

# Uloga fenolnih spojeva u obrani biljke od patogena

---

Valentić, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:891853>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**ULOGA FENOLNIH SPOJEVA U OBRANI BILJKE OD  
PATOGENA**

DIPLOMSKI RAD

Dora Valentić

Zagreb, rujan, 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Fitomedicina

**ULOGA FENOLNIH SPOJEVA U OBRANI BILJKE OD  
PATOGENA**

DIPLOMSKI RAD

Dora Valentić

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Joško Kaliterna

Zagreb, rujan, 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Dora Valentić**, JMBAG 0178114600, rođen/a 02.08.1998. u Novoj Gradišci, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**ULOGA FENOLNIH SPOJEVA U OBRANI BILJKE OD PATOGENA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta/ice **Dora Valentic**, JMBAG 0178114600, naslova

**ULOGA FENOLNIH SPOJEVA U OBRANI BILJKE OD PATOGENA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                    |        |       |
|----|------------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Joško Kaliterna | mentor | _____ |
| 2. | prof. dr. sc. Edyta Đermić         | član   | _____ |
| 3. | prof. dr. sc. Marko Vinceković     | član   | _____ |

## Zahvala

Ovime zahvaljujem svim profesorima čije me znanje potaknulo na detaljno obrađivanje ove teme i izradu diplomskog rada.

Posebno želim zahvaliti mentoru izv. prof. dr. sc. Jošku Kaliterni koji mi je pomogao u ostvarenju ovoga rada i stručno me usmjeravao tijekom njegove izrade.

Također zahvaljujem svima koji su vjerovali u mene i uz čiju sam pomoć ostvarila svoje ciljeve.

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Fenolni spojevi u biljkama.....	3
2.1. Vrste biljnih fenola.....	3
2.2. Sinteza biljnih fenola .....	4
2.3. Uloga biljnih fenola u obrani biljke od biotskih i abiotskih čimbenika.....	5
3. Biljni fenoli kao fitoaleksini .....	7
3.1. Indukcija fitoaleksina u biljci .....	7
3.2. Sinteza, translokacija i akumulacija fitoaleksina u biljci.....	9
3.3. Interakcija fitoaleksina s patogenom .....	10
3.3.1. Detoksifikacija.....	11
4. Biljni fenoli kao fitoanticipini .....	13
4.1. Flavonoidi.....	14
4.2. Salicilna kiselina.....	15
4.3. Lignin .....	17
4.4. Fenolni glukozinolati kao fitoanticipini .....	18
5. Primjena fenola u suzbijanju biljnih patogena.....	20
5.1. Eterična ulja u suzbijanju biljnih patogena .....	20
5.2. Uloga modifikacije fenolnog profila biljaka u zaštiti od biljnih patogena .....	22
6. Zaključna razmatranja .....	24
7. Literatura .....	26
Životopis .....	38





# Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Dora Valentić**, naslova

## **Uloga fenolnih spojeva u obrani biljke od patogena**

Fenolni spojevi su velika skupina aromatskih spojeva. U biljkama se javljaju kao sekundarni metaboliti, a u biljnoj stanici su zastupljeni kao slobodne (topljive) ili vezane (netopljive) molekule koje imaju značajnu ulogu u obrambenim mehanizmima biljke od biljnih patogena i to kao fitoanticipini i fitoaleksini. Cilj rada je prikupiti i prezentirati suvremene znanstvene spoznaje o fenolnim spojevima u biljkama i njihovoj ulozi u mehanizmima obrane od biljnih patogena, kao i mogućnostima razvitka novih, ekološki neškodljivih strategija zaštite bilja modifikacijama njihovog fenolnog profila. Na temelju pregleda suvremene znanstvene literature, uloga fenolnih spojeva u obrani biljke od patogena bit će prikazana opisom različitih skupina fenolnih spojeva koje sintetiziraju kultivirane biljke, opisom njihove biosinteze u biljnoj stanici te opisom funkcioniranja različitih fenolnih spojeva kao fitoanticipina i fitoaleksina u biljnoj stanici. Također, mogućnost razvitka novih, ekološki neškodljivih strategija zaštite bilja bit će prikazan opisom načina modifikacije fenolnog profila biljaka i posljedičnim učinkom na otpornost biljaka na napad biljnih patogena.

**Ključne riječi:** fenolni spojevi, fitoanticipini, fitoaleksini, biljni patogeni

## Summary

Of the master's thesis – student Dora Valentić, entitled

### **THE ROLE OF PHENOLIC COMPOUNDS IN PLANT DEFENSE AGAINST PATHOGENS**

Phenolic compounds are a large group of aromatic compounds. In plants, they occur as secondary metabolites, and in the plant cell they are represented as soluble-free and insoluble-bound molecules that play a significant role in the plant's defense mechanisms against plant pathogens, as phytoanticipins and phytoalexins. The goal of the work is to collect and present modern scientific knowledge about phenolic compounds in plants and their role in defense mechanisms against plant pathogens, as well as the possibilities of developing new, ecologically harmless plant protection strategies by modifying their phenolic profile. Based on a review of modern scientific literature, the role of phenolic compounds in plant defense against pathogens will be shown by describing different groups of phenolic compounds synthesized by cultivated plants, by describing their biosynthesis in the plant cell, and by describing the functioning of different phenolic compounds as phytoanticipin and phytoalexin in the plant cell. Also, the possibility of developing new, ecologically harmless plant protection strategies will be shown by describing the way of modifying the phenolic profile of plants and the consequent effect on the resistance of plants to the attack of plant pathogens.

**Keywords:** phenolic compounds, phytoanticipins, phytoalexins, plant pathogens

## 1. Uvod

Fenolni spojevi su mnogobrojna i diferencirana skupina sekundarnih metabolita prisutna u svim biljkama, iako njihova količina i sastav ovisi o raznim unutarnjim i vanjskim čimbenicima (Dai i Mumper, 2010.). Kako fenolni spojevi sudjeluju u komunikaciji biljke s okolinom njihova količina uvelike ovisi o vanjskim uvjetima rasta. U biljkama se povećava udio polifenolnih komponenata uslijed stresnih uvjeta. Prijašnja istraživanja pokazala su da lokalitet rasta utječe na razinu fenolnih spojeva u ljekovitom i endemičnom bilju. Zbog činjenice da sastav i razina polifenola u nekoj biljci značajno ovisi o porodici kojoj pripada, u novije vrijeme fenolni spojevi se sve češće koriste kao biomarkeri u kemotaksonomskim istraživanjima (Kremer i sur., 2011., Jurišić Grubešić i sur., 2012.). Malo je studija koje istovremeno istražuju korelacije između profila fitokemikalija i genetske varijabilnosti u biljkama ovisno o lokalitetu rasta. Genetski naslijeđeni fenolni profil posljedica je evolucije, odnosno promjena koje su bile nužne za opstanak biljke u okolišu. Biljke, koje se razlikuju od životinja ne mogu braniti od predatora kretanjem, morale su razviti neki drugi oblik obrane. Biljke stoga sintetiziraju puno veću količinu sekundarnih biljnih metabolita od životinja. Navedene činjenice daju naslutiti obrambenu ulogu fenolnih spojeva u biljci. Naime, fenolni spojevi su dio aktivne kemijske obrane biljke, koja se aktivira poslije infekcije biljnim patogenima, čime se svrstavaju u tzv. fitoaleksine, a kao tzv. fitoanticipini, fenolni spojevi doprinose i pasivnim, predinfekcijskim obrambenim mehanizmima biljke od uzročnika bolesti (VanEtten i sur., 1994.).

