosinolater

De kalles glykosider når de er bundet til sukker. Sennepsoljene er økonomisk viktige idet de inngår som en sentral smaksbestanddel i sennep. De har en skarp irriterende lukt og smak. Det er kjent omtrent 80 forskjellige sennepsoljegykosider fra planteriket

med allsidig kjemisk struktur. Glukosinolater (sennepsoljegykosider) er ansvarlig for den karakteristiske lukten og smak av sennep, redikk, kål (Brassicaceae) og arter innen Capparidaceae, Tropaeolaceae, Resedaceae. Glukosinolatene består av glukose, en sulfatgruppe og et variabelt aglykon. Forløperen for glukosinolatene er forskjellige aminosyrer:

tyrosin → p-hydroksybenzylglukosinolat → sinalbin (hvit sennep)
tryptofan → 3-indolylmethylglukosinolat → glukobrassicin (kål)
homomethionin → allylglukosinolat → sinigrin (svart sennep)

Allerede på 1800-tallet skjønte man at sennepsoljene kom fra nedbrytning av sennepsoljegykosider når plantevevet ble knust. Først når vevet knuses kommer enzymet **myrosinase** (thioglukosid glukohydrolase) i kontakt med sennepsoljegykosidene. Myrosinaser er en gruppe isoenzymer som finnes i myrosinceller og de omformer glykosidene til sennepsolje (isothiocyanat, -R-N=C=S), sukker og sulfat. Thiocyanater binder jod og spiser man store mengder rå kål kan dette resultere i hypothyroidisme og struma. Sinigrin er det vanligste av alle sennepsoljegykosidene.

Svovelforbindelser i løk og hvitløk

Løk inneholder svovelforbindelser. Det kjenner vi når tårene triller under oppskjæring av løk. Tårefaktoren er løselig i vann og derfor hjelper det å skrelle løken under rennende vann. Lav temperatur på løken gjør at mindre av tårefaktoren fordamper. Svovelforbindelsene gir en antibiotisk effekt og beskytter løken mot råtesopp når den ligger i jorda. Hvitløk (*Allium sativum*, Liliaceae) inneholder fruktaner, saponiner (furostanol glykosider: sativin, proto-erubin B), og alliin (S-allyl-L-cystein sulfoksid). Lukten av hvitløk skyldes **allicin** og kan ekstraheres ut i etanol og vann ved romtemperatur. Ekstraheres løken i etanol under 0°C får man ut **alliin** som har antibakteriell og antisopp virkning. Alliin kan spaltes av enzymet allinase til 2-propensulfensyre som dimeriseres og gir videre allicin, altså hvitløkslukten, men allicin gir selv opphav til en rekke andre svovelforbindelser bla. ajoene som hindrer aggregering av blodplater. Oksidering av allicin i luften gir diallyldisulfid.

Løk (*Allium cepa*, Liliaceae) inneholder fruktaner, flavonoider, trans-S-(1-propenyl)cystein sulfoksid, alkyl- og elkenylcysteiner og deres sulfoksider. Når vevet knuses blir sulfoksidene degradert av allinase. Produktene blir pyruvat og alkylthiosulfonater som er ustabile og raskt omdannes til disulfider f.eks dipropyl disulfid. Tårefaktoren i løk antar man er propanthial S-oxid (C₂H₅CH=SO). I løk lager enzymet allinase propanthial S-oxider. Allinase kan bruke en rekke svovelforbindelser som substrat.

Voks

Voks finnes på overflaten til frukt og blad hvor de sammen med kutin gir en hydrofob kutikula. Voks er en blanding av hydrokarboner, fri og hydroksylerte alifatiske syrer, alifatiske alkoholer, alifatiske aldehyder, alifatiske ketoner, β-diketoner og estere. De mettede alifatiske hydrokarbonene har et odde antall karbonatomer mellom 17 og 37, vanligst er mellom 29 og 31. Vanlige estere fra 1-alkanoler kan inneholde opptil 72

karbonatomer. Carnaubavoks som bl.a. finnes utenpå sjokoladen "Non-stop" kommer fra *Copernicia cerifera* (Palmae).

Hydrokolloider

Hydrokolloidene fra planter gir gummilignende eksudater (utflod) og finnes spesielt mye i familiene Mimosaceae, Rosaceae, Combretaceae, Burseraceae og Rutaceae. De fleste gummiutflodene er metylert f.eks. hydroksylgruppen i C4-posisjon i glukuronsyre eller i C3 posisjon i rhamnose. Gummiutfloden kan bestå av galaktaner med arabinose og glukuronsyre. De kan ligne på pektiner med D-galakturonsyre sammen med arabinose, rhamnose. Karayagummi er et viskøst eksudat fra stamme og greiner fra *Sterculia urens* og *Sterculia tomentosa* (Sterculiaceae) og består av glukano- α -D-galakturonan. Gummi arabicum kommer fra stamme og greiner fra et lite tre *Acacia senegal* (Mimosaceae). Tragacanth er gummiutflod fra stammen til en liten tornebusk *Astragalus gummifer* (Fabaceae) og består av arabinogalaktan og glukano- α -D-galakturonan. Carobtreet *Ceratonia siliqua* (Caesalpiniaceae) har et gummilignende stoff som er et galaktomannan. Guarbønne *Cyamopsis tetragonolobus* (Fabaceae) er en ettårig urt hvor frøene inneholder guaran, et galaktomannan, som finnes i guarmel og brukes som fortykningsmiddel i næringsmiddelindustri. Frø fra lin og groblad skiller også ut karbohydratslim.

Garvestoffer (tanniner)

Garvestoffene inndeles i to typer.

1) Hydrolyserbare garvestoffer

2) kondenserte (proanthocyanidiner) garvestoffer.

Begge gir en tørr, skarp snerpete smak pga binding til spyttproteiner (glykoproteiner) i munnen slik at spyttet mister sin smørende effekt. Vi tåler en viss snerpet smak i te, rødvin, kaffe, solbær og epler. Garvestoffer brukes til å behandle skinn for å lage lær i en prosess kalt garving. Garvestoffene reagerer med kovalent binding til kollagenfibrene i skinnet.

Kondenserte garvestoffer kan hydrolyseres med sterk syre til anthocyanidiner og kalles proanthocyanidiner. De er polymere av et flavan-3-ol (catechin og epicatechin), gallocatechin, eller epigallocatechin.

Hydrolyserbare garvestoffer er en gruppe heterogene polymere med estere av sukker og fenoler, spesielt gallic syre. Gallotanniner og ellagitanniner finnes spesielt hos de tofrøbladete.

De kondenserte garvestoffene finnes i alle planter fra sneller, bartrær til frøplanter. Hydrolyserbare garvestoffer er mer effektive og finnes bare hos tofrøbladete planter. Innholdet av garvestoffer øker igjennom vekstsesongen når bladene blir eldre. Eik inneholder mye garvestoffer både i blader og bark. Vi kan observere at eikeblad blir liggende lenge igjen på bakken uten at sopp klarer å hankses med dem. Et ospeblad er det på samme tid igjen bare et skjelettet av ledningsstrengene som inneholder lignin. Insektslarver som lever på eika foretrekker bladene tidlig på sommeren. Lenger utover i vekstsesongen finner de heller annen mat. Garvestoffene gjør at proteinene i planten blir lite tilgjengelig for insekter og dyr. Eikenøtter er lite egnet til menneskemat.

