ANADOLU ÜNİVERSİTESİ BİLİM VE TEKNOLOJİ DERGİSİ
ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
Cilt/Vol.:8-Sayı/No: 2 : 313-323 (2007)

DERLEME / **REVIEW**

BİTKİLERDE MİROSİNAZ GLİKOSİNOLAT SİSTEMİ

Özden ÖZKUR[1], Melike BOR[2], Filiz ÖZDEMİR[3]

ÖZ

Bitki ikincil metabolizması çeşitli bileşiklerin, enzimlerin, enzim ve metabolit taşınımının ve gen kontrol mekanizmasının önemli bir kısmını oluşturur. Bitki tarafından üretilen ikincil metabolitler arasında, glikosinolatlar ve onların mirosinaz enzimi tarafından katalizlenmeleri sonucu ortaya çıkan parçalanma ürünleri önemli bir yere sahiptir. Glikosinolatlar, çeşitli miktarlarda ve oranlarda farklı bitkilerin tohumlarında, köklerinde, gövdelerinde ve yapraklarında bulunan tiyoglikosidik bileşiklerdir. Zarar görmemiş glikosinolatlar toksik değildir, fakat bitki her hangi bir dışsal saldırıya maruz kaldığında mirosinaz enzimi ile etkileşime girerek parçalanırlar ve izotiyosiyonat, nitril, tiyosiyonat iyonu ve epitiyonitril gibi ikincil metabolitleri meydana getirirler. Oluşan bu ürünler memeliler, böcekler ve mikrobiyal patojenler üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bu etkiler daha çok bu ürünlerin pozitif ve negatif karakterleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Glikosinolat parçalanma ürünlerinin bir çoğu, biyosidal aktiviteye, tümor engelleyici aktiviteye ve kanser önleyici özelliğe sahiptir.

Anahtar Kelimeler: İzotiyosiyonat, İkincil metabolit, Tiyoglikosidik bileşikler, Aglukon.

MYROSINASE GLUCOSINOLATE SYSTEM IN PLANTS

ABSTRACT

Plant secondary metabolism constitutes the formation of various compounds, enzymes, enzyme and metabolite transport and gene regulation. Among the secondary plant metabolites glucosinolates and their hydrolize products which are decomposed by myrosinase enzyme take an important part. Glucosinolates are thioglycosidic compounds which are found in several forms, quantities and levels in seeds, roots, stems and leaves of different plants. Intact glucosinolates are non-toxic compounds however, under different attacks these compounds contact with myrosinase enzyme which leads to the formation of secondary metabolites like isothiocyanate, nitrile, thiocyanate and epithionitrile. These products had important effects on mammals, insects and microbial pathogens. These effects take attention because of their negative and positive characteristics. Most of the glucosinolate hydrolyze products have biocidial actvitiy, tumor supressor activity and cancer preventing property.

Key Words: Isothiocyanates, Secondary metabolites, Thioglucoside compounds, Aglucone.

[1,] Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir.
[2,] Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir.
[3,] Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir.

Geliş:29 Kasım 2006; **Düzeltme:** 22 Mayıs 2007; **Kabul:**13 Kasım 2007

1. GİRİŞ

Bitki birincil metabolitleri, bitki yaşamı için gereklidir ve birincil metabolizma ile meydana gelirler. Bitkiler bu yolla şekerler, amino asitler ve nükleotidler üretirler. Bu basit moleküller, bitkilerin gerekli olan daha kompleks bileşikleri üretmesi için kullanılır. Bitki biyokimyasındaki bu yol, daha kompleks bileşiklerin sentezi için kullanılan yoldan farklıdır.

Bitki ikincil metabolitleri ise bitkilere özeldir ve genellikle besin, lezzet arttırıcı, renk değiştirici, zehir, parfüm, aromaterapideki koku yağları, yağ ve kauçuk gibi endüstriyel ürünlerin bitki tarafından üretiminde kullanılır. Bu nedenle ekonomik olarak önemli kaynaklardır. Aynı zamanda hastalık ve zararlılara karşı direnç gibi bitkilerin önemli özellikleri de bitki ikincil metabolitleri ile ilişkilidir. Görüldüğü gibi bitki ikincil bileşiklerinin geniş bir kullanım alanı vardır. Bitki ikincil metabolitlerinin bitkilerde büyüme ve gelişmeye doğrudan etkileri yoktur. Son yıllarda gerçekleştirilen çok disiplinli çalışmalar, bitkiler ve çevreleri arasındaki iletişimde temel bir role sahip olan ikincil metabolitlerin biyolojik fonksiyonlarını aydınlatmaya yöneliktir (Rohlo ve Bones, 2005). Çok uzun süredir kullanılmakta olan ve daha önceleri atık ürün olarak düşünülen ikincil metabolitlerin, yapılan bu çalışmalar sonucunda çeşitli fonksiyonları ortaya çıkartılmıştır.

Glikosinolatların, mirosinaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan parçalanma ürünleri, bitki ikincil metabolizması ile üretilen metabolitler arasında önemli bir yere sahiptir. Mirosinaz enzimi ve glikosinolatın meydana getirdiği mirosinaz-glikosinolat sistemi; bitkilerde, mantarlarda ve herbivor böceklerde bulunan ve bir çok biyolojik aktiviteyi etkileyen metabolik bir yoldur. Mirosinaz-glikosinolat sisteminde, mirosinaz enzimi aracılığıyla glikosinolat parçalanma ürünlerinden olan izotiyosiyanat, nitril, tiyosiyonat iyonu ve epitiyonitril gibi maddeler bitkilerde, herbivor böceklere ve fitopatojenlere karşı savunma mekanizmalarında, büyümenin düzenlenmesinde, azot ve kükürt metabolizmasında önemli role sahiptir (Bones ve Rositter, 1996).

Mirosinaz ve glikosinolatlar, ilk kez 1840 yılında Bussy tarafından hardal tohumlarında keşfedilmiştir (Bones ve Rossiter, 1996). Daha sonra yapılan çalışmalarda, 16 bitki ailesinden alınan materyallerde 120 glikosinolat tanımlanmıştır (Fahey vd., 2001) ve bunların 30'dan fazlası *Arabidopsis thaliana*'da belirlenmiştir (Kliebenstein vd., 2001; Reichelt vd., 2002; Brown vd., 2003). Glikosinolat içeren diğer familyalar ise *Akaniaceae, Arabidaceae, Bataceae, Brassicaceae, Capparaceae, Caricaceae, Euphor-biaceae, Resedaceae* ve *Tropaeolaceae* olarak tespit edilmiştir (Rodman, 1991; Wallsgrove vd., 1998).

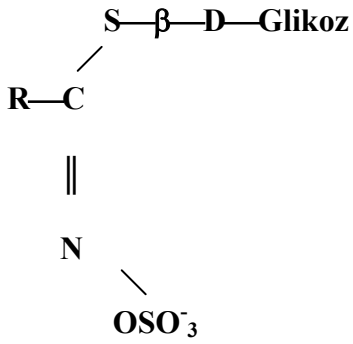
Glikosinolatlar, glikoz ve kükürt içeren organik anyonlardır (Van Etten ve Tookey, 1983). Hardal yağı glikosidleri olarak da bilinen glikosinolatlar, *Capparales (Brassicales)* ordosu için karakteristiktirler ve bu ordoda hem tür içi hem de türler arası varyasyonlar gösterirler (Windsor vd., 2005). Glikosinolatlar çoğunlukla *Brassicaceae* familya üyelerinde bulunurlar (Kjaer ve Schuster, 1972; Kjaer, 1976; Doughty vd., 1991; Rodman vd., 1996, 1998; Raybould ve Moyes, 2001; Fahey vd., 2001; Tokuhisa vd., 2004). *Brassicaceae* (*Cruciferaceae*) familyası genel olarak, brokoli (*Brassica oleracea* L var *italica*), Brüksel lahanası (*B. oleracea* var *gemmifera*), lahana (*B. oleracea* var *capitata*), karnabahar (*B. oleracea* var *botrytis*) ve kıvırcık lahana (*B. oleracea* var *acephala*) gibi tükettiğimiz bir çok sebzeyi içermektedir (Oerlemans vd., 2004). Bu sebzelerde üç temel glikosinolat tipine ait yedi farklı glikosinolat tanımlanmıştır. Bunlar; metilsülfinilalkil glikosino-latlar (glikoiberin, glikoraphanin ve glikoalyssin), olefinik glikosinolatlar (sinigrin, glikonapin ve progoitrin) ve aromatik glikosinolatlar (glikonasturtin) olarak gruplandırılırlar (Fenwick vd., 1983; Fahey, 2001; Song, 2005). *Cruciferaceae* sebzelerinde bulunan temel glikosinolatlar ve hidroliz ürünleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu bileşikler bitki türlerine göre çeşitlilik gösterirler ve herbivor böceklerin tüketecekleri bitki-lerin seçimine etki ederler (Lambrix vd., 2001; Kroy-mann vd., 2003).