Fitoaleksini i fitoanticipini mogu uključivati spojeve iz istih skupina kemijskih spojeva, kao što su fenilpropanoidi, terpenoidi i derivati alifatske kiseline (Dixon, 2001.). Dakora i Phillips (1996.) dokazali su da su u mnogim slučajevima fitoaleksini i fitoanticipini identične molekule izoflavonoida. I fitoaleksini i fitoanticipini se nakupljaju zbog infekcije gotovo na sličan način (Vidhyasekaran, 1988.). Pokazalo se da oboje sudjeluju u otpornosti na bolesti (Lo i sur., 1999., Brader i sur., 2006.), iako su otkriveni i u rezistentnim i osjetljivim interakcijama (Dixon, 2001., Brader i sur., 2006.).

Spoznaje o ulozi fenolnih spojeva u obrambenim mehanizmima biljaka od patogena, temelj su za dvije globalne strategije primjene tih spojeva u suzbijanju biljnih bolesti: a) fenoli dobiveni iz jedne biljke, u vidu biljnih ekstrakata poput eteričnih ulja mogu se koristiti kao biofungicidi u svrhu zaštite druge biljke od patogena pri čemu je primjena takvih fungicida izvana; (Bakkali i sur., 2005., Kalemba i Kunicka, 2003.) b) ciljana modifikacija fenolnog profila biljke s ciljem jačanja njenog obrambenog potencijala temeljnog na fenolnim spojevima čime bi se doprinijelo biljke iznutra (Liakopoulus i Karabourniotis, 2005., Hegazi i sur., 2008., Pasković i sur., 2019a.).

Cilj ovog diplomskog rada je prikupiti i prezentirati suvremene znanstvene spoznaje o fenolnim spojevima u biljkama s naglaskom na njihovoj ulozi kao fitoanticipina i fitoaleksina u mehanizmima obrane od biljnih patogena, kao i mogućnostima razvitka novih, ekološki neškodljivih strategija zaštite biljaka modifikacijama njihovog fenolnog profila.

## 2. Fenolni spojevi u biljkama

Iako su fenolni spojevi prisutni i u biljkama i životinjama, većina ih je biljnog podrijetla (Van Sumere, 1989.). Fenolni spojevi su specijalizirani sekundarni metaboliti prisutni u svim biljkama (Lattanzio, 2013.) koji imaju zaštitnu ulogu kako u biljaka tako i u čovjeka koji ih u svoj organizam unosi hranom i pićem biljnog porijekla. Najvažnija su grupa specijaliziranih biljnih metabolita lokalizirani u sjemenkama, listovima, cvjetovima, kori drveća, pokožici i mezokarpu voća i povrća, žitaricama, začinskom i aromatskom bilju (Alok i sur., 2014.).

Fenolni spojevi u biljkama su mnogobrojni i pripadaju sekundarnim tvarima u biljnom metabolizmu. To je grupa spojeva koja ima fenolnu odnosno hidroksilnu skupinu na aromatskom prstenu. Nalazimo ih u obliku glikozida ili estera šećera otopljene u vakuoli. Biljke proizvode brojne sekundarne metabolite koji sadrže fenolnu skupinu. Biljni fenoli su kemijski raznovrsna skupina spojeva, neki od kojih su topivi samo u organskim otapalima, neki u vodi, a neki su veliki, netopivi polimeri. Uloge biljnih fenola su razne, kao na primjer obrana biljke od herbivornih organizama, dok drugi sudjeluju u mehaničkoj potpori, privlačenju oprašivača i rasprostranja plodova ili redukciji rasta susjednih biljaka (Pevalek-Kozlina, 2003.).

Biljke proizvode nekoliko sekundarnih metabolita koji se razlikuju od komponenti posrednog (primarnog) metabolizma, po tome što općenito nisu bitni za osnovne metaboličke procese biljke (Dixon, 2001.). Većina sekundarnih metabolita pokazuje antifungalno djelovanje. Postoje dvije vrste antifungalnih sekundarnih metabolita: fitoaleksini (inducibilno prisutni sekundarni metaboliti) i fitoanticipini (konstitutivno prisutni sekundarni metaboliti) (VanEtten i sur., 1994.). Fitoaleksini se definiraju kao spojevi koji se sintetiziraju iznova kao odgovor na infekciju, akumulirajući do antimikrobnih koncentracija u tom području infekcije (Dixon i Harrison, 1990.; VanEtten i sur., 1995.), dok su fitoanticipini definirani kao spojevi koji se nalaze u biljci prije nego dođe do infekcije (VanEtten i sur., 1994.).

### 2.1. Vrste biljnih fenola

Biljni fenolni spojevi klasificiraju se kao jednostavni fenoli ili polifenoli na temelju broja fenolnih jedinica u molekuli. Tako biljni fenoli obuhvaćaju jednostavne fenole, kumarine, lignine, lignane, kondezirane i hidrolizabilne tanine, fenolne kiseline i flavonoide (Soto-Vaca i sur., 2012.).

Flavonoidi su jedna od najvećih i najznačajnijih skupina biljnih fenolnih spojeva, koncentrirani pretežito u sjemenkama, koži voća, kori drveća, listovima i cvjetovima. Značajan su potporni materijal biljnih stanica u kojima u obliku lignina i suberina grade staničnu stijenu i doprinose mehaničkoj potpori. Neki flavonoidi, poput antocijana, zajedno s flavonima i flavonolima doprinose boji cvjetova i plodova, što je važno za privlačenje životinja za oprašivanje i raznošenje sjemena (Von Elbe i Schwartz, 1996., Davies, 2000.).

Fenolne kiseline su sljedeća najvažnija skupina fenolnih spojeva, a dijelimo ih u dvije glavne skupine – derivati hidroksibenzojeve i derivati hidroksicimetne kiseline (Tsao, 2010.). Sastoje se od najmanje jednog aromatskog prstena na koji je vezana jedna ili više hidroksilnih skupina (Seong i sur., 2015.). Prisutne su u svim biljkama (Hermann, 1989.); dok voće i povrće uglavnom sadrži slobodne fenolne kiseline, u žitaricama i ostalim sjemenkama dolaze u vezanom obliku (Tsao, 2010.). Hidroksicimetne kiseline najčešće dolaze u obliku jednostavnih estera s hidroksikarboksilnim kiselinama ili glukozom, dok su hidroksibenzojeve kiseline uglavnom prisutne u obliku glukozida. Nadalje, fenolne kiseline se u hrani biljnog podrijetla mogu pojavljivati kao esteri ili glikozidi konjugirani s drugim spojevima poput flavonoida, alkohola, sterola, hidroksimasnih kiselina i glukozidima (Hermann, 1989., Lattanzio, 2013.). Predstavljaju 1/3 fenolnih spojeva ljudske prehrane, a pokazuju visoku antioksidacijsku aktivnost koja ovisi o broju hidroksilnih skupina (Res Giada, 2013.). Predmet su mnogih kemijskih, bioloških, agronomskih i medicinskih istraživanja. Hidroksicimetne kiseline, kao podskupina fenolnih kiselina, su hidroksilirani derivati cimetne kiseline. Osnovna strukturna jedinica im je C6-C3 (Dewick, 2007.). Hidroksicimetne kiseline su, od fenolnih spojeva, najznačajniji fitoaleksini i alelopatski spojevi. Fitoaleksini su antibiotici slabe potentnosti koji mogu djelovati protiv mikroorganizama, životinjskih stanica i drugih biljnih stanica, doprinose otpornosti biljke na bolesti, te štite od predatora (Ahuja i sur., 2010.).