Man har kommet til at det er mange likhetspunkter mellom lignin og proanthocyanidiner

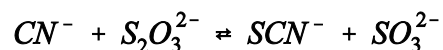
Egenskap	Lignin	Proanthocyanidiner
Kjemi	(C6-C3) _n	(C6-C3-C6) _n
UV-absorpsjon	270-280 nm	270-280 nm
Biosyntese	Fenylpropan-CoA	Malonat-CoA:fenylpropan-CoA
Lokalisering	Cellevegg	Vakuole
% av tørrvekt vev	< 35 %	< 30 %
Funksjon	Støtte, forsvar	Forsvar

Sammenligning av egenskapene til lignin og proanthocyanidiner.

Sekundærveggen i planter i xylem og styrkevev inneholder mye **lignin**. Lignin er en polymer av C6-C3 fenylpropanoider. Lignin lages fra friradikal polymerisering av koniferylalkohol, koumarylalkohol og synapylalkohol.

Blåsyreproduserende planter

Mange planter er blåsyrebærere. Det vil si at de inneholder **cyangogene glykosider** som kan avgi blåsyre. Blåsyre er svært giftig og virker ved å blokkere enzymet cytokrom oxidase ved at CN⁻ bindes til jern i cytokrom a og a₃. Allerede i forrige århundre kjente man til at arter i rosefamilien som aprikoser, fersken, bitre mandler og hegg kunne avgi blåsyre når deler av planten ble knust. Spesielt frøene inneholder mye. Senere viste det seg at arter i en rekke plantefamilier var blåsyrebærere. Både hos bregner, nakenfrøete og en- og tofrøbladete planter og til og med hos arter av tusenbein fant man dette. Evnen til å tåle cyanid hos dyr og mennesker kan påvirkes av innholdet av thiosulfat siden cyanid kan avgiftes via enzymet rhodanese som katalyserer reaksjonen:



Det er kjent ca. 50 forskjellige cyanogene glykosider og de klassifiseres etter aminosyren de lages fra: fenylalanin, tyrosin, leucin, isoleucin og valin. De cyanogene glykosidene finnes i hele planteriket men spesielt mye i Rosaceae, Fabaceae, Poaceae, Araceae, Euphorbiaceae, Passifloraceae.

Cyanogene glykosidene lagres i vakuolene og spaltes av endogene glukosidaser i cytoplasma til et ustabil cyanohydrin når plantevevet ødelegges. Cyanohydrinet dissosierer til HCN og en karbonylforbindelse og denne reaksjonen katalyserer av en hydroksynitril lyase.

Bitre mandler - oppdagelsen av amygdalin

Det eksisterer to sorter med mandler, de bitre og de søte. Det var arbeid med bitre mandler som førte frem til oppdagelsen av hvor blåsyre kom fra. På den tiden var det en liten industri som presset mandelolje ut av bitre mandler. Restene etter utpressingen ble blandet med vann og destillert. Destillatet ga en flyktig olje, bittermandelolje, som blant annet ble brukt til å parfymere såpe. Pierre Jean Robiquet (1740-1840), apoteker og professor i farmasi i Paris, og Boutron Charland fant ut at blandes bittermandelolje med pottaske (kaliumkarbonat) i kontakt med luft ble bittermandeloljen oksidert til benzosyre. De kom fram til at

bittermandeloljen ble dannet under destillasjonsprosessen. Dette skjedde på grunnlag av følgende forsøk: Ble bitre mandler ekstrahert med eter fant de ingen bittermandelolje. Men brukte de først vann og deretter eter var bittermandelolje tilstede i eteren. Ekstraherte de med eter, så med alkohol og deretter vann fant de heller ingenting, men i alkoholen var det et stoff de kunne lage krystaller av. Stoffet ble kalt amygdalin. De overså muligheten de hadde til å friggi blåsyre fra amygdalin ved hjelp av enzymer i vannet. Det gjorde imidlertid de to berømte tyske kjemikerne Justus von Liebig og Friedrich Wöhler. I vannet fant de ett enzym som kunne spalte amygdalin til bittermandelolje, blåsyre og sukker. Senere fant man amygdalin i steiner av fersken, aprikoser og kirsebær. Amygdalin har i våre dager vært forsøkt solgt som kreftforebyggende middel med meget tvilsom effekt.

Amygdalin befinner seg i vakuolen til plantene og enzymet som spalter amygdalin er i cytoplasma. Når et blad fra hegg gnis hardt imellom fingrene kommer enzym og substratet amygdalin i kontakt med hverandre og vi kan kjenne lukten av bittermandelolje samtidig med at giftig blåsyre avgis. Høyest innhold av cyanogene glykosider finnes i bladene og frøene. Linamarin og lotaustralin er de mest kjente blåsyreproduserende stoffene og finnes i tiriltunge, hvitkløver og lin. Prunasin finnes i hegg og einstape. Sivblom, fjæresauløk og myrsauløk inneholder triglochinin. Barlind har taxiphyllin. Både klima og hvor plantene vokser påvirker mengden blåsyrebærende stoffer i plantene. Hos hvitkløver er det stor variasjon i utbredelsen av planter med blåsyrebærende stoff og enzym som kan spalte stoffet. Ved middelhavslandene er det omtrent bare blåsyreproduserende hvitkløver, men jo lenger nord i Europa og høyere over havet en kommer desto færre blir det. Blåsyre som slippes ut er ikke så giftig for plantene selv. De kan nemlig ta hånd om og avgifte blåsyren bl.a. ved å lage aminosyren β -cyanoalanin. Verre er det med beitende dyr, sniler og insekter som forsøker å spise plantene. Mange mennesker og dyr blir utsatt for lave konsentrasjoner av blåsyreproduserende stoffer. Spesielt i tropene fra de stivelsesholdige georgine-lignende knollene fra kassava (*Manihot esculenta*) (maniok). I Nigeria er det eksempler på at en dagsrasjon med kassava-mel inneholder halvparten av en dødlig dose med blåsyreproduserende stoff. Etter oppvarming i vann vil det meste forsvinne. Vi antar at utskillelse av blåsyre gir en beskyttelse mot beitende dyr og insekter. Når vi ser en hegg helt oppspist av heggspinnermøll vil vi kanskje ikke tro dette. Grunnen er nok at heggspinnermøllen har funnet en måte å omgå heggens forsvarsapparat. Blåsyre har spilt en stor rolle når de første organiske stoffene ble laget på jorda. Det er kanskje ikke så rart at noen organismer har utnyttet de mulighetene blåsyre gir.