Tablo 1. *Cruciferaceae* sebzelerinde bulunan temel glikosinolatlar ve hidroliz ürünleri (Keck ve Finley, 2004).

Glikosinolat Türü	Doğal Olarak Sentezleyen Bitkiler	Hidroliz Ürünleri	
Glikoraphanin	Brokoli	Sülforaphan	Sülforaphan
Glikonasturtin	Çin lahanası, radika ve su teresi	Feniletil izotiyosiyanat	nitril
Sinigrin	Bürüksel lahanası, lahana ve karnabahar	Alil izotiyosiyanat	
Glikobrassicin	Tüm Cruciferlerde	İndol-3-karbinol	
Progoitrin	Crambe (yağ tohumu)	Crambene	

2. GLİKOSİNOLATLARIN SENTEZİ

Tüm glikosinolatlar *β*-D-tiyoglikoz grubuna bağlı sülfatlanmış bir aldoksim kısmı ve amino asitlerden türevlenen değişebilir yan zincirden oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Glikosinolat molekülünün yapısı. R; değişebilir yan zinciri ifade etmektedir (Mithen, 2001).

Genellikle alifatik, aromatik ve indol gliko-sinolatlar olarak üç grup altında toplanırlar. Bu grup-ların temelini amino asit farklılığı oluşturur; alifatik amino asitler (metiyonin, alanin, valin, lösin, izolösin), aromatik amino asitler (tirozin, fenilalanin) veya triptofan olmasına göre farklı grup glikosinolatlar sentezlenir. Glikosinolatların yapısal farklılığı, gliko-sinolatın temel yapısı oluşmadan önce amino asitlerin zincir uzaması ve glikosinolat yan zincirinde (örneğin tiyol oksidasyonu, desatürasyon, hidrok-silasyon, esterifikasyon) ve glikoz kısmında (örneğin esterifikasyon) meydana gelen ikincil modifikasyonlar ile ortaya çıkmaktadır (Wittstock ve Halkier, 2002). Ürünlerde çeşitliliği sağlayan bu modifikasyonlar sonucu oluşan kimyasal yapı, glikosinolat parçalanma ürünlerinin gerçekleştireceği biyolojik aktiviteler için önemlidir. Yan zincir yapısında meydana gelen küçük değişiklikler önemli metabolik aktivitelere sahip olabilir (Mithen, 2001).

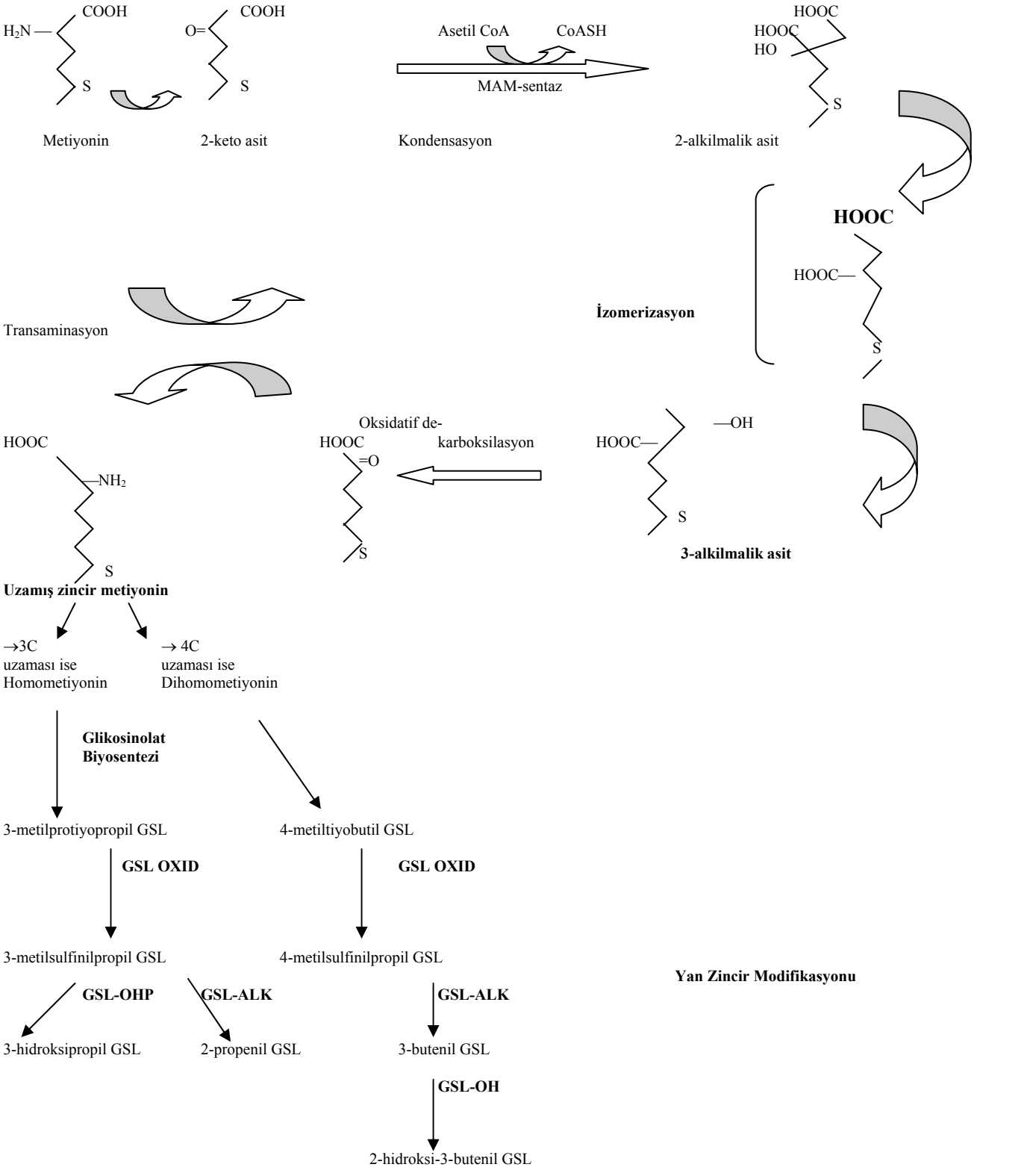
Glikosinolatların kimyasal sentezi ilk olarak 1957 yılında Ettlinger ve Lundeen tarafından açıklanmıştır (Rask vd., 2000). Glikosinolatlar alanin, lösin, izolösin, valin, tirozin, fenilalanin ve triptofan amino asitlerinden türevlenirler (Mikkelsen ve Halkier, 2003). Glikosinolat biyosentezi, birbirinden bağımsız üç temel basamağı kapsamaktadır. Birinci basamakta bazı amino asitler, metiyonin ve fenilalanin gibi, bir yada daha fazla metil grubu ile uzarlar ve sentezde genel bir ara ürün olarak bilinen aldoksime dönüşürler (Şekil 2). Burada dönüşüm sitokrom P450'ye bağlı monooksigenazlar, flavin içeren monooksigenazlar, plazma membranı peroksidazları tarafından gerçekleştirilir (Chen ve Andreasson, 2001). Oksimlerin temel glikosinolatlara dönüşüm metabolizması henüz çok iyi açıklanamamıştır (Halkier, 1999). İkinci basamakta öncül amino asitler temel glikosinolatlara dönüşürler. Burada oksimlerin glutatyon-*S*-transferaz aracılığı ile oksidasyonu sonucu azinik asit oluşur. Bu bileşiğin bir tiyol donörü olan sistein ile birleşmesiyle *S*-alkiltiyohidroksimat oluşur (Ettlinger ve Kjaer, 1968). Bu reaksiyonun glutatyon-*S*-transferaz benzeri enzimler tarafından katalizlendiği düşünülmektedir. *S*-alkiltiyohidroksimat CS-liyaz tarafından tiyohidroksimat'a dönüştürülür (Kiddle vd., 1999). Tiyohidroksimat, Çözünebilen Tiyohidroksimat Glikoziltransferaz (S-GT) tarafından glikolizlenerek desülfoglikosinolatı oluşturur (Halkier, 1999; Mithen, 2001). S-GT glikosinolat üreten tüm *Crucifer'*lerde bulunmasına karşın, glikosinolat içermeyen bitkilerde saptanmamıştır (Groot-Wassink vd., 1997; Chen, 2001). Son basamakta ise desülfoglikosinolatın çözünür 3'-fosfoadenozin 5'-fosfosülfat: desülfoglikosinolat sülfotransferaz (PAPS) tarafından sülfatlanmasıyla glikosinolat sentezi gerçekleşir (Halkier and Du, 1997). Oluşan temel glikosinolatlar ikincil modifikasyonlar geçirerek çeşitlenirler. Bu basamaklar sekans analizleri ile açıklanmıştır (Greaser vd., 2001). Genetik çalışmalar temel alınarak, alifatik glikosinolatların yan zincirleriyle ilgili bir model geliştirilmiştir (Şekil 2). Alifatik yan zincir yapılarında çok büyük çeşitlilik görülmesine rağmen, bu çalışmalar bu çeşitliliğin sadece üç temel lokustaki (Gsl-oxid, Gsl-alk, Gsl-oh) genetik varyasyon nedeniyle meydana geldiğini göstermektedir. Glikon oluşumundan sonraki başlangıç ürünlerinin metiltiyoalkil glikosinolat olması kuvvetle olasıdır. Gsl-oxid lokusundaki alleller, metilsülfinilalkil ve metilsülfonilalkil yan zincirlerine metil grubu oksidasyonunu sağlarlar. Gsl-alk lokusu metiltiyo grubunun uzaklaştırılması ile alkanil homologunun üretimini sağlar. Gsl-oh lokusu alkanilglikosinolat'ın hidroksilasyonunu kontrol eder (propeil-glikosinolatlar hariç). Üç lokustaki allellerin çoğu yaz zincir uzaması için özeldir. Gsl-elong allelleri ile kombinasyon içinde olan bu alleller glikosinolat çeşitliliğini meydana getirirler (Halkier and Du, 1997). Glikosinolat yan zincir modifikasyonlarının önemi, bu modifikasyonların glikosinolat parçalanma ürünlerinin fizikokimyasal özelliklerini ve biyosidal aktivitelerini etkilemesinden ileri gelmektedir (Wittstock ve Halkier, 2002).