## 2.2. Sinteza biljnih fenola

Biosintetski put fenolnih spojeva u biljci uključuje putove šikiminske kiseline, fenilpropanoida i flavonoida. Kao što je spomenuto, polifenoli podrazumijevaju veliku skupinu sekundarnih metabolita. Iako se u posljednjih nekoliko godina intenzivno istražuju, detaljni koraci biosintetskih putova nisu još uvijek potpuno razjašnjeni te se u literaturi često nailazi na oprečne rezultate. Većina fenolnih kiselina su derivati trans-cimetne kiseline formirane deaminacijom L-fenilalanina uz pomoć L-fenilalaninamonijliaze (PAL). Enzim PAL povezuje primarni (biosintetski put šikiminske kiseline) sa sekundarnim metabolizmom (fenilpropanoidni biosintetski put), te ima ključnu ulogu u regulaciji sinteze fenolnih sekundarnih metabolita zbog čega je godinama upravo PAL bio najviše istraživani biljni enzim (Boudet, 2007.).

U biosintetski put fenolnih spojeva uključeno je više od šesnaest enzima iz skupine citokroma P450 monooksigenaza. Prva među njima je izolirana cinamat 4- hidroksilaza (C4H), a njezina inaktivacija u transgenim biljkama uzrokuje smanjenje količine klorogenske kiseline, flavonoida i lignina (Ruegger i Chapple, 2001., Reddy i sur., 2005.). Enzimi 3-hidroksilaze su uključene u sintezu kava kiseline iz *p*-kumarinske kiseline (Schoch i sur., 2001., Nair i sur., 2002., Franke i sur., 2002.), a važne su kod sinteze klorogenske (Mahesh i sur., 2007.) i ružmarinske kiseline (Morant i sur., 2007.). Među 5-hidroksilazama važna je ferulat 5-hidroksilaza (F5H) koja ima centralnu ulogu u sintezi lignina (Reddy i sur., 2005.). Također, u sintezi lignina sudjeluju i *p*-kumarat-CoAligaze (4CL), a enzimi iz te porodice sudjeluju i u

biosintezi flavonoida (Hu i sur., 1998.). U biosintetskom putu polifenola važnu 5 ulogu imaju i dvije cinamil alkohol dehidrogenaze: CAL1 i CAL2 koje su uključene u biosintezu lignina i lignana (Damiani i sur., 2005.).

Osim PAL enzima, fenolni spoj oksidaza (PPO) i fenolni spoj peroksidaza (PPD), dva su enzima važna za regulaciju razine fenolnih spojeva u biljci zbog uloge u oksidativnoj degradaciji fenolnih komponenata, što je bitno kod uporabe biljaka bogatih fenolnim spojevima u prehrambenoj industriji (Tomas-Barberan i Espin, 2001.). PPO je lokalizirana u plastidima viših biljaka te uz prisutnost kisika katalizira hidroksilacijumonofenola u o-difenole i oksidaciju o-difenola u o-kinone koji zatim spontano bez djelovanja enzima polimeriziraju u heterogene crne, smeđe ili crvene pigmente poznate pod nazivom melanini. Takvi procesi su bitni kod ozljede biljnog tkiva gdje dolazi do aktivacije PPO koja stvarajući spomenute polimerizirane pigmente zatvara mjesto ozljede te tako sprečava daljnje oštećenje tkiva ili ulazak insekata (Stevenson i Hurst, 2007.). PPO može djelovati i kao promotor PPD koji u prisutnosti vodikova peroksida katalizira oksidaciju polifenolnih komponenata. Aktivnost PAL, PPO i PPD ovisi o različitim vanjskim čimbenicima koji utječu na razinu polifenolnih komponenata u biljci (Tomas-Barberan i Espin, 2001.).

### 2.3. Uloga biljnih fenola u obrani biljke od biotskih i abiotskih čimbenika

Biljke proizvode širok spektar sekundarnih metabolita koji obavljaju različite funkcije. Primarni metaboliti (ugljikohidrati, aminokiseline, masne kiseline, nukleinske kiseline) važni su za sintezu strukturnih elemenata te za rast i razvoj biljaka. Uz primarne, biljka proizvodi i niz sekundarnih metabolita, tj. tvari koje su sintetizirane sekundarnim reakcijama, iz primarnih metabolita. Sekundarni metaboliti nisu neophodni za rast i razvoj biljaka, ali su vrlo važni za njihovu prilagodbu na nove okolišne uvjete. Sekundarni metaboliti štite biljku od biljojeda i raznih štetnika, djelujući negativno na njihove stanične i metaboličke procese, privlače oprašivače i životinje koje raznose sjemenke, sastavni su dijelovi nekih enzimskih kompleksa (koenzimi), posjeduju hormonsku aktivnost i imaju ulogu pri skladištenju štetnih produkata (Bourgaud i sur., 2001.). Osim važnih uloga u biljci, mnogi sekundarni metaboliti odgovorni su za pozitivan učinak biljaka na zdravlje ljudi, stoga ih se naziva i bioaktivnim tvarima. U posljednjih nekoliko godina veliki je napredak postignut u razvoju novih metoda visoke razlučivosti i osjetljivosti za analizu sekundarnih metabolita. Međutim, u biljkama postoji velik broj sekundarnih metabolita prisutnih u količinama koje su još uvijek ispod granice detekcije postojećih modernih uređaja što otežava istraživanja njihovih biosintetskih puteva (Bednarek i Osbourn, 2009.). Utvrđeno je da sekundarni metaboliti u biljci djeluju antivirusno, antibakterijski i antifungalno (Wink, 1988.). Pored toga, dokazano je da isti sudjeluju i u interakciji biljaka s drugim, konkurentskim biljkama (alelopatsko djelovanje) (Bourgaud i sur., 2001.).

Prirodni produkti aktivni u obrani biljaka mogu se razvrstati u tri široke skupine: fitoaleksini, fitoanticipini i signalne molekule. Mnogi fenilpropanoidi pokazuju antimikrobno

djelovanje širokog spektra, pa se vjeruje da pomažu biljnom organizmu u borbi s patogenim mikroorganizmima. Takvi spojevi mogu se klasificirati kao preoblikovani fitoanticipini ili inducibilni fitoaleksini. Najbolje okarakterizirani fitoaleksini koji se dobivaju od fenilpropanoidima su pterokarpani, izoflavani i izoflavanoni mahunarki, uključujući grah (*Phaseolus vulgaris*), lucernu (*Medicago sativa*), grašak (*Pisum sativum*) i soju (*Glycine max*). Prenilirani izoflavoni lupine (*Lupinus spp.*), koji se sintetiziraju tijekom razvoja sadnica, dobar su primjer fitoanticipina. (Dixon i sur., 2002.).