Ikke-protein aminosyrer

Spesielt i erteblomstfamilien forekommer det mange aminosyrer av en annen type enn de 20 som blir brukt til å bygge opp proteiner. Noen av disse virker som nervegifter. Lathyrisme er en sykdom som finnes i to utgaver. **Neurolathyrisme** som angriper nervesystemet og **osteolathyrisme** hvor bindevevet i beina ødelegges. Navnet har sykdommene fått etter *Lathyrus*, det latinske navnet for flatbelg. Hos blomsterert (*Lathyrus odoratus*) er det giftige aminosyrer (bl.a. β -amino-propionitril som også finnes som γ -glutamyl-derivat) som lager osteolathyrisme. Hos forvikke (*Vicia sativa*) og *Lathyrus sativus* er det aminosyrer gir neurolathyrisme bl.a. γ -N-oxalyl- α -diaminopropionsyre. Sykdommen har vært utbredt i India i tider med hungersnød. Hos plantene finnes over 400 aminosyrer som ikke inngår i proteiner. Mange av dem

er giftige siden de ligner mye på de vanlige aminosyrene som brukes til å bygge opp proteiner. Andre som spiser av planten tar og setter disse aminosyrene inn i sine egne proteiner som derved blir ødelagt. Planten som lager disse stoffene klarer å se forskjell på giftige og harmløse aminosyrer og tar selv ingen skade. Frøbiller som har spesialisert seg på frø fra erteblomstfamilien har omgått plantens forsvarsapparat. Frøbiller finnes ofte i stort antall i frøene til arter av flatbelg. Canavanin er en ligner mye på aminosyren arginin og finnes i Jackbønner (*Canavalia ensiformis*). I denne planten finner aminoacyl-t-RNA syntetase forskjell på arginin og canavanin. Det skjer imidlertid ikke hos andre organismer slik at canavanin blir bygget inn i proteiner istedet for arginin og derved oppstår giftvirkningen ved at den tredimensjonale strukturen til proteinene ødelegges. Hypoglycin finnes i *Blichia sapida*.

Azetidin-2-karboksylysyre er en analog til aminosyren prolin og finnes bl.a. i liljekonvall (*Convallaria majalis*). Mimosin gir forgiftning hos beitende dyr og finnes i *Leucaena leucocephala* og *Mimosa pudica*. Indospicin finnes i *Indigofera spicata*. På jord som inneholder mye selen kan det lages selen-aminosyrer bl.a i *Astragalus*- arter som gir forgiftninger i beitende dyr. Selen tar plassen til svovel i svovelaminosyrene. Produktene blir bl.a. selenomethionin og selenocystein.

Giftige glykoproteiner

Ricin vakte oppmerksomhet da det ble brukt i London 1978 av KGB for å ta livet av den bulgarske dissidenten Georgi Markov. Det svært giftige proteinet ricin fra *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) virker ved å inaktivere irreversibelt den store 60 S subenheten på det eukaryote ribosom. Det finnes mange ribosominaktiverende proteiner som bindes spesifikt til ribosomene og derved blokkerer proteinsyntesen. Abrin fra *Abrus precatorius* (Fabaceae), viscumin viscotoxin A2, A3 og B fra misteltein (*Viscum album*) og nigrin b fra svarthyll (*Sambucus nigra*). Alle disse er eksempler på ribosominaktiverende proteiner som har to kjeder A og B. En del som fester seg på overflaten til cellene og en del som går inn i cellene og ødelegger proteinsyntesen. Det finnes også slike ribosominaktiverende proteiner med en bundet til sukker (glykoprotein). Som de fleste andre proteiner ødelegges giftige sukkerproteinene når de kokes.

Plantene, spesielt frø fra erteblomstfamilien, inneholder sukkerproteiner (**lektiner**) som får røde blodlegemer fra mennesker til å klumpe seg sammen. De kalles derfor også **fytohaemagglutininer**. Lektiner er proteiner som kan binde glykoproteiner, glykolipider og polysakkarider. Sukkerproteinene kjenner igjen spesielle suktermolekyler på overflaten av de røde blodlegemene og passer her som nøkkelen i en lås. Opptil 10 % av det totale proteinet i frø kan være disse sukkerproteinene. Proteinene er ide fleste tilfeller giftige og hemmer veksten hos pattedyr, fugl eller insekter som spiser av plantene.

Protease inhibitorer (proteasehemmere)

Like etter at soyabønner ble introdusert i U.S.A. fant man at rå soyabønner som mat reduserte veksten av rotter. Soyabønnene måtte kokes eller lagres lenge for å unngå denne effekten. Når vi spiser proteinrik mat deles proteinene opp av proteaser, enzymer i vår fordøyelsesvæske. Dette må gjøres for at vi skal kunne utnytte aminosyrene i

proteinet. Frø og planter inneholder små proteiner, proteasehemmere, som hindrer proteasene hos insekter og dyr i å gjøre jobben sin. Plantenes egne proteaser påvirke ikke. Slike hemmere vil gjøre at den som spiser av planten ikke vil kunne fullt utnytte næringsverdien av proteinene i planten. På sikt vil dette være tilskade for insektet eller dyret.

Skades tomatplanter eller poteter av insekter eller skades planten på annen måte starter de med å lage store mengder protease hemmere. Den reduserte veksten disse stoffene gir hos dem som forsøker å spise av planten har sikkert gjennom millioner av år hatt betydning for plantenes mulighet til å overleve.

Terpenoider

Det er kjent over 22.000 forskjellige terpenoider og de har en rekke funksjoner i planten som hormoner (gibberelliner, abscisinsyre), fotosyntetiske pigmenter (fytol, karotenoider), elektrontransportører (ubikinon, plastokinon), blomsterduft (linallol), strukturkomponenter i membraner (fytosteroler), forsvar og kjemisk kommunikasjon. Terpenoidene lages fra **isopren** (2-metyl-1,3-butadien) som har 5 karbonatomer. Byggeblokken med 5 karbonatomer lages via **mevalonsyreveien**. Isopentylpyrofosfat er utgangspunkt for syntesen av terpenener og steroider. Terpenoidene består derfor av multiplum av fem karbonatomer.

To C₅, ialt ti karbonatomer gir **monoterpenener**. Geranyl pyrofosfat er utgangspunkt for C₁₀ monoterpenener. 3 C₅ gir **sesquiterpenener** med 15 karbonatomer, viktig bestanddel i aromatiske oljer og bitterstoffer. Farnesyl pyrofosfat er utgangspunkt for biosyntese av C₁₅ sesquiterpenener. 4 C₅ gir **diterpenener** med 20 karbonatomer, og geranylgeranyl pyrofosfat danner utgangspunkt for C₂₀ diterpenener. 6 C₅ gir **triterpenener** med 30 karbonatomer.

Geranylfarnesylpyrofosfat gir C₂₅ sesquiterpenener. C₃₀ triterpenener, steroider og C₄₀ karotener kommer fra squalene og phytoen.

Polyterpenener består av (C₅)_n. Gummi består av 1500-15000 isopentyleneheter. Guttagummi har karbon dobbeltbindinger i *trans* (*E*)-stilling f.eks. fra *Manilkara zapota*. Gummi (*cis* (*Z*)-1,4-polyisopren) kan bestå av opptil 100.000 isopreneneheter.

Terpenoidene kan skilles ut som harpiks fra bartrær via **harpikskanaler** i stamme, greiner og nåler. Når går hull på harpikskanalene tyter harpiksen ut. Når det kommer til luft størkner den og forsegler såret. Monoterpenener finnes i harpiks f.eks. α-pinen, β-pinen, limonen, myrcen og disse er vanligvis giftige for sopp og insekter. Terpenener kan også skilles ut fra kjertelhår (trikomer) på bladene f.eks sesquiterpenlaktoner. Terpenener kan også skilles ut i spesielle melkerør som gummilakteks. I tillegg til syntese av terpenoider som følger utviklingstrinn i plantens livssyklus kan syntesen induseres via elicitorer.

Pyrethroider er en monoterpenester som finnes i *Chrysanthemum*-arter. Pyrethroider virker som **insekticider**. De har lav giftighet på pattedyr, brytes raskt ned i naturen og er derfor mye brukt i insektmidler.