Bitkide meydana gelen glikosinolat miktarları türe, doku tipine (örneğin çiçek, gövde, tohum), fizyolojik yaşa, mevsime, yetiştiği iklime ve bitki sağlığına bağlı olarak değişiklik gösterir (Rosa ve Rodrigues, 2001; Rangkadilok vd., 2002). Genellikle tohumlarda; yaprak, gövde ve köke göre miktarları daha fazladır (Trenerry vd., 2005). Genel olarak incelendiğinde glikosinolat konsantrasyonu üreme dokularında (çiçekler ve tohumlar), vejetatif dokulara göre 10-40 kat daha yüksek olduğu görülmektedir (Bennett vd., 2004).

Genotip ve mevsimin birlikte oluşturduğu etki genel olarak glikosinolat seviyesini değiştirir. (Agerbirk, 2001; Vallejo, 2003). Alifatik glikosinolatlar genotipten etkilenirler, fakat mevsimden etkilenmezler. İndol glikosinolatlar önemli şekilde genotip ve mevsimden etkilenirler ve genellikle ilkbaharda, sonbahara göre daha fazla bulunurlar. Glikosinolat miktarındaki bu değişimlerin bilinmesi, *Brassica* ürünlerinin kanser önleyici özellikleri ve zararlı kontrolünde glikosinolat miktarının belirlenmesi açısından mirosinaz-glikosinolat sistemini açıklanmasını gerektirmektedir (Charron vd., 2005).

3. MİROSİNAZ ENZİMİNİN SENTEZİ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Mirosinazlar, optimum pH 4 ve 7 arasında çözünen glikopolipeptidler olarak rapor edilmiştir (Kleinwachter, 2004). Saflaştırılmış mirosinazın moleküler kütlesi 125kDa ile 150kDa arasında değişiklik göstermektedir. Karbohidrat içeriği ise toplam moleküler kütlenin %9-23'ü arasında değişmektedir (Bones ve Rossiter, 1996). Ayrıca bu güne kadar tespit edilmiş olan tüm bitki mirosinazlarına glikoz eklendiği gösterilmiştir (Rask vd., 2000). Bitkideki mirosinaz aktivitesi; türe, kültivara ve bitki organına bağlı olarak da çeşitlilik gösterir, hatta aynı bitkide enzimin çoklu formları da bulunabilir. Tamamen saflaştırılmış mirosinaz iki alt birimden oluşur (Bones ve Rossiter, 1996). Bitkide mirosinaz mirosin hücrelerinde bulunmaktadır. Boyutları ve morfolojileri ile farklılık gösteren idioblastik mirosin hücreleri kök, gövde, yaprak, petiyol, tohum ve fidede geniş bir alana yayılış gösterirler.



Şekil 2. Glikosinolat biyosentezi.

Mirosin hücrelerinin morfolojisi bulun-dukları dokuya ve dokunun yaşına göre çeşitlenir (Rask vd., 2000). Mirosin hücreleri, vakuollerindeki yüksek protein içeriği ile karakterize edilirler ve bu nedenle bazı protein ajanları ile sitokimyasal olarak reaksiyona girmeye eğilimlidirler (Jørgensen, 1981). Jørgensen 1981 yılında birçok kriterden biri olarak *Capparales* ordosunun sınıflandırılmasında mirosin hücrelerinin oluşumunu ve dağılımını kullanmıştır. Mirosin hücrelerinde bulunan başlıca organel, homo-jen elektron dağılımına sahip küresel mirosin daneleri-dir. Bu danelerin ışığı kırma aktiviteleri farklıdır ve daha homojendir. Mirosin daneleri, mirosin hücrelerinde genellikle oleozomlar arasında dağılmış olarak bulunurlar, onları çevreleyen hücrelerdeki danelerden farklıdır ve boyutları 2.5 ile 10μm arasında değiş-mektedir. Glikoz eklenme derecesine göre farklılık gösteren mirosinazlar, düşük askorbik asit konsantras-yonlarında aktifleşirler ve substrat olarak sadece gliko-sinolatları kullanırlar (Rask vd., 2000).