Ekološki stresovi poput intenzivne svjetlosti, niskih temperatura, infekcije patogenima i nedostatka hranjivih tvari mogu dovesti do povećane proizvodnje slobodnih radikala i drugih oksidacijski aktivnih tvari u biljkama. Sve veći broj dokaza upućuje na to da biljke reagiraju na biotske i abiotske faktore stresa povećavajući svoju sposobnost uklanjanja ROS. Napori da se razumije ovaj postupak, usredotočili su se na komponente klasičnog antioksidativnog sustava, tj. superoksid dismutazu, askorbat peroksidazu, katalazu, monoodehidroaskorbat reduktazu, glutation-reduktazu i antioksidanse male molekulske težine - askorbat i glutation. Međutim, relativno malo studija istraživalo je ulogu sekundarnih metaboličkih putova u odgovoru biljaka na oksidativni stres. Fenilpropanoidni put je odgovoran za sintezu različitog niza fenolnih metabolita kao što su flavonoidi, tanini, hidrokscinamatni esteri i strukturni polimer lignin. Sinteza ovih spojeva često je izazvana stresom, te oni služe određenim ulogama u zaštiti biljaka, tj. patogenezi, zaštiti od ultraljubičastog zračenja ili strukturnim komponentama stanične stijenke. Navedeni spojevi čine najbrojniju skupinu biljnih sekundarnih metabolita i imaju zajedničko podrijetlo u biosintetskom fenilpropanoidnom putu. Sezonske promjene u fotoprotektivnom sustavu i antioksidansima lišća mahonije (*Mahonia repens*) ponavlja se u odnosu na svjetlosnu okolinu. Fenilpropanoidni put stvara proizvode koji povećavaju toleranciju na široki spektar stresnih uvjeta i može također pružiti alternativni put za upotrebu fotona u uvjetima akumulacije ugljikohidrata i / ili prekomjerne apsorpcije svjetlosti. Postoje jasne indikacije da klorogena kiselina (CGA – chlorogenic acid), jedan od glavnih proizvoda ovog puta, igra opću ulogu u reakcijama na stres djelujući kao moćan antioksidans koji donira vodik i, što je još važnije, kao redukativni supstrat gvajakol peroksidaze. Čak i sinteza CGA reciklira ortofosfat i troši se redukcijski, omogućujući fotosintetsku uporabu apsorbiranih fotona i tako nadalje štiti od oksidativnog stresa (Xiong i sur., 2017.).



### 3. Biljni fenoli kao fitoaleksini

Fitoaleksini su inducibilni sekundarni metaboliti koji imaju antimikrobno djelovanje protiv fitopatogena (Ahuja i sur., 2012.).

Do sada je identificirano i okarakterizirano više od 300 fitoaleksina (Dixon i sur., 1983.). Fitoaleksini čine kemijski heterogenu skupinu tvari. Nekoliko fitoaleksina pripada skupini fenilpropanoida. Druga velika skupina fitoaleksina pripada spojevima terpenoida. Neki od fitoaleksina su alkaloidi, a neki fitoaleksini pripadaju derivatima masnih kiselina. Taksonomski srodne biljne vrste mogu proizvesti slične vrste spojeva fitoaleksina. Izoflavonoidi su česti u *Fabaceae* (Dixon, 2001.). Seskviterpenoidi su uobičajeni u *Solanaceae*, a kumarini su glavni fitoaleksini u biljkama koje pripadaju *Umbelliferae* (Vidhyasekaran, 2002.). Fitoaleksini na bazi indola, koji sadrže sumpor, jedinstveni su za *Cruciferae* (Dixon, 2001.). Postoje neke iznimke od ovih generalizacija kao što su npr. fitoaleksini stilbena koji su otkriveni u različitim biljnim vrstama kao što je vinova loza (*Vitaceae*) (Thomzik i sur., 1997.), kikiriki (*Leguminosae*) (Steffens i sur., 1989.) i šećerna trska (*Poaceae*) (Brinker i Seigler, 1991.).

U nekim interakcijama domaćin-patogen, fitoaleksini možda nemaju nikakvu ulogu u otpornosti na bolesti. Nakupljanje fitoaleksina može biti samo metabolički proces aktiviran stresom. Fitoaleksini se mogu akumulirati u osjetljivim i rezistentnim interakcijama zbog infekcije. U grašku, uzročnik, *Fusarium solani f. sp. pisi*, inducira više pisatina nego nepatogen, *F. solani f. sp. phaseoli* (Kendra i Hadwiger, 1987.). Inokulacija s *F. solani f. sp. pisi* višestruko inducira PAL u grašku i veći je od onog izazvanog nepatogenom *F. solani f. sp. phaseoli* (Loschke i sur., 1981.). Deoksiantocijanidinski fitoaleksini brzo se nakupljaju u mezokotilima i u listovima sirka nakon pokušaja gljivične infekcije patogenima kao i nepatogenima (Nicholson i sur., 1988.).

#### 3.1. Indukcija fitoaleksina u biljci

U nekim sustavima domaćin - patogen, stečenu otpornost karakterizira indukcija aktivnosti peroksidaze i lipoksigenaze koje dovode do proizvodnje derivata masnih kiselina, koji pokazuju snažno antimikrobno djelovanje. Stanična membrana je aktivno mjesto za indukciju obrambenih mehanizama (Agrios, 2004.).

Indukcija fitoaleksina može biti odgođena u osjetljivim reakcijama, a ta bi odgoda pomogla patogenu da pobjegne iz toksičnog okruženja stvorenog nakupljanjem fitoaleksina na mjestu infekcije. U istraživanju Lo i sur. (1999) demonstrirana je odgođena indukcija na primjeru infekcije sadnica sirka s gljivom *Colletotrichum sublineolum*, koja je bila slična u kompatibilnim i nekompatibilnim interakcijama. U navedenom istraživanju nakon 6 sati od inokulacije, konidije su proklijale i formirale apresorije. Infektivne vezikule nastale su unutar epidermalnih stanica na oko 36 sati nakon inokulacije. U tom se razdoblju u otpornoj sorti nakupila znatna količina crvenih pigmenata fitoaleksina. Primarne hife izašle su iz vezikule infekcije do 48 sati nakon inokulacije. Međutim, nastale gljivične strukture bile su jako

izobličene u otpornoj sorti. Nasuprot tome, fitoaleksini su se počeli nakupljati tek 48 sati nakon inokulacije u osjetljivoj interakciji, a tijekom tog vremena primarne hife su se pojavile iz vezikula infekcije. Prema istraživanju Lo i sur. (1999) prikazano je da osjetljive interakcije nisu utjecale na morfologiju i proliferaciju primarnih hifa. U osjetljivim kultivarima, značajna količina fitoaleksina akumulirala se tek 72 sata nakon inokulacije, ali je do tog vremena patogen već uspješno prodro u tkivo domaćina i proliferirao intracelularno.