Flyktige oljer består av sequiterpenener og monoterpenener. Peppermynthe inneholder mye menthol. Sitronolje inneholder mye limonen. Innholdet av essensielle oljer varierer med utviklingsstadiet til plantene.

Sesquiterpenlaktoner finnes i kjertelhår og smaker bittert. Gossypol fra bomull er et sesquiterpendimer. Innen vortemelkfamilien lages det diterpenestere av phorbol som

virker irriterende på huden til mennesker. Diterpenestere av phorbol er vanlig i Euphorbiaceae. Andre eksempler på sesquiterpener er rishitin fra potet og tomat og capsidiol fra pepper.

Triterpener finnes i mange typer og omfatter steroider. Disse omfatter **fytoecdyson** som er steroider som påvirker metamorfosen hos insekter f.eks. fra *Abies balsamea* og *Taxus baccata*. **Limonoider** er sesquiterpener som gir en bitter smak på citrusfrukter. Azadirachtin er et limonoid fra *Azadirachta indica* er et middel som skremmer bort insekter. Triterpener som virker på vertebrater omfatter **hjerterglykosider (cardenolider)** og saponiner. Monarksommerfuglen spiser på *Asclepias*-arter som inneholder cardenolider som akkumuleres i sommerfuglen. Sommerfuglen blir derved giftig for fugl og pattedyr, men giften kommer fra en plante.

Taxol er et triterpen fra *Taxus brevifolia*. Steroidalkoholer (**steroler**) finnes i membranene. Når det skummer rundt munnen på kua når den tygger gras skyldes dette **saponiner** (triterpenglykosider). Saponiner fra *Dioscorea yamogenin* brukes som startmateriale for progesteron i P-piller. Digitalisglykosidene digoxin, bufodieneolid og ouabain virker via reaksjon med Na-K-pumper. Digitoxin bundet til sukker brukes til behandling av hjertesykdom.

"Strømmen av kaprifolieduften er så sterk og enerådene at det er som å bli fanget inn i et garn." Johan Borgen
"Kaprifolium"

Koumariner

Koumariner er laktoner av o-hydroksycinnamat. Koumariner finnes ofte som glykosider i planten. Et vanlig koumarin i planter er umbelliferon (7-hydroksykoumarin). I tillegg forekommer **furanokoumariner** og **pyranokoumariner**. Psoralen er eksempel på et koumarin som er koblet sammen med en furanring, altså et furanokoumarin. I tillegg til å produsere singlett oksygen i fotodynamiske reaksjoner kan furanokoumariner binde seg til cytosin og thymin inne i DNA-heliksen under påvirkning av UV-lys og danne kryssbindinger. Koumariner er ofte giftige. Furanokoumariner er vanlig i skjermplantefamilien. Insekter som lever på slike planter kan unngå noen av gifteffektene ved å leve i sammenrullede blad eller nett som blokkerer for UV-lyset. Duft av høy kan skyldes koumarin. Under dårlige lagringsbetingelser som høy kan koumarin i kløver omdannes til dikoumarol som gir giftvirkning på husdyr som spiser dette.

Fenoler

Fenoler er en meget heterogen gruppe kjemiske forbindelser bestående av minst en aromatisk ring med en hydroksylgruppe. Fenoler lages via to hovedveier:

1) **shikimatveien** som leder til de aromatiske aminosyrene fenylalanin og tyrosin. Ved deaminering av tyrosin får man cinnamat som gir benzosyrer, acetofenoner, lignaner, lignin og coumariner. Cinnamat kommer også fra fenylalanin katalysert av fenylalanin ammonium lyase. Forbindelser bestående av C₆-C₃ kalles fenylpropanoider og er av de viktigste cinnamat-derivatene. Shikimater er forbindelser avledete av fenylpropan. Første trinn i reaksjonen er kondensering av fosfoenolpyruvat (PEP) med erythrose 4-fosfat som gir en C7-forbindelse, 3-deoxy-arabinoheptulosonat-7-fosfat (DAHP). Ringdannelse gir 3-dehydroquinat. **Chorismat** lages fra 3-dehydroshikimat og er et

viktig utgangspunkt for flere forbindelser. Chorismat kan via **prefenat** omdannes til de aromatiske aminosyrene tyrosin og fenylalanin.

Chorismat kan via aminering gi anthranilat og videre tryptofan.

Hydroksylering og dehydrering av chorismat gir iso-chorismat.

Cinnamat kommer fra fenylalanin katalysert av enzymet **fenylalanin ammonium lyase**.

Forbindelser bestående av C₆-C₃ kalles **fenylpropanoider** og er av de viktigste cinnamat-derivatene.

Benzosyrer og avledete forbindelser kan komme direkte fra 3-dehydroshikimat som gallic syre eller fra chorismat som salicylsyre.

2) Den andre veien starter via acetat og leder til β-ketoestere av **polyketider** med variabel lengde, som via ringdannelse kan gi polycykliske forbindelser som kromoner, isokoumariner, orcinoler, depsider, depsidoner, xanthoner og kinoner. Fenolene mangler nitrogen.

Oksidasjon av et fenol (avgir et elektron og proton) gir et fenoksyradikal som blir resonansstabilisert og er meget reaktivt. Fenolene kan også oksideres via dioksygenase som kan gi en åpning av ringen.

Plantene kan akkumulere store mengder shikimat og quinat, opptil 10 % av tørrvekten i tørre blad. Quinat (quinic syre) er ikke direkte involvert i aromatisk aminosyresyntese, men kan tjene som et reservoir for alicykliske syrer. Quinat dannes ved reduksjon av 5-dehydroquinat.

Fenolsyrer

Fenolsyrer har minst en karboksylgruppe og en fenolhydroksylgruppe. Fenolene er derivater av benzosyre og cinnamat. Fenolsyrer som er hydroksylerte derivater av benzosyre forekommer fritt eller som estere eller glykosider. Gallic syre og dens dimer hexahydroksydifensyre er en viktig bestanddel av hydrolyserbare garvestoffer. Det forekommer også aldehyder som vanillin, anisaldehyd og salicaldehyd. Fenolsyrer fra cinnamat, C₆C₃ fenolsyrer som p-koumarinsyre, kaffesyre, ferulinsyre og sinapinsyre er vanlig forekommende i planter. p-koumarinsyre brukes til å lage kaffeinsyre, koumariner og forkomponenter til lignin.

Alkyner

Trippel-karbon-bindinger i substanser er kjent fra familiene Asteraceae, Apiaceae, Araliaceae og Campanulaceae. **Alkyner** eller **polyalkyner** er ofte linære, men kan også være delvis ringer. De kan inneholde en eller flere dobbeltbindinger og oksygen, svovel eller klor inngår i ringen som furan, dihydrofuranon, thiofen, thietanon og dithiacykloheksadien. De fleste alkyner kommer fra linolensyre. Flere av dem er fytotoksiske. Eksempel på plante med giftige polyalkyner er selsnepe (*Cicuta virosa*, Apiaceae) som inneholder cucitoxin, cicutol, falcarindiol og andre C17-isomere polyalkyner. Alle deler av planten er giftig.