Önceleri anti-mirosinaz antibadileri ile yapılan çalışmalarda mirosinaz ile birleşen çeşitli polipeptidler tespit edilmiştir (Lenman vd., 1990). Ancak, bu aşamada bu polipeptidlerin mirosinaz-glikosinolat sisteminde her hangi bir rollerinin olup olmadığı ve biyokimyasal davranışları tam olarak anlaşılamamıştır. Fonksiyonları bilinmeyen bu polipeptidler ile yapılan çalışmalarda Rask ve çalışma arkadaşları, yaralanmanın bu polipeptidlerin ekspresyonunu artırdığını göstermiştir (Falk vd., 1995). Bu polipeptidlerden ilk olarak mirosinaz bağlayan proteinler (MBP) keşfedilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise bu proteinler mirosinaz bağlayan proteinler (MBP) ve mirosinaz bağlayan proteinler ile ilişkili proteinler (MBPRP) olarak sınıflandırılmıştır (Bones and Rossiter, 1996). Farklı türlerdeki MBP ve MBPRP'nin dağılımı henüz bilinmemektedir. Mirosinaz bağlayan proteinlerin (MBP) fonksiyonları da henüz tam olarak aydınlatılamamıştır, fakat lektin aktivitelerinden dolayı MBP'lerin mantar yüzeyinde yada böcek midesinde bulunan karbohidratlara bağlandıkları düşünülmektedir. Eğer bu doğruysa MBP'ler, böcek ve patojenlere karşı savunmadaki glikosinolat parçalanma ürünlerinin aktivitelerini arttıran sinerjitik bir etkiye sahiptirler. Mirosinaz komplekslerine afinite gösteren başka bir protein ise mirosinazla bağlanmış proteinler (MyAP) olarak isimlendirilirler. Sekans belirlenmesi ve immunoreaktivite çalışmaları MyAP'nin daha önce karakterize edilen MBP ve MBPRP'ler ile ilgili olmadıklarını göstermiştir (Falk vd., 1995). Miro-sinazla bağlanmış proteinler (MyAP), yaralanma ve metil jasmonat ile uyarılabilen üyelerde bir gen ailesinden türevlenir (Taipalensuu vd., 1996). Miro-sinazla bağlanmış proteinler (MyAP), *A. thaliana* lipazı ile sekans benzerliği gösteren, 40kDa mono-merik glikoproteindir. MyAP'nin hücresel lokali-zasyonu bilinmemektedir, fakat *B. napus* yapraklarının metil jasmonat ile muamelesinin in situ hibridizas-yonu, tüm parenkimal hücrelerdeki MyAP transkrip-tinin arttığını göstermektedir (Rask vd. , 2000).

Farklı türlerdeki mirosinaz izoenzimleri izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bazı türlerde mirosinaz büyük bir gen ailesinden oluşur. Örneğin *Brassica napus* en az 20 mirosinaz izoenzimine sahiptir. *Brassica napus* tohumlarındaki mirosinaz kodlayan genler, MA (veya Myr1), MB (veya Myr2) ve MC olarak belirtilen ve sırasıyla 5, 10-15 ve 5 gen içeren, en az üç alt aileyi kapsayan bir gen ailesi tarafından kodlanır. Bu üç alt ailenin *B. napus*'taki ekspresyonu northern blot ve in situ hibridizasyon yöntemleriyle belirlenmiştir. Burada kullanılan problar alt aileye özeldir, gen spesifik değildir. Mirosinazlar, *Brassica napus* tohumlarından denatüre edici olmayan koşullar altında izole edildiğinde, sadece 75kDa olan MA mirosinazlar serbest dimerler olarak meydana gelirler. (Rask vd., 2000). MB (65kDa) ve MC (70kDa) proteinleri, mirosinaz bağlayan proteinler (MBP) ve mirosinaz ile birleşen proteinler (MyAP) ile birlikte 250-800kDa olan kompleksler oluştururlar. *Sinapsis alba* tohumlarının protein ekstraktlarında sadece MA mirosinazlar çözünür yapıdadır. Bu bitki türündeki MB mirosinazları sadece denatüre edici ajanlar ile çözüne-bilirler. Bunların fonksiyonları şu an tam olarak açık değildir. MBP lektin aktivitesine sahiptir ve MyAP bir esteraz/lipaz motifine sahiptir. Yapılan çalışmalarda MBP ve MyAP'lerin mirosinaz aktivitesi için gerekli olmadıkları ve in vitro'da glikosinolatın parçalanma profilini etkilemedikleri gösterilmiştir. Bununla birlikte MBP ve MyAP transkriptlerinin, yaralanma ile güçlü bir şekilde uyarıldıkları saptanmıştır (Chen, 2001). Mirosinaz boyut farklılığı muhtemelen MA, MB ve MC mirosinazların protein kısımlarının benzer kütlede olmasına rağmen, glikoz eklenmesinin boyut-larının farklılığından kaynaklanmaktadır (Rask vd., 2000).