Drugi primjer različite indukcije fenola fitoaleksina u biljci je onaj na primjeru gliceolina. Gliceolini I, II i III akumuliraju se sporije u inokuliranoj osjetljivoj sorti soje s *Phytophthora sojae* u usporedbi s onom u otpornoj sorti (Bhattacharyya i Ward, 1986.). Gliceolin se nakuplja u otpornim korijenima soje 2 sata nakon inokulacije patogenom, ali tek nakon 12 sati u osjetljivim korijenima. Kašnjenje u sintezi fitoaleksina u zaraženom osjetljivom domaćinu može biti posljedica odgođene stimulacije aktivnosti biosintetskih enzima fitoaleksina. U osjetljivim tkivima soje inficiranim s *P. sojae*, aktivnost biosintetskih enzima fitoaleksina ostala je ista ili je samo malo viša nego u neinokuliranim kontrolama tijekom eksperimentalnog razdoblja od 2-8 sati nakon inokulacije. Nasuprot tome, u nekompatibilnoj interakciji došlo je do rane stimulacije različitih enzimskih aktivnosti počevši 2-4 sata nakon inokulacije s nakupljanjem fitoaleksina (Hahn i sur., 1985.). U korijenju soje inokuliranom *P. sojae*, uočeno je povećanje aktivnosti dihidroksipterokarpan 6a-hidroksilaze, enzima koji katalizira proizvodnju neposrednog prekursora gliceolina, 6 sati ranije u rezistentnim nego u osjetljivom korijenju (Bonhoff i sur., 1986a,b.). Sugerira se da proizvodnja mRNA za enzime koje dovode do biosinteze fenilpropanoida u kotiledonima soje odgođena kao odgovor na infekciju s kompatibilnim patogenom, ali to je rani odgovor u nekompatibilnoj interakciji. Odgođeno otpuštanje prekursora fitoaleksina također može odgoditi sintezu fitoaleksina. Prekursori gliceolina, konjugati daidzeina prisutni su u višim razinama u kultivaru soje osjetljivoj na *P. sojae* u usporedbi s onom u otpornoj sorti. U nekompatibilnim reakcijama došlo je do izrazitog i trenutnog smanjenja razine konjugata. Te su razine pale na manje od polovice svojih izvornih razina do 24 sata i na gotovo nemjerljive razine unutar samo 48 sati. Paralelno s tim, došlo je do akumulacije slobodnog daidzeina i gliceolina. Nasuprot tome, kompatibilnu reakciju karakteriziralo je odgođeno nestajanje konjugata daidzeina, gotovo stehiometrijsko nakupljanje daidzeina i malo ili nimalo nakupljanje gliceolina. U kompatibilnim reakcijama sintetizirane su samo niske razine gliceolina unatoč nakupljanju vrlo velikih količina slobodnog daidzeina. To sugerira da u trenutku kada se izoflavoni oslobode, većina stanica u osjetljivim inficiranim tkivima više nije sposobna za biosintezu gliceolina. Odgođeno otpuštanje daidzeina iz njegovih konjugata može biti važno u patogenezi patogena (Graham i sur., 1990.).

### 3.2. Sinteza, translokacija i akumulacija fitoaleksina u biljci

Jednom nakon što je došlo do indukcije fitoaleksina zbog napada patogena, dolazi do njihove sinteze u napadnutim stanicama. Do otpuštanja ovih fitoaleksina može doći u ovisnosti o mjestu infekcije. Mjesto sinteze i nakupljanja fitoaleksina proučavana je u interakcijama sirka (*Sorghum*) i gljive iz roda *Colletotrichum*. Zabilježeno je da se tri fitoaleksina iz spojeva deoksiantocijanidina akumuliraju u sirku kao odgovor na gljivičnu infekciju (Hipskind i sur., 1990.), važni fitoaleksini su luteolinidin i apigenidin (Snyder i sur., 1991.). Ovi fitoaleksini su pigmentirani i oni se najprije akumuliraju u stanici koja je uglavnom podvrgnuta napadu gljive *Colletotrichum graminicola*. Subcelularne inkluzije poput vezikula pojavljuju se u stanici domaćina na kojoj je formiran apresorij (miceliji gljive parazita), migriraju na mjesto pričvršćivanja apresorija, spajaju se i na kraju pucaju otpuštajući svoj sadržaj u samu stanicu domaćina (Snyder i Nicholson, 1990.). Inkluzije su usmjerene na mjesta prodora gljiva. Jezgrina migracija, strujanje citoplazme i određeni unutarstanični pH stanični su mehanizmi koji osiguravaju okruženje za promet inkluzijama i otpuštanje fitoaleksina do mjesta prodiranja (Nielsen i sur., 2004.). Fitoaleksini se također mogu i izlučivati iz stanica što je pokazano korištenjem staničnih kultura krumpira. Lubimin, rišitin i solavetivon su važni fitoaleksini krumpira koji se akumuliraju u suspenzijski kulturama stanica krumpira inokuliranima s nekompatibilnom ili kompatibilnom rasom fitopatogene pseudogljive *Phytophthora infestans*. Veliki udio svakog fitoaleksina u mediju kulture sugerira da se fitoaleksini difundiraju u medij iz stanica u kojima su bili sintetizirani. Moguće je da se fitoaleksini sintetiziraju u zdravim živim stanicama, a zatim izlaze i akumuliraju se u susjednom nekrotičnom tkivu (Brindle i sur., 1983.).

U nekim osjetljivim interakcijama može se akumulirati samo manja količina fitoaleksina u usporedbi s tim u rezistentnim interakcijama. U otpornim biljkama zobi, fitoaleksin avenalumin nakuplja se u većim količinama u usporedbi s onim u osjetljivim biljkama, a hife infekcije *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* bile su značajno kraće kod otpornih biljaka zobi (Mayama i sur., 1995.). Infekcija lišća boba (*Vicia faba* L.) s *Botrytis fabae* rezultirala je nakupljanje fitoaleksina wyeronske kiseline u otpornim i osjetljivim kultivarima boba. Brzo nakupljanje wyeronske kiseline uočeno je u listovima otpornih kultivara koji su dosegli razine više nego dvostruke od osjetljivih kultivara (Nawar i Kutí, 2003.).

Osjetljivo lišće soje inokulirano s *P. sojae* akumulira manje količine gliceolina od otpornog lišća soje (Ebel i Grisebach, 1988.). Dva fitoaleksina [1,3-dion-5-oktil-ciklopentaen (tsibulin 1d) i 1,3-dion-5-heksil-ciklopentaen (tsibulin 2d)] akumulirala su se do vrlo visoke razine kada su lukovice luka bile inokulirane nepatogenom. Kada je patogen luka, *Botrytis allii*, inokuliran, nakupljanje fitoaleksina bilo je gotovo zanemarivo (Dmitriev i sur., 1990.). Kada su osjetljive i otporne sorte slanutka inokulirane s *Ascochyta rabiei*, povećanje medikarpina bilo je zanemarivo u osjetljivom kultivaru, a drugi fitoaleksin, maackiain, uopće se nije mogao

detektirati. Nasuprot tome, otporna sorta pokazala je nakupljanje velikih količina oba fitoaleksina (Weigand i sur., 1986.).