Betalainer

Det røde fargestoffet i rødbeter er et **betacyanin** som hører med til gruppen betalainer. Det mest studerte er **betanin** som inneholder sukker og kan hydrolyseres til glukose og **betanidin** som er et indol-derivat som inneholder nitrogen, til forskjell fra anthocyaniner. Betalainer består av røde eller fiolette betacyaniner som finnes som vannløselige glykosider og gulffargede **betaxanthiner** og finnes spesielt i ordenen Caryophyllales. De lages fra aminosyren fenylalanin

Hvorfor krypdyrene forsvant

Mange teorier er blitt lansert hvorfor de fleste krypdyrene forsvant i forhistorisk tid - fra kometnedslag til klimaendringer. Krypdyrene forsvant omtrent samtidig med at angiospermene etablerte seg på jorda. En annen teori er at utryddelsen skyldes at angiospermene plantene inneholdt så mange giftstoffer at krypdyrene døde av forgiftninger. Angiospermene (blomsterplantene) er gjennom evolusjonen generelt mer utviklet med sekundære stoffskifteprodukter enn gymnospermene og karsporeplantene.

Av de nålevende krypdyrene er det få planteetere. Bregnene og snellene som vi har idag er kjent for at hverken dyr eller insekter har interesse av å spise dem. Einstape er eksempel på en bregne som er giftig og forekommer over hele jorda. Den gir B-vitaminmangel hos dyr som spiser den og inneholder også kreftfremkallende stoffer. I tillegg til blåsyreproduserende glykosider, fenoler og insektshormoner er den godt beskyttet.

Grønn lukt av grønne blad

Den grønne lukten av blad skyldes C6-aldehyder og C6-alkoholer bl.a. (2E)-hexenal og (3Z)-hexenol. De lages fra fra den umettede fettsyren linolensyre i membranene når plantevevet skades.

"Det sto en knoppbitter duft av håret hennes, synes han, og hun hadde det samme i hendene, av våt jord og av revne blomsterstikker, av morkne hasselnøtter og av syren fra fjorgammelt eikelauv." Nils Johan Rud "Rugdetrekk i april"

Mat uten stram smak

Når mennesker kultiverer planter velges de som har mild og god smak. Vi planter samme art utover store arealer i monokulturer som gir lett høsting. Denne kombinasjonen av mange like planter uten innholdsstoffer med "stram smak" som kan beskytte plantene mot pest og sykdom gir mange problemer. Vi blir helt avhengig av sprøytemidler for å beskytte kulturplantene våre. Problemet blir større jo lenger sør vi kommer hvor antallet potensielle plantepatogener blir større og vi ikke har noen vinter som kan ta knekken på mange av dem. Dyr og fugler som lever på plantekost får en egen spesiell stram smak. Smaken kommer fra stoffer i plantene. Skutte ryper og storfugl kan av denne grunn henge lenge uten å råtne.

"Lukten av tømmer minner meg om valmuer og korn." Rolf Jacobsen "Tømmer"

Forsvar mot inntrengere

Aktivt forsvar mot bakterier og sopp gir ofte rask død av celler i nærheten av infeksjonsstedet kalt **hypersensitivitetsreaksjon**. Samtidig bygges forsvarsbarrierer: syntese av molekylære antimikrobielle stoffer (fytoaleksiner, fenoler, hydroksyprolinrike glykoproteiner (HPRG) i veggen. **Ekstensin** er en gruppe hydroksyprolinrike glykoproteiner som har en løselig form og en uløselig form som er bundet til celleveggen i en peroksidase/H₂O₂ mediert kryssbinding. Peroksidase finnes bundet til celleveggen og noen deltar i syntesen av lignin. Peroksidase kan binde ferulinsyre til celleveggen. Hypersensitivitets reaksjoner forekommer ved angrep av patogener, som sammen med såringsseffekt leder til en kontrollert celledød med nekrose og hull i blader. Reaksjonene initieres av celleveggfragmenter fra planten eller patogenet (**elicitorer**) som ofte er oligosakkarider eller glykosylproteiner.

De artene som allikevel skader plantene kan slå til raskt eller lure plantenes forsvarsverk ved å hemme dannelsen av signalstoff eller hindre at planten reagerer.

Evolusjonen har utstyrt plantene med et batteri med flere forsvarslinjer. Eksempler på slike er:

1) **Fytoaleksiner**. Fytoaleksiner som er kjent er phaseollin fra bønner, pisatin fra erter, glyceollin fra soyabønne og kløver, rishitin fra potet, gossypol i bomull og capsidiol i pepper. Fytoaleksinene lages som resultat av høymolekylære stoffer fra soppen og plantens cellevegg f.eks. glukaner, kitin, glykoproteiner og polysakkarider. Dannelse av fytoaleksiner i planten kan i visse tilfeller hindres av supressormolekyler som lages av patogenet. Slike supressormolekyler er glukaner, glykoproteiner og toksiner som lages av patogenet. Raser av sopp som er patogener ser ut til å indusere syntese av mindre fytoaleksiner enn ikkepatogene sopp, og patogener sopp er også mindre følsomme for fytoaleksiner.

2) **Proteaseinhibitorer**.

3) **Hypersensitivitetsreaksjon (HR)** hvor celler i nærheten av angrepsstedet begår kollektivt selvmord (**apoptose**) og det blir døde områder i bladene f.eks. hull a la haglskudd i bladene.

4) Syntese av **celleveggforsterkende stoffer**. Stoffer som lages i celleveggen er kallose, glykoproteiner som extensin som er rik på aminosyren hydroksyprolin, fenoler, suberin og lignin. Enzymer som fenylalanin ammonium lyase (PAL) og chalcon synthase (CHS) viktig for syntese av lignin og flavonoider. Det er kjent at PAL aktiviteten øker ved hypersensitivitetsreaksjoner.

5) Produksjon av **reaktive oksygenforbindelser** og aktivering av **lipoksygenase**. Reaktive oksygenforbindelser antas å bli produsert av enzymet **NADPH oksidase** i plasmamembranen. NADPH oksidase katalyserer syntese av superoksidanion fra oksygen. Superoksid dismutase vil overføre superoksidanion til hydrogenperoksid. Aktive oksygenforbindelser som superoksidradikalet og hydrogenperoksid kan brukes til å drepe den patogene organismen. Fagocytter (makrofager) i vår kropp drper

bakterier ved å lage giftige oksygenforbindelser. Makrofagene inneholder NADPH oksidase. I sure lysosomer omdannes superoksid til hydrogen peroksid og singlett oksygen. Klorid og hydrogenperoksid danner hypokloritt (HOCl) katalysert av myeloperoksidase. En av beskyttelsesmekanismene som gule stafylokokker har mot reaktive oksygenforbindelser fra makrofagene er ved å lage karotenoider.

Lipoksygenaseskapt hydroperoksid fra fettsyrer vil i tillegg til ødeleggelse av cellemembran og indukert celledød hos vert og patogen, også bli omdannet til signalmolekyler som jasmonat.

6) Aktivering av **fenoloksidase**. Gir brunfargede produkter. Toksiske fenoler er klorogensyre, kaffeinsyre og ferulinsyre. Toksiske fenoler kan frigis fra fenolglykosider i planten ved at glykosidaser hydrolyserer bindingen mellom fenol og sukker. Polyfenoloksidaser kan oksidere fenoler til kinoner som ofte er mer giftige mot mikroorganismene enn fenolene selv. Peroksidaser kan oksidere fenoler til kinoner samtidig med at det dannes hydrogenperoksid.