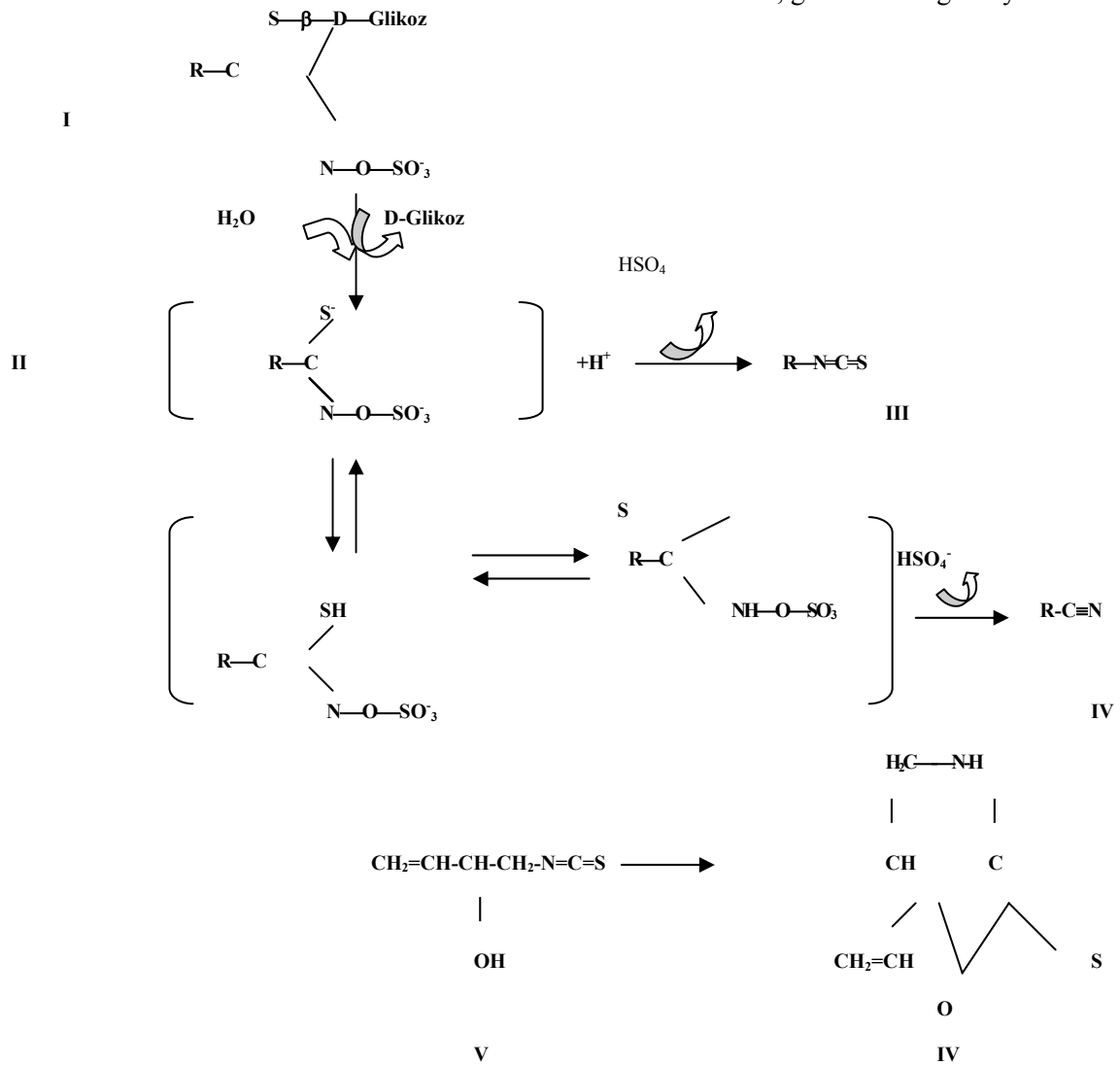
4. MİROSİNAZ - GLİKOSİNOLAT ETKİLEŞİMLERİ

Glikosinolat içeren tüm bitkiler aynı zamanda mirosinazı (tiyoglikosid glikohidrolaz EC 3.2.1.147) da içerirler (Bones vd., 1996; Bennett vd., 2004; Eylen, 2005). Bununla birlikte, mirosin hücreleri içeren tüm bitkiler de glikosinolat içerirler, ancak sadece *Koeberlinia spinosa* bitkisi mirosin hücresi içermesine rağmen glikosinolat içermez (Ettlinger ve Kjaer, 1968; Chen, 2001). Mirosinaz glikosinolat sisteminin hücresel organizasyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte zarar görmemiş hücrelerde glikosinolatlar endojen enzim mirosinazdan farklı bir yerde muhafaza edilirler (Leoni vd., 1997; Kelly, 1998; Song, 2005). Zarar görmemiş gliko-sinolatların çok az biyolojik etkiye sahip oldukları görülmektedir, fakat bitki dokusunun donup çözülmesi sonucunda parçalanması ve çiğnenme esnasında fiziksel zarara maruz kaldığında glikosinolat ve mirosinazın bölmelendirmesi bozulur ve glikosinolat-ların mirosinaz tarafından katalizlenen parçalanma metabolizması meydana gelir (Şekil 3) (Shapiro vd., 2001; Quinsac vd.,1994; Song vd., 2005). Bu sistemin hücresel lokalizasyonu ile ilgili üç farklı görüş mevcuttur. Bunlar; farklı hücrelerde, aynı hücrenin farklı kısımlarında ve aynı hücrenin aynı kısmında fakat inaktif formda bulunduğu şeklindedir (Bones ve Rossiter, 1996).

Bu enzimatik parçalanma sonucu kararsız bir ara bileşik olan tiyohidroksimat-*O*-sülfat ve D-glikoz açığa çıkar. Daha sonra kararsız ara bileşik kendiğiliğinden meydana gelen düzenlemeler sonucu glikoz, sülfat ve bir çok aktif allelokimyasallar açığa çıkar. Reaksiyon koşulları ve substrata bağlı olarak çeşitlenen bu parçalanma ürünlerinin bazıları, izotiyosiyanat, nitril, tiyosiyanat, siyanittir (Gill ve Macleod, 1980; Trenerry vd., 2005). Hidroliz ürünle-rinin yapısı pH, sıcaklık, metal iyonları, protein kofaktörleri (ESP- Epitiyospecifier protein) ve yan zincir özelliklerine bağlıdır (Fahey vd., 2001; Bennett, 2004). Örneğin ortamın pH'ı düşük olduğunda nitril, pH nötr olduğunda izotiyosiyanatlar, ESP varlığında ise epitiyonitril oluşur (Bones ve Rossiter, 1996). Oluşan bu allelokimyasalların toprakta bazı patojen-lerin çoğalmasını ve zararlı otların tohumlarının çimlenmesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Angus vd., 1994; Brown ve Morra, 1997). Bu nedenle birçok çalışmada, toprağı muhafaza etmek için kışın ekilen ekin olarak glikosinolat içeren bitkilerin kullanıl-masının sentetik pestisit kullanımını azaltacağını ileri sürmektedir (Martin vd., 1990; Boydston ve Hang, 1995).

5. MİROSİNAZ GLİKOSİNOLAT SİSTEMİNİN EVRİMİ

Glikosinolat-mirosinaz sisteminin evrimi incelendiğinde bitki sekonder metabolitlerinden olan siyanogenik glikosidler ile arasında bir takım yapısal benzerlikler olduğu görülür. Siyanogenik glikosidler, böceklerde, eğreltiotlarında, gymnospermlerde ve angiospermlerde geniş yayılış gösterirler. Bu bize siyanogenezisin erken evrime bir kanıt olduğunu gösterir. Glikosinolatlar ile siyanogenik glikosidlerin yapısal benzerliği ve evrimi, glikosinolat biyosentezinin siyanogenik yatkınlık temelli evrimleşmiş olabileceğini ve siyanogenik biyosentez yolunun glikosinolat üretmeye adapte olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda bu maddelerin parçalanma enzimlerinin üç boyutlu yapılarının oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu enzimlerin yapı analizleri, siyanogenik glikosidazların mirosinaz enzimine dönüşebilmesi için sadece bir kaç enzimin değişikliğe uğradığını göstermektedir. Mirosinazın aktif bölgesi, siyanogenik glikosidleri parçalayan *O*-glikosidazlara oldukça benzerdir; fakat bu enzimde *O*-glikosidazlardaki katalitik artıklardan biri olan karboksilat, glutamin artığının yerini almıştır.



Şekil 3. Enzimatik parçalanma sonucu oluşan glikosinolat hidroliz ürünleri ve kendiliğinden düzenlenmeleri. I=glikosinolat, II=aglikon, III=izotiyosiyanat, IV=nitril, V=2-hidroksi-3-bütenil izotiyosiyanat ve VI=5-vinilokzalidin-2-tiyon (Bones ve Rossiter, 1996).

O-glikosidazlar doğada çok yaygın olarak bulunmalarına rağmen, bilinen tek *S*-glikosidazlar mirosinazlardır. *O*-glikosidazlar ile sekans benzerliği gösteren bu karışık enzim, *S*- ve *O*-glikosidik bağları hidrolizleyen enzimler arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları analiz etmek için olanak sağlar. Ancak glikosinolat profili, filogenetik bir sistemde açıklanamamıştır ve glikosinolat çeşitliliğinin evrimine ilişkin değişim derecesi hakkında şu an çok az bilgi mevcuttur (Windsor vd., 2005). Aynı zaman-da bir bitkinin glikosinolat biyosentez kapasitesi, evrim temelli sınıflandırmayı destekleyen taksonomik bir marker olarak da kullanılmaktadır (Rodman, 1981).

Glikosinolat-mirosinaz sistemi, bitki-böcek etkileşimlerini ve bu canlıların evrimsel değişimlerini çeşitli şekillerde etkilemektedir. Bu metabolitleri yüksek konsantrasyonda içeren bitkiler, herbivor böcek zararından daha iyi korunurlar ve diğer savunmasız bitki türlerine göre bir üstünlük sağlamış olurlar. Evrim sürecinde böcekler de bitkiler ile birlikte evrimleştiklerinden, glikosinolat içeren bitkilere göre özelleşmiş böcek türleri de vardır. Bu şekilde özelleşmiş böcek türleri specialist böcekler, diğerleri ise generalist böcekler olarak adlandırılır. Buna göre glikosinolatlar; generalist böceklerin, büyüme ve yaşamını sürdürmesinde inhibitör etkiye sahiptir. Türler arasında yapılan bir çok çalışma, glikosinolat çeşidini ve miktarını etkileyen genetik varyasyonu (Kjaer, 1976; Louda ve Rodman, 1983; Kliebenstein vd., 2001; Fahey vd., 2001; Kroymann vd., 2003; Castro vd., 2004; Font vd., 2004; Charron ve Sams, 2004) ve generalist herbivor böcek direncinde önemli fonksiyonlarını (Raybould ve Moyes, 2001; Kroymann vd., 2003; Kroymann ve Mitchell-Olds, 2004) göster-miştir. Bu sonuçlar, ikincil metabolitlerin milyonlarca yıllık bağımsız evrim süresince ayrılmış (Koch vd., 2001) olan bitki türlerindeki ekolojik öneminin altını çizmiştir (Windsor vd., 2005). Bitki populasyonları arasındaki glikosinolat seviyesi ve kompozisyonundaki genetik varyasyon generalist herbivor baskısı ile ilişkilidir (Mithen, 1995). Specialist herbivor böcekler ise glikosinolat içeren bitkileri konukçu olarak kullanır, yumurta bırakır ve onlarla beslenirler (Raybould ve Moyes, 2001; Pivnick vd., 1994; Marazzi ve Staedler, 2004; Windsor vd., 2005). Burada farklı fonksiyonları yerine getirmek için farklı glikosinolat türleri görev alır. Örneğin kısa zincir alifatik glikosinolatlar böcek cezbetmede önemli olan uçucuların öncülleri olarak görev alırken (Giamoustaris, 1995), indol glikosinolatlar çeşitli *Crucifer* türleri ile beslenen böceklerde en etkili glikosinolat sınıfıdırlar (Larsen vd. , 1985; Stadler vd., 1995; Roessingh vd., 1997; Isidora vd., 1998; Barlet vd., 1998). Ancak glikosinolat-mirosinaz sistemi tek başına bitki-böcek etkileşimini açıklamak için yeterli olmayacaktır, bunun için hem ekolojik hem de diğer kimyasal faktörlerin göz önüne alınması gerekmektedir (Chew, 1988).