Biljke nakupljaju više spojeva fitoaleksina. Na primjer, luteolinidin, 5-metoksiluteolinidin, apigeninidin i ester kofeinske kiseline 5-O-arabinozil-apigenidina otkriveni su kao fitoaleksini u sirku. Sva četiri fitoaleksina akumulirana su u rezistentnoj sorti nakon inokulacije s *Colletotrichum sublineolum*, dok su se samo apigeninidin i ester kofeinske kiseline 5-O-arabinozil apigeninidina akumulirali u osjetljivim interakcijama. Biotestovi *In vitro* ispitivanja pokazali su da luteolinidin i 5-metoksiluteolinidin imaju veću toksičnost za patogen od druge dvije komponente fitoaleksina (Lo i sur., 1999.)

Iako se nekoliko fitoaleksina inducira u rezistentnim i osjetljivim interakcijama, za neke od njih utvrđeno je da su inducirani samo u rezistentnim interakcijama. Na primjer, fitoaleksin luteolinidin induciran je samo u rezistentnim interakcijama u inokuliranom sirku s *Colletotrichum sublineolum* (Lo i sur., 1999.). Kulture stanične suspenzije kultivara jabuke otporne na krastavost proizvele su benzofuran fitoaleksin, 2,4- metoksi-3-hidroksi-9-O b-D-glukoziloksidibenzofuran (malusfuran), u vrijeme stresa. Suspenzijske kulture sorte jabuke osjetljive na krastavost, kada su bile izložene na sličan način nisu pokazale mjerljiv odgovor (Hrazdina i sur., 1997.).

### 3.3. Interakcija fitoaleksina s patogenom

Fitoaleksini se prepoznaju samo na temelju svoje antimikrobne aktivnosti (VanEtten i sur., 1994.). Za većinu njih je prijavljeno da su visoko fungitoksični (Schutt i Netzly, 1991., Hrazdina i sur., 1997.; Lo i sur., 1999.). Malusfuran, fitoaleksin iz jabuke (*Malus domestica*), inhibira klijanje spora i rast *Venturia inaequalis* u milimolarnim koncentracijama (Hrazdina i sur., 1997.), rižin fitoaleksin, sakuranetin visoko inhibira klijanje spora *Magnaporthe grisea* (Kodama i sur., 1992), resveratrol inhibira rast hifa gljivičnog patogena lucerne *Phoma medicaginis* (Hipskind i Palva, 2000.), pisatin (fitoaleksin graška) inhibira rast micelija nekoliko gljiva, uključujući i patogene i nepatogene graška (Delserone i sur., 1999.), fitoaleksini antocijanidina sirka inhibiraju rast nekoliko gljivica (Schutt i Netzly, 1991.), medicarpin, fitoaleksin lucerne, inhibira rast micelija *Phoma medicaginis*, *Nectria haematococca* i *Phytophthora megasperma f. sp. Medicaginis* (Blount i sur., 1992.). Etanolni ekstrakt wyeronske kiseline u stanju je značajno smanjiti klijanje spora *Botrytis fabae* s u većim koncentracijama, ali fitoaleksin nema nikakav učinak na *in vitro* rast klica *B. fabae* (Nawar i Kutu, 2003.). Fitoaleksini mogu potisnuti proizvodnju toksina od strane patogena. *Fusarium sporotrichoides* je uzročnik fuzarioze pastirnaka (*Pastinaca sativa*), proizvodi trihotecene, koji su snažnog učinka (Manka i sur., 1985.), također toksini se mogu izolirati iz oboljelih biljnih tkiva (Miller i sur., 1985.). Ksantotoksin i angelicin su furanokumarinski fitoaleksini u pastrnjaku (Desjardins i sur., 1989b.). Proizvodnja trihotecenskog toksina pomoću *F.*

*sporotrichoides* bila je potpuno inhibirana furanokumarinima u koncentracijama znatno nižim od onih za koje je prijavljeno da se nakupljaju u zaraženom pastrnjaku (Desjardins i sur., 1988.). U tkivima korijena pastrnjaka zaraženima s *F. sporotrichoides*, ksantotoksin i angelicin akumulirali su se u visokim razinama, dok je trihotecen toksin bio prisutan samo u niskim razinama. Trihodien, prekursor toksina, koji se nakupljao, ne može se otkriti u tekućoj kulturi. Nasuprot tome, u korijenu pastrnjaka, kuhanom u mikrovalnoj pećnici zaraženom gljivicom, otkrivene su vrlo niske razine furanokumarina i trihodiena, a razina trihotecenskog toksina bila je usporediva s onom opaženom u tekućim kulturama (Desjardins i sur., 1989b.).

### 3.3.1. Detoksifikacija

Zabilježeno je da patogeni detoksificiraju fitoaleksine domaćina. Uzročnici bolesti graška su vrlo tolerantni na fitoaleksin pisatin iz graška i poznato je da detoksificiraju pisatin (VanEtten i sur., 1989.). Tolerancija na fitoaleksin i procesi detoksikacije detaljno su proučavani na populaciji *Nectria haematococca* MP VI (anamorf *Fusarium solani* f. sp. *pisi*), patogenu graška.

Patogeni mogu potisnuti nakupljanje fitoaleksina u osjetljivim interakcijama. Kada je lišće riže inokulirano nekompatibilnom rasom *Magnaporthe grisea*, proizvodnja fitoaleksina je otkrivena 36-48 sati nakon inokulacije, kada je počelo umetanje hifa infekcije. U to vrijeme fitoaleksin nije otkriven u lišću riže inokuliranom kompatibilnom rasom patogena. Općenito, pojava fitoaleksina bila je 12-24 sata brža u nekompatibilnoj interakciji nego u kompatibilnoj interakciji. Ova specifičnost rase je nestala kada su primijenjene spore uništene toplinom i fitoaleksin se pojavio nakon 48 sati u obje nekompatibilne i kompatibilne interakcije. Komponente zida hifa (elicitori) iz kompatibilnih i nekompatibilnih rasa *M. grisea* inducirale su sličnu količinu fitoaleksina. Rezultati sugeriraju da kompatibilni patogen može potisnuti nakupljanje fitoaleksina, dok bi njegova komponenta stanične stijenke mogla brže inducirati fitoaleksine. Specifičnost rase u izazivanju fitoaleksina uočena je kada se primjenjuju žive spore, a ne u tretmanima sa sporama ubijenim toplinom ili komponentama staničnom stijenkom hifa. Supresor ili sustav supresije u živim gljivičnim stanicama može postojati (Iwakuma i sur., 1990.).