7) **Patogeneserelaterte proteiner**. Av gruppen patogeneserelaterte proteiner er dette **β -1,3-glukanase** og **kitinase** som spalter henholdsvis glukaner og kitin i soppveggen; lysozymer, thaumatinlignende proteiner, osmotinlignende proteiner, cystein- og glycinrike proteiner, protease hemmere, proteaser, kitinaser og peroksidaser. Det kan være flere isozymer av de foran nevnte. Både β -1,3-glukanase og kitinase er med og bryter ned veggen hos sopp, mens lysozymer bryter ned glukosamin og maraminsyrekomponenter i celleveggen hos bakterier.

En hypersensitivitetsreaksjon antas å begrense veksten av et patogen og gir planten resistens mot patogenet. Hypersensitivitetsreaksjonen er avslutningsen på en prosesses som starter med at planten kjenner igjen spesifikke patogenproduserte signalmolekyler kalt **elicitorer**. Elicitorerne igangsetter en kaskade av biokjemiske reaksjoner i planten. Det er flere membranrelaterte prosesser som starter i planten ved sykdomsangrep inkludert frigivelse av signalmolekyler fra cellemembranen. Hvis forsvaret er for dårlig invaderes planten. Signalstoffer og proteiner som deltar i forsvarssystemet er salicylsyre, etylen, xylanase, polypeptidet systemin, jasmonat og dessuten flere ukjente stoffer. Jasmonat er et signalstoff som gir en rekke effekter på planter: systemisk ervervet resistens (systemisk=gjennom blad og røtter), fremskynder aldring, avkastning av blader, rotdannelse, krølling av slyngtråd, etylensyntese. Uttrykk av flere gener påvirkes av jasmonat: proteinase inhibitorer, lagringsprotein gener i soyabønner. Salicylsyre kan gi økt syntese av PR-proteiner og deltar i opparbeidelsen av systemervervet resistens.

Hos mennesker og dyr kan forsvaret mot patogener aktiveres ved naturlige og kunstige immuniseringsprosesser ved at det produseres antistoffer mot et patogen.

Kommunikasjon innen og mellom planter

Historien om kommunikasjon mellom planter når det gjelder forsvar mot sykdomsfremkallende organismer startet for ca. 30 år siden i 1962 hvor amerikaneren Clarence A. Ryan og medarbeidere krystalliserte og isolerte to **proteaseinhibitor** (proteinaseinhibitor), inhibitor I og II. For at protein skal utnyttes som mat må det fordøyes via proteaser slik at det blir delt opp til sine aminosyrer. Protease inhibitorer hemmer disse

proteasene bl.a. trypsin og chymotrypsin. Dette gir redusert utnyttelse av proteinet og samtidig reduseres matlysten. Proteaseinhibitorer påvirker sekresjon, mengde og aktiviteten til proteaser.

Ti år seinere mente man at proteaseinhibitorer kunne delta i forsvar mot insekter. Potet og tomatplanter som ble angrepet av Coloradobiller fikk økt mengde protease inhibitorer, ikke bare i de bladene som ble angrepet men også i resten av planten. Store mekaniske skader på bladene kunne også gi syntese av protease inhibitorer. Transportsignalet som startet syntesen av proteaseinhibitorer i andre deler av planten ble kalt PIIF (protease inhibitor induerende faktor). Det viste seg også at bruken av protease inhibitorer også var utbredt hos andre planter. Det har vært mange kandidater til hva stoffet PIIF kunne være: 1) Oligouronider fra cellenes vegger; 2) kitin og kitosan fra soppvegger; 3) polypeptidet systemin som består av 18 aminosyrer fra tomat (Fra 30 kg tomatblad ble det isolert 1 µg systemin); 4) metyljasmonat (metyljasmonsyre er etflyktig stoff og en bestanddel i luften av sjasmin og fra frukt. Stoffet har vært brukt av parfymeindustrien); 5) jasmonat; 6) abscisinsyre, og 7) salicylsyre.

I 1978 mente man PIIF var løselige pektinfragmenter, uronider og oligouronider. På samme tiden fant Albersheim og medarbeidere at uronider kunne forårsake syntese av antibiotiske lavmolekylære stoffer i planten kalt **fytoaleksiner**.

Hvis metyljasmonsyre ble plassert et stykke unna en tomatplante ble det laget proteaseinhibitorer i større mengder enn det som ble laget ved mekanisk skade. (rive i blad/ tygge). Det ble også laget jasmonsyre som ikke er flyktig.

Artemisia tridentata (sagebrush) plassert i et kammer sammen med en tomatplante ga produksjon av proteaseinhibitorer i tomatplanten. Den aktive komponenten, bestanddelen viste seg å være metyljasmonsyre. Noen insekter kan også lage metyljasmonat. Flyktige stoffer er en viktig kommunikasjonslinje mellom planter seg imellom og planter-dyr/insekter.

Sprayer planter med abscisinsyre (ABA) lages også proteaseinhibitorer. ABA lages under tørkestress og ABA kan gi økt lipaseaktivitet som igjen gir fettsyrer bl.a. linolensyre som er utgangspunktet for å lage jasmonsyre (umettet fettsyre). En biosyntesevei som ligner på prostaglandiner (et viktig signalstoff i pattedyr). Peroksidering av fettsyren skjer via en lipoksygenase. Duftstoffer må ha en receptor.

I Nature i 1992 ble det publisert et arbeid som viste at det kunne være et elektrisk signal som ble transportert med hastighet 1-4 mm s⁻¹ som var koblet til forsvarsmekanismen i planten. Det elektriske signalet kom uavhengig av floemtransporten som kunne ha vært en mulig årsak. Det var et aksjonspotensial som minner om overføring av nerveimpulser (elektrisk potensialvariasjon som registreres av nerve og muskelceller, og som skyldes Na-kanaler). Dette gir en celle til celle overføring. Cellene henger sammen via cytoplasmastrenger (plasmodesmata).

Respons etter soppangrep

Følgende er eksempler på responser i planten etter et soppangrep:

- ☞ Økt aktivitet av enzymer som deltar i syntesen av fenypropanoider.
- ☞ Økt syntese av lignin, OH-prolin-rike glykoproteiner (HPRGP) og fenoler i celleveggen.
- ☞ Økt syntese av protease inhibitorer.
- ☞ Økt syntese av patogenese relaterte proteiner (PR-proteiner) som β-1,3- glukanase og kitinase.
- ☞ Økt syntese av fytoaleksiner (lavmolekylære antimikrobielle stoffer).
- ☞ Økt syntese av etylen og etan.
- ☞ Økt syntese av jasmonat, metyljasmonat og salicylat.
- ☞ Økt syntese av thioniner (cystein-rike polypeptider)

Plantene kan også unngå patogener ved at de har ungt vev som er vanskeligere å infektare enn gammelt, ligge skjult under annen vegetasjon, åpne spalteåpningene først når det blir tørt været slik at soppsporene tørker ut. Tørt vær og tørr jord gir mindre sopp, men det blir mindre potetskurv forårsaket av *Streptomyces scabies* hvis plantene har god vanntilgang og lite tørkestress. Potetskurv kan unngås hvis jorda er sur. Klumprot hos korsblomster trives ikke hvis pH er høy. Alt dette er unngå patogenet strategier. Siden sopp og planter har levet sammen i millioner av år har det utviklet seg en dynamisk likevekt mellom resistens og virulens slik at både vert og patogen overlever

i lange tidsperioder. En trinnvis evolusjon forklares ut fra gen for gen begrep, slik at for hvert gen som gir patogenet virulens er det et gen som gir verten resistens og vice versa. Ofte er allelet for resistens dominant og allelet for sykdomsfølsomhet er recessivt.