6. MİROSİNAZ-GLİKOSİNOLAT SİSTEMİNİN ÖNEMİ

Yapılan çalışmalarda diyetle aldığımız glikosinolatların, kanser önleyici izotiyosiyanatların öncülleri oldukları tespit edilmiştir (Song, 2005). Bu nedenle yüksek kalitedeki *Crucifer* sebzelerinin tüketilmesi çeşitli kanser tiplerinin gelişme riskini azaltmaktadır (Negri vd., 1990; Willett, 1994). Glikosinolatların hidrolitik ürünlerinden olan izotiyosiyanatlar kanserin önlenmesinde pozitif etkiye sahiptirler. Bu kanser önleme etkisi karsinojenlerin biyoaktivasyonundan sorumlu faz I enzimlerinin inhibisyonu (Guo vd., 1992) ve faz II detoksifikasyon enzimlerinin uyarıl-masından ileri gelmektedir (Sparnins vd., 1982; Choi vd., 2005). Böylece hücresel farklılaşma engellenerek, apoptozis uyarılmaktadır (Mithen, 2001). Bununla birlikte aynı zamanda glikosinolatlar parçalanma ürünlerinin meydana getirdiği aroma ve lezzet nedeni ile de beslenme diyeti için önemlidirler ve gıda endüstrisinde ekstra önemli bir role sahiptir. Bu sebeple, sebzelerdeki toplam glikosinolat miktarı özellikle önem taşımaktadır (Choi vd., 2005).

Ayrıca glikosinolatlar yüksek bitkilerdeki temel öksin olan indol-3-asetik (IAA) asit gibi hormonların inaktif öncüllerinin depolanmasına hizmet ediyor olabilirler. Yapılan çalışmalar *Brassicaceae* türlerinde IAA biyosentezinin farklı yollar aracılığı ile gerçekleştiğini göstermektedir. 3-indol asetonitril ve ilgili indoller mirosinaz tarafından glikosinolatlardan serbest bıraktırılırlar (Burmeister vd., 2000). Örneğin mirosinaz-glikosinolat sistemine sahip *Arabidopsis thaliana*'da IAA sentezi triptofan yoluyla gerçekleşmez. Daha gelişmiş türlerde IAA, özel koşullar altında glikobrassicin (indol-3-metil-glikosinolat) ve L-triptofan'dan indol asetoaldoksim yardımı ile türevlenebilir. Ama her durumda indol-3-asetonitril, nitrilaz aktivitesi sayesinde IAA'ya çevrilen öncü moleküldür. IAA biyosentezinin *Arabidopsis thaliana*'da indol-3-asetonitril'e bağlı olan birden fazla yolu vardır ve bu yollar bitki gelişimi süresince farklı şekilde kontrol edilir (Bartling vd., 1994).

Mirosinaz-glikosinolat sisteminin incelenmesi ve aydınlatılması, bitkilerde zararlılara karşı geliştirilen savunma sistemlerinin daha iyi anlaşılmasına ve bu şekilde geliştirilecek yöntemlerle pestisit kullanımının azaltılmasına olanak sağlayacaktır. Aynı zamanda insan sağlığı için son derece önemli olan anti kanserojenik etkili bitkilerin etki mekanizmalarının detaylı bir şekilde açıklanması ile kanser önleyici yöntemler geliştirilebilecektir. Bu konu ile ilgili olarak ülkemizde yetişen ve mirosinaz-glikosinolat sistemine sahip bitki türleri ile yapılacak çalışmalar bu soruların cevaplanmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

Agerbirk, N., Olsen C.E. ve Nielsen J.K. (2001). Seasonal variation in leaf glucosinolates and insect resistance in two types of *Barbarea vulgaris* ssp *arcuata*. *Phytochemistry* 58, 91–100.

Angus, J.F., Grander P.A., Kirkegaard J.A. ve Desmarchelier J.M. (1994). Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of thee take-all fungus. *Plant Soil* 162, 107-112.

Barlet, E., Kiddle G. , Williams I. ve Wallsgrove R. (1998). Wound induced in the glucosinolate content of oilseed rape and their effect on subsequent herbivory by a crucifer specialist. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91, 163-167.

Bartling, D. , Seedorf M., Schmidt R. C. ve Weiler E. W. (1994). Molecular characterization of two cloned nitrilases from Arabidopsis thaliana: Key enzymes in biosynthesis of the plant hormone indole-3-acetic acid. *Plant Biology* 91, 6021-6025.

Bennett R.N. , Mellon F.A. ve Kroon P.A. (2004). Screening crucifer seeds as sources of specific intact glucosinolats using ion-pair high-performance liquid chromatography negative ion electrospray mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 428-438.

Bones, A.M. ve Rositter J.T. (1996). The mirosinaz-glukosinolat system.-an innate defense system in plants, *Physiol Plantarum* 97 (1), 194-208.

Boydston, R.A. ve Hang A. (1995). Rapeseed (*Brassica napus*) green manura crop suppresses weeds in potato (*Solanum tubersum*). *Weed Technol.* 9, 669-675.

Burmeister, W.P. , Cottaz S., Rollini P. , Vasell, A. ve Henrissa B. (2000). High resolution X-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for mirosinaz and substitutes for the function of the catalytic base. *The Journal of Bıological Chemistry* vol. 275, No. 50, Issue of December15, pp. 39385-39393

Brown, P. D. ve Morra M. J. (1997). Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Adv. Agron*. 61, 167–231.

Brown, P.D., Tokuhisa J.G., Reichelt M. ve Gershenzon J. (2003). Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana. Phytochemistry* 62, 471–481.

Castro, A., Aires A., Rosa E., Bloem E. , Stulen I. and De Kok L.J. (2004). Distribution of gluco-sinolates in *Brassica oleracea* cultivars. *Phyton.* 44, 133–143.

Charron, C.S. ve Sams C.E. (2004). Glucosinolate content and myrosinase activity in rapid-cycling *Brassica oleracea* grown in a controlled environment. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 129, 321–330.

Charron, C.S., Saxton A.M. ve Sams C.E (2005). Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate–myrosinase system. I. Glucosinolate content in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons. *J. Sci. Food Agric.* 85, 671–681.

Chew, F.S. (1988) Biological Effects of Glucosinolates In: Cutler H.G. ed. *Biologically Active Natural Products Potential Use in Agriculture.* Washington DC. USA: American Chemical Society, 151-181.

Chen, S. ve Andreasson E. (2001). Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiol.* 39, 743-758.