Indukcija fitoaleksina u lišću ječma nekompatibilnom rasom *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* je potisnut preliminarnom inokulacijom s kompatibilnom rasom (Oku i sur., 1980.). Tekućina za klijanje piknospora *Mycosphaerella pinodes*, patogena graška, sadrži i pobuđivače i supresore za nakupljanje pisatina u grašku (Shiraishi i sur., 1978.; Oku i sur., 1987.). Elicitori induciraju gen PAL u grašku, dok ga supresori potiskuju (Hiramatsu i sur., 1986.). Slični elicitori i supresori izolirani su iz *P. sojae*, patogena soje (Ziegler i Pontzen, 1982.). Supresor izoliran iz patogena graška, *M. pinodes*, odgodio je nakupljanje enzima PAL i CHS mRNA za 3 sata u grašku. Došlo je do odgode od 6 sati u povećanju aktivnosti enzima PAL i do supresije

nakupljanja pisatina od 6 do 9 sati zbog tretmana supresorima (Yamada i sur., 1989.). Supresor izoliran iz *M. pinodes* potisnuo je aktivnost ATP-aze u plazma membrani graška. Dodatak elicitora nije utjecao na aktivnost ATP-aze u plazma membrani graška. Inhibicija aktivnosti ATP-aze u plazma membrani graška *in vitro* je usko povezana sa supresijom proizvodnje pisatina *in vivo* (Yoshioka i sur., 1990.).

## 4. Biljni fenoli kao fitoanticipini

Fitoanticipini su antifungalni spojevi niske molekularne mase koji su prisutni u biljkama prije zaraze gljivičnim patogenima ili se proizvode nakon infekcije isključivo od već postojećih sastavnih dijelova molekule (VanEtten i sur., 1995.). U biljkama su otkriveni brojni antifungalni fitoanticipini. Fitoanticipinima pripada nekoliko kemijskih spojeva uključujući fenolne kiseline (Luthria i Mukhopadhyay, 2006.), di- i trihidroksi fenole (Vidhyasekaran, 1988.), flavanone (Rakwal i sur., 2000.), flavonoidi (Guetsky i sur., 2005.), izoflavoni (Morkunas i sur., 2005., Wegulo i sur., 2005.), izoflavonoide (Graham i Graham, 1991.), izoflavani (Meragelman i sur., 2005.), izoflavanoni (Monache i sur., 1996.), glukozidi izoflavonoida (Graham, 1991.), furanokumarini (Lombaert i sur., 2001.), antocijanidini (Hammerschmidt i Nicholson, 1977., Vidhyasekaran, 1988.) i glukozinolati (Brader i sur., 2006.).

U biljkama je otkriveno je nekoliko fenola i fenilpropanoida koji mogu djelovati kao fitoanticipini (Vidhyasekaran, 1988.). Klorogenska kiselina i kafeinska kiselina su uobičajene fenolne kiseline otkrivene u patlidžanu (*Solanum melongena*) (Luthria i Mukhopadhyay, 2006.). Ferulinska, p-kumarinska i siringinska kiselina se obično nalaze u kultivarima pšenice (Southerton i Deverall, 1990.). Flavonoid epikatehin ima važnu ulogu kao fitoanticipin u plodovima avokada (Guetsky i sur., 2005.). Nekoliko izoflavonoida kao što su genistein i luteon otkriveni su u lupini (*Lupin luteus*) (Morkunas i sur., 2005.). Koncentracije ovih izoflavonoida porasle su u lupini nakon infekcije s *Fusarium oxysporum* (Morkunas i sur., 2005.). Daidzein, genistein i glicitein su izoflavoni otkriveni u soji, koncentracije ovih izoflavona povećavaju se nakon infekcije bakterijom *Sclerotinia sclerotiorum* (Wegulo i sur., 2005.).

Antocijanini su glikozidi antocijanidina i konačni produkti metabolizma flavonoida, te ih obično nalazimo u lišću kukuruza (Hammerschmidt i Nicholson, 1977). Furanokumarini se pojavljuju u mnogim biljkama, posebno u vrstama *Umbelliferae*, *Fabaceae*, *Rutaceae* i *Moraceae* (Pathak i sur., 1962.). Furanokumarini su heterociklički spojevi dobiveni iz kumarina dodatkom furanskog prstena na položajima 6,7 (linearni furanokumarini) ili 7,8 (angularni furanokumarini). Furanokumarini angelicin, bergapten, psoralen, trimetilpsoralen, ksantotoksin, izopimpinelin i sfondin identificirani su u biljkama celera (Ataga i sur., 1993.). Ksantotoksin i bergapten su furanokumarini otkriveni u pastrnjaku i peršinu (Lombaert i sur., 2001.).

## 4.1. Flavonoidi

Flavonoidi su polifenolni spojevi koji su u biljnom svijetu vrlo rašireni. Služe kao signalne molekule, obrana od patogenih gljivica i mikroorganizama, detoksificirajući agensi, sredstva koja potiču klijanje sjemenaka i spora, zaštita od ultraljubičastog zračenja, alelokemijski agensi, kod prilagodbe na različite okolišne čimbenike kao što su visoke i niske temperature, suša i ekstremne promjene saliniteta, a zbog živih boja privlače oprašivače i životinje koje se hrane plodovima te time potpomažu reprodukciju (Von Elbe i Schwartz, 1996., Davies, 2000.). Modifikacije uvjetuju brojne reakcije poput dimerizacije, metilacije, glikozilacije hidroksilnih grupa i flavonoidne jezgre, hidrogenacije ili hidroksilacije (Hassan i Mathesius, 2012., Sugiyama i Yazaki, 2014.). Zahvaljujući tim brojnim reakcijama flavonoidi se mogu pojavljivati kao metilirani derivati ili aglikoni, no najčešće ih ipak susrećemo u obliku glikozida. Flavonoide možemo podijeliti na flavone, flavanole, flavonole, flavanone, izoflavone i antocijanine sa većim ili manjim promjenama u kemijskoj strukturi (Dai i Mumper 2010.).

Brojna su pozitivna svojstva i učinci flavonoida. Poznato je da djeluju antibakterijski tako da inhibiraju enzime i ionske kanale te time spriječavaju stvaranje i širenje bolesti koje su uzrokovane različitim bakterijskim toksinima. To je moguće zahvaljujući činjenici da bakterije u svom sastavu nemaju cAMP fosfodiesterazu i lipoksigenazu, eukariotske enzime za koje se smatra da su važna mjesta djelovanja samih flavonoida. Također, flavonoidi imaju sposobnost inaktiviranja mikrobnih adhezina i enzima povezivanjem sa proteinima bakterija kovalentnim ili vodikovim vezama (Kumar i Pandey, 2013.). Veliki broj otkrivenih flavonoida i njihova različita kemijska struktura, također upućuju na to da su sve više prisutniji u biljkama. Većinom su sintetizirani iz p-kumaroil-CoA i malonil-CoA, iako postoje i oni flavonoidi koji su sintetizirani iz cimetine i dihidrokumarne kiseline (Mierziak i sur., 2014., Hassan i Mathesius, 2012.). Nakon sinteze, dolazi do njihove akumulacije najčešće na vrhu korijena, tj. u stanicama korijenove kape, dok su njihovi krajnji produkti specifično lokalizirani u određene vrste stanica i njihove organele: jezgru, vakuolu, staničnu membranu, staničnu stijenku i citoplazmu. Za njih je, osim toga, specifična i mogućnost transporta s jednog lokaliteta između različitih stanica/tkiva na drugi lokalitet, a sve to, kao i njihova sinteza, reguliraju se faktorima transkripcije (Hassan i Mathesius, 2012.).