Sopp som *Rhizoctonia* trenger en vekstfaktor fra planten for å lage en hyfepute som er nødvendig for at soppen skal kunne treng inn i planten. *Venturia inaequalis* som gir epleskurv trenger aminosyren arginin fra planten

Klima

Kreftsykdom på flerårige trær (*Nectria*, *Leucostoma*, *Phytophthora* og bakterier som *Pseudomonas*) trives best høst og vår hvor vertens forsvar ikke er optimalt pga.. lavere temperatur. Snømugg på gressplen og korn (*Typula* og *Fusarium*) trives best i kaldt vær. Tørråte er et problem på nordlige breddegrader, og i tropene bare om vinteren. Noen sopp utvikler seg best i høy temperatur. Brunråte på frukt (*Monilinia fructicola*) trives best ved høyere temperatur. *Fusarium*-sopp, antraknoser forårsaket av *Colletotrichum* og bakteriell tørke på arter i søtvierfamilien (*Pseudomonas solanacearum*) trives best ved høy temperatur. Temperaturen påvirker også antall infeksjonssykluser og derav mengden av infeksjon.

Fuktighet er nødvendig for at soppsporene skal spire. Påvirker også frigivelse av sporer. Epleskurv trenger mye nedbør på blad og frukt. Tørråte og melduggsopp trenger også høy luftfuktighet. Potetskurv (*Streptomyces scabies*) trives ikke under pH 5.2. Klumprot trives best ved pH 5.7

Lipid og peptid baserte signaler

Forkomponenten for jasmonat er linolensyre(C18:3). Det finnes omtrent ikke frie fettsyrer i cytoplasma slik at første trinn i syntesen av jasmonater blir frigivelse av linolensyre fra fett vha.. fosfolipase A₂. Fettsyrer som inneholder en *cis-cis*-1,4-pentadien struktur kan fungere som substrat for lipoksygenase. I syntesen av jasmonat vil en 13-lipoksygenase putte inn oksygen i 13-posisjon i linolensyre og gir produktet 13(S)-hydroperoksylinolensyre. Lipoksygenaser finnes i hele planten, og frø er spesielt rike på lipoksygenaser. Hydroperoksid cyklase gir 12-okso-fytodiensyre. Både jasmonat og metyljasmonat hemmer spiring og vekst.

Aldring og stress

Aldring gir redusert anabolsk og metabolsk aktivitet og økt følsomhet for abiotiske stress. Hos ettårige planter starter aldring etter blomstring, og i blad hos løvfellende trær på ettersommeren. Gjennom hele plantens livssyklus er det celler som eldes og dør. Regulering av aldring er strykt av genprogram.

Stress (l. *stringere* - skyvekraft) er avvik fra optimale livsbetingelser. Fysikerne bruker stress om tensjon (drag) med dimensjon pascal (Pa) skapt av en ytre kraft (N). Utvidelse ved endring i lengde eller sammenpressing gir en strain. Tenson/strain= elastisk modulus. Elastiske egenskaper er reversible, mens plastiske egenskaper gir irreversible endringer.

Det kan defineres en **stressfaktor** som gir en **stressrespons** og ofte utvikles et

stressyndrom. Stressresponsen kan være spesifikk eller uspesifikk. Stresset kan omgås ved **stresstoleranse** eller ved **stressadapsjon** via herding. Det er faser i en stressreaksjon. Først er den en **alarmfase** som setter i gang en **stressreaksjon**. Deretter følger en **restitusjonsfase** og **herdingsfase** og det skjer en adapsjon til stresset.

Eksempler på **abiotiske stress**:

- ☞ Elektromagnetisk stråling (mye eller lite lys, UV).
- ☞ Temperatur (høy eller lav temperatur, brann).
- ☞ Vann (tørke, oversvømmelse).
- ☞ Grunnstoffer (mangel, saltoverskudd, surt, basisk).
- ☞ Andre (vind, solifluksjon, snø, is, nedgroing).
- ☞ Antropogene (agrokjemikalier, forurensning, jordsammenpressing, radioaktivitet).

Eksempler på **biotiske stress**:

- ☞ Andre organismer (sopp, bakterier, virus, beiting, tråkk, tett plantebestand, allelopati).

Klorofyllfluorescens som mål på stress

Idag finnes det instrumenter som måler **klorofyllfluorescens** *in vivo* innen stressfysiologi.

Fluorescens er utsendelse av et lyskvant fra et eksitert molekyl. Fotosystem II er hovedkilden for fluorescens ved romtemperatur.

Eksitasjonsenergi som kommer fra til reaksjonsenterklorofyll P680 i fotosystem II kan:

- ☞ initiere donering av elektroner
- ☞ omdannes til varme
- ☞ gå tilbake til antennene og avgis som fluorescens

Den første stabile elektronakseptoren i fotosystem II er Q_A . Fluorescens avhenger av i hvilken grad Q_A er redusert. Når Q_A er oksidert kan det motta elektroner fra reaksjonsenterklorofyll P680. Når Q_A er redusert øker fluorescensen. Q_A holdes oksidert ved at det kontinuerlig overføres elektroner videre til NADP og CO_2 . Hvis man har sprøytet planter med et ugrasmiddel av typen ureaherbicid, f.eks. Diuron®, så kan ikke elektroner passere fra Q_A til Q_B og fluorescensen øker raskere. **Fotokjemisk quenching** (qP) skyldes minskning i fluorescens som resultat av elektrontransport fra Q_A . **Ikke-fotokjemisk quenching** (qN) er relatert til protongradienten over thylakoidmembranen og gir et tilbakekoblingstrykk på elektrontransporten. Det skjer da en dissipering av energi fra fluorescens til termiske kanaler (varme). Varme og energi til fotosyntesen er relatert til qN. qN er også relatert til plastoquinon-nivå og fosforylering av det lyshøstende klorofyllkompleks LHCII. Det viser seg at elektrontransporten i fotosyntesen går raskere hvis den frakobles H^+ -gradienten. Hvis det er nok ADP og P_i vil H^+ -gradienten utlades via ATP-syntese.

Det elektriske feltet over thylakoidmembranen er en del av den protondrivende kraft og utvikles i løpet av sekunder.

I følge **Franck-Codon-prinsippet** er absorpsjonen og emisjonen av lyskvantet meget rask sammenlignet med hastigheten til molekylære vibrasjoner. Energien kan overføres fra et eksitert pigment til det neste ved **induktiv resonans**. Dette forutsetter tilstrekkelig

nærhet mellom molekylene, og gunstig orientering. Fluorescensspekteret til det eksiterte molekylet må dekke absorpsjonsspekteret til mottagermolekylet hvis energioverføringen skal være effektiv.

Stokes skift vil si at overføringen av energi skjer mot økende bølgelengder dvs. det lyset som absorberes sendes ut igjen ved ca. 25 nm lenger bølgelengde.

Kloroplaster ved romtemperatur belyst ved 435 nm fluorescerer ved en topp ved 685 nm, en skulder ved 695 nm og en bred topp ved 720-740 nm. Man får lite fluorescens fra lyshøstende klorofyllkompleks II når det er bundet til fotosystem II.