Choi, M.M.F., Liang M.M.K. ve Lee A.W.M. (2005). A biosensing method with enzyme-immobilized eggshell membranes for determination of total glucosinolates in vegetables. *Enzyme and Microbial Technology.* 36, 91–99

Doughty, K.J., Porter A.J.R., Morton A.M., Kiddle G., Bock C.H. ve Wallsgrove R. (1991). Variati-on in the glucosinolate content of oilseed rape *Brassica-Napus* L. leaves II. Response to infection by Alternaria-Brassicae *Berk. Sacc. Ann. Appl. Biol.* 118, 469–478.

Ettlinger, M.G. ve Kjaer A. (1968). Sulfur compounds in plants. *Rec. Adv. Phytochem* 1, 59-144.

Eylen, D.V. , Indrawati, Hendrickx M. ve Loey A.V. (2005). Temperature and pressure stability of mustard seed (*Sinapis alba L.*) myrosinase. *Food Chemistry (article in press).*

Fahey, J.W., Zalcmann A.T. and Talalay P. (2001). The chemical diversity ve distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56, 5–51.

Falk, A., Taipalensuu B., Ek B., Lenman M. ve Rask L. (1995). Characterization of rapeseed my-rosinase-binding protein. *Planta* 195, 387-395.

Fenwick, G.R. ve Heaney R.K. (1983). Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods, and feedingstuVs. *Food Chem.* 11, 249–271.

Font, R., Del Rio M., Fernandez-Martinez J.M. ve de Haro-Bailon A. (2004). Use of near-infrared spectroscopy for screening the individual and total glucosinolate contents in Indian mustard seed (*Brassica juncea L. Czern. & Coss*.). *J. Agric. Food Chem*. 52, 3563–3569.

Gill, V. ve Macleod A.J. (1980). Studies on glucosinolates degradation in *Lepidium sativum* seed extract. *Phytochemistry* 19, 1369-1374.

Gramoustaris, A. (1995) Glucosinolates in Brassica and their role in mediating pest and pathogen interactions. East Aglia, UK: University of East Aglia PhD. Thesis.

Graser. G., Oldham N. J., Brown P. D. , Temp U. ve Gershenzon (2001). The biosynthesis of benzoic acid glucosinolate esters in *Arabidopsis thaliana. Phytochemistry* 57, 23-32.

Groot Wassink, J.W.D., Underhill E.W., Hemmingsen S.M. and Reed D.W., Kolenovsky A.D. (1997). Plants with reduced glucosinolate content. *European Patent EP* 0 771 878 *A*1.

Guo, Z., Smith T.J. , Wang E., Sadrieh N., Ma Q. and Thomas P.E. (1992) Effects of phenethyl isothiocyanate, a carcinogenesis inhibitor, on xenobiotic-metabolizing enzymes and nitrosamine metabolism in rats. *Carcinogenesis* 13, 2205–2210.

Halkier, B. A. ve Du L. (1997). The biosynthesis of glucosinolates. *Trends in Plant Science*. 2, 425–431.

Halkier, B.A. (1999). Glucosinolates, in: Ikan R. (Ed.), Naturally Occuring Glycosides: Chemistry, Distribution ve Biological Properties. *John Wiley and Sons Ltd, London* 193-223.

Isidoro, N., Barlet E., Ziesmann J. ve Williams I.H. (1998). Antennal contact chemosensilla in *Pslliodes chrysocephala* responding to cruciferous allelochemicals. *Physiological Entomology* 23, 131-138.

Jørgensen, L.B. (1981). Myrosin cells ve dilated cisternae of the endoplasmic reticulum in the order *Capparales*. *Nord J Bot.* 1, 433–445.

Keck, A.S. ve Finley J.W. (2004). Cruciferous Vegetables: Cancer Protective Mechanisms of Glucosinolate Hydrolysis Products and Selenium. *Integratıve Cancer Therapıes* 3(1), 5-12.

Kelly, P.J., Bones A. ve Rossiter J.T. (1998). Subcellular immunolocalization of the glucosinolate sinigrin in seedlings of *Brassica juncea*. *Planta* 206, 370–377.

Kiddle, G.A., Bennett R.N. ve Hick A.J. (1999). Wallsgrove R.M. C-S lyase activities in leaves of crucifers and non-crucifers, and the characterization of tree classes of C-S lyase activities from oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Cell Environ.* 22, 433-445.

Kjaer, A. ve Schuster A. (1972). Glucosinolates in seeds of *Neslia- Paniculata*. *Phytochemistry* 11, 3045–3048.

Kjaer, A. (1976). Glucosinolates in the Cruciferae. In: Vaughn J.G., MacLeod A.J., Jones B.M.G. (Eds.), The Biology and Chemistry of the Cruciferae. Academic, London, UK, pp. 207–219.

Kleinwachter, M. ve Selmar D. (2004). A novel approach for reliable activity determination of ascorbic acid depending myrosinases. *J. Biochem. Biophys. Methods*. 59, 253-265.

Kliebenstein, D.J., Kroymann J., Brown P., Figuth A., Pedersen D., Gershenzon J. ve Mitchell-Olds T. (2001). Genetic control of natural variation in *Arabidopsis* glucosinolate accumulation. *Plant Physiol.* 126, 811–825.

Koch, M., Haubold B. ve Mitchell-Odds T. (2001). Molecular systematics of the Brassicaceae: evidence from coding plastidic matK and nuclear Chs sequences. *Am. J. Bot.* 88, 534–544.

Kroymann, J., Donnerhacke S. , Schnabelrauch D. ve Mitchell-Olds T. (2003). Evolutionary dynamics of an *Arabidopsis* insect resistance quantitative trait locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 14587–14592.

Kroymann, J. ve Mitchell-Olds T. (2004). Function and evolution of an *Arabidopsis* insect resistance QTL. In: Tikhonovich I., Lugtenberg B., Provorov N. (Eds.), Biology of Molecular Plant–Microbe Interactions. *APS Press, Saint Paul, MN*, pp. 259–262.

Lambrix, V., Reichelt M., Mitchell-Olds T., Kliebenstein D.J. ve Gershenzon J. (2001). The *Arabidopsis* epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia* ni herbivory. *Plant Cell* 13, 2793–2807.

Larsen, L.M., Nielsen J.K., Plöger A. ve Sørensen H. (1985). Responses of some beetle species to varieties of oilseed rape and to pure glucosinolates. In: H. Sørensen (ed.), *Advances in the Production and Utilization of cruciferous Crops with special emphasis to oilseed Rape*. Dr. W. Junk Publ., Dordrecht, Boston & Lancaster: pp. 230244

Lenman, M., Rödin J. , Josefsson L.G. ve Rask L. (1990) Immunological characterization of

rapeseed myrosinase. *Eur. J. Biochem*. 194, 747-753.

Leoni, O., Iori R., Palmieri S. , Esposito E., Menegatti E., Cortesi R. ve Nastruzzi C. (1997), Mirosinaz-generated isothiocyanate from glucosinolates: isolation, characterization and in vitro antiproliferative studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* Vol. 5, No. 9, 1799-1806.

Louda, S.M. ve Rodman J.E. (1983). Concentration of glucosinolates in relation to habitat and insect herbivory for the native crucifer *Cardamine-Cordifolia. Biochem. Syst. Ecol.* 11, 199 – 208.

Marazzi, C. ve Staedler E. (2004). *Arabidopsis thaliana* leaf-surface extracts are detected by the cabbage root fly (*Delia radicum*) and stimulate oviposition. *Physiol. Entomol.* 29, 192-198.

Martin, V.L., McCoy E.L. ve Dick W.A. (1990). Allelopathy of crop residues influences corn seed germination and early growth. *Agron. J.* 82, 555-560.

Mikkelsen, M.D. ve Halkier B.A. (2003). Metabolic Engineering of valine- ve isoleucine- derived glukosinolats in *Arabidopsis* expressing CYP79D2 from *Cassava*, *Plant Physiology*; 131 (2), 773-779.

Mithen, R. (2001) Glucosinolates–biochemistry, genetics and biological activity, *Plant Growth Regulation* 34, 91-103

Negri, E. , La Vecchia C. , Franceschi S. , D'Avanzo B. ve Parazzini F. (1990). Vegetable and fruit consumption and cancer risk. *Int J Cancer*. 48, 350–354.

Oerlemans, K., Barrett D.M., Suades C.B., Verkerk R. ve Dekker M. (2004). Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry* 95, 19-29.

Pivnick, K.A., Jarvis B.J. ve Slater G.P. (1994). Identification of olfactory cues used in host-plant finding by diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Chem. Ecol.* 20, 1407-1427.

Rangkadilok, N., Nicolas, M. E., Bennett, R. N., Premier, R. R., Eagling, D. R. and Taylor, P. W. J. (2002). Developmental changes of sinigrin and glucoraphanin in three *Brassica* species *(Brassica nigra, Brassica juncea and Brassica oleraca var italica). J. Sci. Horti.* 96, 11–26.

Rask, L., Andrėasson, E., Ekbom, B. , Eriksson, S., Pontoppidan, B. and Meijer J. (2000). Mirosinaz: gene family evolution and herbivore defense in *Brassicaceae*. *Plant Molecular Biology,* 42: 93-113.

Raybould, A.F. and Moyes, C.L. (2001). The ecological genetics of aliphatic glucosinolates. *Heredity* 87, 383–391.

Reichelt, M., Brown, P.D., Schneider, B. , Oldham, N.J., Stauber, E., Tokuhisa, J., Kliebenstein, D.J., Mitchell-Olds, T. and Gershenzon, J. (2002). Benzoic acid glucosinolate esters and other glucosinolates from *Arabidopsis thaliana. Phytochemistry* 59, 663–671.

Rodman, J.E., Kruckeberg, A.R. and Al-Shehbaz, I.A. (1981). Chemotaxonomic diversity in seed glucosinolates of *Caulanthus* and *Streptanthus* (Cruciferae). *Systematic Botany* 6, 197±222.

Rodman, JE. (1991). A taxonomic analysis of glucosinolateproducing plants, I: phenetics. *Systematic Botany* 16, 598-618.

Rodman, J.E., Karol, K.G., Price, R.A. ve Sytsma, K.J. (1996). Molecules, morphology, and Dahlgren's expanded order *Capparales. Syst. Bot.* 21, 289–307.

Rodman, J.E., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Sytsma, K.J. ve Karol, K.G. (1998). Parallel evolution of glucosinolate biosynthesis inferred from congruent nuclear and plastid gene phylogenies. *Am. J. Bot.* 85, 997–1006.

Roessingh, P., Stadler, E., Baur, R., Hurther, J. ve Ramp T. (1997). Tarsal chemoreceptors and oviposition behaviour of the cabbage root fly (*Delia radicum*) sensitive to fractions and new compounds of host leaf surface extracts. *Physiological Entomology* 22, 140-148.

Rohlo, J. ve Bones, A.M. (2005). Volatile profiling of *Arabidopsis thaliana*–Putative olfactory compounds in plant communication. *Phytochemistry* 66, 1941-1955.

Rosa, E. A. S. ve Rodrigues, A. S. (2001). Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late seasons. *HortScience,* 36, 56–59.

Quinsac, A., Charrier, A., Ribaillier, D. ve Peron, J.Y. (1994). Glucosinolates in etiolated sprouts of sea-kale (*Crambe maritima* L.). *J. Sci. Food Agric.* 65, 201–207.

Shapiro, T.A., Fahey, J.W., Wade, K.L., Stephenson, K.K. ve Talalay P. (2001). Chemopreventive glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10, 501–508.

Song, L., Morrison, J.J., Botting, N.P. ve Thornalley, P.J. (2005). Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in

vegetable extracts and blood plasma by LC–MS/MS. *Analytical Biochemistry* 347; 234–243.

Sparnins, V.L., Venegas, P.L. ve Wattenberg, L.W. (1982). Glutathione. *S*transferase activity: enhancement by compounds inhibiting chemical carcinogenesis and by dietary constituents. *J Natl Cancer I* 68, 493–496.

Stadler, E. , Rewick, J.A.A. , Radke, C.D. ve Sachdev-Gupta, K. (1995). Tarsal contact chemoreceptors response to glucosinolates and cardenolides mediating oviposition in *Pieris rapae. Physiological Entomology* 20, 175-187.

Taiapalensuu, J., Falk, A. ve Rask, L. (1996). A wound and methyl jasmonate inducible transcript coding for a myrosinase-associated protein with similarities to an early nodulin. *Plant Physiol.* 110, 483-491.

Tokuhisa, J., Kraker, J.W., Textor, S. ve Gershenzon, J. (2004). The biochemical and molecular origins of aliphatic glucosinolate diversity in *Arabidopsis thaliana*. *In: Romeo, J.T. (Ed.), Secondary Metabolism in Model Systems. Pergamon, New York, NY*, pp. 19–38.

Trenerry, V.C., Caridi, D., Elkins, A., Donkor, O. ve Jones, R. (2005). The determination of glucoraphanin in broccoli seeds and florets by solid phase extraction and micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chemistry (article in press).*

Van Etten, C.H. ve Tookey, H.L. (1983). Glucosinolates. In: Rechcigl M. (Ed.), Naturally Occurring Food Toxicants. *CRC Press, Boca Raton, FL* 15-30.

Vallejo, F., Tomas-Barberan, F.A., Gonzalez Benavente-Garcia, A. ve Garcia-Viguera, C. (2003). Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars grown under various climatic and fertilisation conditions. *J. Sci. Food Agric.* 83, 307–313.

Wallsgrove, R.M., Doughty, K.J. ve Bennett, R.N. (1998). Glucosinolates. In: Singh B.J., ed. *Plant amino acids*. *Biochemistry and biotechnology*. New York, USA: Marcel Dekker, 523-562.

Willett, W.C. (1994). Micronutrients ve cancer risk. *Am J Clin Nutr* 1162–1165.

Windsor, A. J., Reichelt, M., Figuth, A., Svatos, A., Kroymann, J., Kliebenstein, D. J., Gershenzon, J. and Mitchell-Olds, T. (2005). Geographic and evolutionary diversification of glucosinolates among near relatives of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Phytochemistry* 66, 1321–1333.

Wittstock U. and Halkier B.A. (2002). Glukosinolat research in the Arabidopsis era, *Elsevier Science* 1360-1385.

Özden ÖZKUR, 22.07.1981 Bandırma doğdu. Lise eğitimini 1995-1999 yılları arasında Bursa Yabancı Dil Ağırlıklı Kız Lisesi'nde; lisans eğitimini 1999-2003 yılları arasında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde; yüksek lisansını 2003-2005 yılları arasında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji A.B.D.'da yaptı. Doktora eğitimini 2005 yılından beri aynı bölümde sürdürmektedir. Halen yabancı bir ilaç firması sponsorlukunda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinde merkez koordinatör olarak çalışmaktadır.

Melike BOR, 14.11.1971 tarihinde Ankara'da doğdu. Orta ve Lise Öğrenimi İzmir Özel Fatih Lisesinde (1984–1989), Üniversite Öğretimini ise, Ege Üniver-sitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünde tamamladı (1989–1993). Yüksek Lisans öğrenimini (1996), Doktora öğrenimini (2002) Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Merkezinde bitirdi. 1994 yılında Araştırma görevlisi olarak Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde göreve başladı. 2006 yılında Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalına Yardımcı Doçent olarak atandı.

Filiz ÖZDEMİR, 29.05.1958 de İzmir de doğdu. Orta Öğrenimini Özel Türk Lisesinde (1969–1975), Üniversite Öğretimini ise, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünde tamamladı (1975–1979). Yüksek Lisans ve Doktora eğitimlerini de aynı üniversitede tamamladıktan sonra, 1996 yılında Doçent unvanı aldı, 2002 de ise Profesör kadrosuna atandı.