Hva fluorescensen fra planter betyr har utviklet seg fra oppdagelsen av **Kautsky-effekten** (1931) via instrumentering og metodologi utviklet av Schreiber, Ögren og Krause.

Fluorescensen kan angis som:

$$Fluorescens = I \cdot a \cdot k \frac{fluorescens}{fluorescens + varme + energi\ til\ PSI + fotokjemi}$$

I- absorbert lysfluks; k- konstant; a- andel av lyset som absorberes av klorofyll a i fotosystem II.

Et lyskvant absorberes i antennekomplekset til fotosystem II og danner et **eksiton** som med induktiv resonans kan overføres fra molekyl til molekyl. Energien kan avgis som:

☞ **minimum fluorescens** (F_0): Når alle reaksjonssentrene i fotosystem II er åpne og primære elektronakseptor Q_A er oksidert.

☞ varme

☞ til reaksjonssenteret

☞ energioverføring

☞ **maksimal fluorescens** (F_m): når alle reaksjonssentrene i fotosystem II er lukket og Q_A er redusert

Variabel fluorescens (F_v) er forskjellen mellom F_m og F_0 .

Fluorescens induksjonskinetikk (Kautsky-effekt)

Hvis et blad er blitt holdt i mørke ca. 30 minutter eller lenger og så belyses med sterkt lys vil fluorescensen øke i løpet av millisekunder til en topp for deretter å minske til en steady-state verdi. Kurven får en form O-I-D (rask kinetikk ca. 2 sekunder) og P-S-M-T (sakte kinetikk opptil 4 minutter). Man antar at kurveforløpet skyldes følgende:

O- nullnivå: Fra eksiterte klorofyll i antennene til fotosystem II før eksitonet når reaksjonssenteret. Alt Q_A er oksidert.

I- infleksjon: Q_A antas å være i likevekt med plastoquinon og endringene i fluorescens ved I og D (dip) antas å skyldes ubalanse mellom reduksjon og reoksidasjon av Q_A . Fra 0 til I er reduksjonen dominerende.

P- peak (topp): Maksimal fluorescens i sterkt lys. Fordholdet F_v/F_0 er fra 4-6.

S- semistabilt

M- sekundært maksimum

T- terminal.

Figuren er komplisert og kan skyldes en variabel fluorescens som ligger på en konstant bakgrunnsfluorescens.

O er startpunktet hvor den variable fluorescensen starter å øke. Det er en dump ved **D** og en topp ved P. Vi får høy fluorescens når alle Q_A er redusert. Hvor P blir avhenger av lysintensiteten og ved hvilken lysintensitet plantene har vokst ved. Når Q_A reksideres minsker fluorescensen (quenching).

PAM- fluorimeter (Pulse amplitude modulation)

PAM-fluorimeteret er utviklet av Schreiber og gir måleverdier for **bakgrunnsfluorescens** (F_0), **maksimal fluorescens** (F_m) (ved bruk av en mettende lyspuls), **fotokjemisk quenching** ($qQ = qP$) og **ikke-fotokjemisk quenching** ($qE = qnP = qN$) under både fluorescensinduksjonskinetikk og steady-state fluorescens. Prinsippet for modulerte systemer er at meget svakt lys ($1-5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) skrur raskt av og på (modulert). Dette er så lite lys at det ikke kan drive elektrontransport og F_0 kan derved bestemmes. Målesystemet måler bare fluorescensen som kommer fra det modulerte eksiterende lyset. F_m måles under et kort lysglimt, stort nok til å lukke alle reaksjonssentrene for et kort øyeblikk.

qP er fotokjemisk quenching som gir et mål på undertrykking av fluorescensen forårsaket av CO_2 fiksering, fotorespirasjon etc., altså prosesser som bruker ATP/NADPH

qN er ikke-fotokjemisk quenching og angir termisk dissipering av energi i antennekomplekset eller i reaksjonssenteret selv. Økning i qN gir minskning i F_v/F_m . qN og qP har et inverst forhold til fluorescens slik at fluorescensen minsker når quenchingen øker.

qN øker under stress, tørke og ved bruk av ugrasmidler, mens qP påvirkes lite. F_m bestemmes når en mørkeadaptert plante får en mettende lyspuls.

F_v , den variable fluorescensen og fluorescensintensiteten ved aktinisk lys faller raskt under den maksimale $(F_v)_m$.

$(F_v)_s$ er fluorescensen når systemet er mettet med lys og all qP er fjernet og bare qN er tilbake.

Fotokjemisk quenching qP angir den delen av eksitasjonsenergien som fanges i åpent reaksjonssenter. Fotokjemisk quenching gir uttrykk for undertrykking av fluorescens som følge av CO_2 -fiksering og fotorespirasjon og andre prosesser som bruker ATP og NADPH.

Ikke-fotokjemisk quenching qN er termisk dissipering av energi i antennekomplekset eller reaksjonssenteret selv. En økning i ikke-fotokjemisk quenching minsker F_v/F_m -forholdet og energien fjernes som varme.

qN er lineært relatert til intrathylakoid protonkonsentrasjon.

Forholdet F_v/F_m er direkte proporsjonalt med kvanteutbytte til fotosyntesen og er en indikator på ødeleggelsen av fotosystem II. F_v/F_m er maksimalt 0.832 ± 0.004 .

Kvanteutbytte til fotosystem II (Φ) er

$$\Phi = \frac{F_v}{F_m} q_p$$

Fotoinhibering gir redusert verdi på forholdet F_v/F_m .

Thylakoidmembranene, spesielt fotosystem II er følsomme for stress og derfor er fluorescensmålinger viktige ifm studier av effekten av høy temperatur, kjøleskader, frost, tørke og fotoinhibering i planter.

Ved en mettepuls med lys (f.eks. PPFD 7500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ i 700 msek.) blir alle PSII-reaksjonsentrene lukket og qP blir 0 og $0 < qN < 1$. Når Q_A er oksidert er $qP=1$. Målelyset er svakt (ca. 1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

$$qP = \frac{(F_v)_{M'} - F_v(t)}{(F_v)_{M'}} = 1 - \frac{F_v(t)}{(F_v)_{M'}}$$

$(F_v)_{M'}$ er intermedier maksimal fluorescens.

$F_v(t)$ er variabel fluorescens ved tid t .

$0 < qP < 1$

$$qN = \frac{(F_v)_M - (F_v)_{M'}}{(F_v)_M} = 1 - \frac{(F_v)_{M'}}{(F_v)_M}$$

Når det aktiniske lyset slås av beregnes en ny F_o'

$$F_{M'} - F_{o'} = (F_v)_{M'} = F_v(t) qP \cdot (F_v)_{M'}$$

$$(F_v)_{M'} = (F_v)_M - qN \cdot (F_v)_M$$

Interaksjoner mellom organismer

Det finnes en rekke eksempler på kjemisk kommunikasjon mellom organismer. Stoffet acetosyringon utskilt fra planter vil starte induksjonen av virulensgener fra bakterien *Agrobacterium tumefaciens* som lager krongalle på planter. Flavonoider f.eks. luteolin utskilt fra visse typer erteplanter vil starte induksjonen av noduleringsgenene hos bakterien *Rhizobium* og derved gi nitrogenfikserende knoller på røttene til planten.