Flavonoidi sudjeluju u obrani organizma (posebice korijena) od raznih patogena, od bakterija, gljivica, insekata, a to se većinom pripisuje njihovoj antioksidativnoj sposobnosti. Neka su istraživanja pokazala da dolazi do povećane sinteze nekih vrsta flavonoida (npr. fitoaleksina). Pretpostavlja se da je mehanizam zaštite i otpornosti na gljivice i njihove infekcije kod fitoaleksina povezan sa smrću stanice i ulaskom kalcijevih iona popraćenih alkalizacijom apoplasta kroz izmjenu kalijevih i vodikovih iona. Ta izmjena dovodi do depolarizacije membrane stanice te time dolazi do produljenog razdoblja oksidacijskog stanja. Izoflavonoidi, kao i svi flavonoidi, su izuzetno dobri antioksidansi, te se smatra da su oksidirani tijekom cijelog ovog procesa što može dovesti do stvaranja slobodnih toksičnih radikala koji će onda uzrokovati smrt stanica (Hassan i Mathesius, 2012.).



Medikarpin, izoflavonoid iz graška i lucerne, primjerice ima antimikrobna svojstva te štiti biljke od patogenih gljivica kao što je *Rhizoctonia solani*. Pisatin iz graška, također zaštićuje biljku i pridonosi njenoj otpornosti na gljivicu *Nectria haematococca* (Hassan i Mathesius, 2012.).

Szoboszlay i suradnici (2016) su u svom radu proučavali utjecaj naringenina i 7,4'-dihidroksiflavona na bakterije koje se nalaze u blizini korijenskog eksudata kod već spomenute lucerne. Kod naringenina nije pronađen pozitivan učinak, točnije nije inhibirao rast patogena u tlu, dok je 7,4'-dihidroksiflavon pokazao pozitivan rezultat te je jedan od potencijalnih kandidata flavonoida koji može utjecati na interakcije između biljke i patogenog organizma.

Jedne od štetnijih patogena koje napadaju preko 2500 biljnih vrsta domaćina, posebice rajčicu, papriku i krastavce koji se uzgajaju u plastenicima, tj zaštićenim prostorima jesu nematode. No i tu flavonoidi igraju svoju zaštitnu funkciju. Nematode su oblici mikroskopskih veličina koje možemo ubrajati među štetnike prilikom proizvodnje povrća jer nastanjuju osim tekućih i stajaćih voda, i tlo te biljke. Paraziti su na svim dijelovima biljke, ali posebice na korijenu te izazivaju biotski stres, i dovode do sušenja i propadanja biljaka. Nematode usnom bodljom probijaju i oštećuju epidermu i pritom sišu staničnu tekućinu, ali takvim oštećivanjem stanica epiderme također omogućuju ulazak drugim biljnim patogenima u biljku, poput virusa, bakterija ili gljivica (Poje, 2016.).

Različitim istraživanjima dokazano je da neki flavonoidi djeluju kao repelenti za neke vrste oblića, tj. da oni flavonoidi koji su izlučeni u rizosferu odbijaju te nametnike od korijena i zaštićuju biljku od infekcija (Hassan i Mathesius, 2012.). Flavonoidi se uvijek nalaze u blizini korijena, čineći korijenski eksudat te time pokazuju uključenost pri zaštiti biljke od ovakvih patogena, za razliku od terpena koji vrlo lako mogu ispariti (Sugiyama i Yazaki, 2014.). Kod nekih biljaka poput *Medicago truncatula* Gaertn zbog nešto manje koncentracije flavonoida, dolazi do stvaranja ozlijeda napadom nametnika, no ipak u manjoj mjeri (Hassan i Mathesius, 2012.). Kod *Plantago lanceolata* L. pronađena je veća količina glikozida, poput aukubina i katapola, u eksudatima korijena nakon što je korijen inficiran nematodama, što bi značilo da se koncentracija obrambenih spojeva povećava nakon infekcije biljke patogenim organizmima. Stoga se flavonoidima pripisuje utjecaj na ponašanje ovih nametnika, a time i zaštita različitih biljnih kultura (Dam i Bouwmeester, 2016.).

## 4.2. Salicilna kiselina

Salicilna kiselina je ubikvitorna signalna molekula uključena u različite fiziološke procese, kao što je klijanje, cvjetanje, otvaranje/zatvaranje puči i patogeneza (Lucas i Lee, 2004.). Endogena SA je ključni signal uključen u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa. Također, salicilna kiselina ima važnu ulogu u rastu biljaka, termogenezi,

cvjetanju i unosu hranjivih tvari. Utječe na biosintezu etilena, zatvaranje i otvaranje puči te također poništava učinke abscizinske kiseline (ABA) na opadanje listova (Taiz i Zeiger, 2010.).

Salicilna kiselina je okarakterizirana visokom metaboličkom i fiziološkom aktivnošću koje omogućuju obavljanje regulatorne funkcije u biljnom razvoju i reakciji na biotičke i abiotičke čimbenike stresa. U uvjetima bez stresa, salicilna kiselina je prisutna u biljnim tkivima u količinama od nekoliko mg do nekoliko ng/g svježe mase. Prema tome, salicilna kiselina je važna kao signalna molekula koja je uključena u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa (Taiz i Zeiger, 2010.).

Veliki značaj i uska povezanost sinteze proteina povezanih s patogenezom (PR) i ispoljavanja sustavno stečene otpornosti (SAR) proučavana je na biljkama u čiji je genom ugrađen gen nahG. Ove biljke ne akumuliraju salicilnu kiselinu ili PR proteine i ne induciraju SAR kao odgovor na napad patogena. Naime, funkcija nahG gena je kodiranje enzima salicilat-hidroksilaze koji hidrolizira salicilnu kiselinu u katehol. Biljke koje poseduju ovaj gen ne mogu akumulirati salicilnu kiselinu i samim tim ne ispoljavaju SAR. Eksperimenti sa nahG transformiranim biljkama pokazali su da je salicilna kiselina esencijalna signalna molekula koja omogućava ispoljavanje SAR nakon infekcije (Taiz i Zeiger, 2010.).

Aktivnost salicilne kiseline usko je povezana sa proizvodnjom raznih reaktivnih kisikovih jedinki (ROS). To je posebno važno kada se ROS proizvode na mjestu infekcije zato što mogu aktivirati apoptozu i smrt patogena. SA i ROS pokazuju međusobnu ovisnost u kontroli mnogih staničnih procesa. Istraživanja provedena na biljkama duhana, zaraženim virusom mozaika duhana pokazala su znatnu akumulaciju SA, stjecanje otpornosti te razvoj sustavne otpornosti kod ovih biljaka. Nadalje, tretman biljaka salicilnom kiselinom jedan je od najučinkovitijih načina zaštite biljaka od nepoželjnih abiotičkih i biotičkih čimbenika. Iz mnogih istraživanja proteklih godina dokazana je uloga SA kao sekundarnog glasnika u prepoznavanju i pojačavanju vanjskih signala (Krasavina, 2007.). Ova kiselina se osim u citoplazmi, pojavljuje i u apoplastu. Dobro je poznata sposobnost biljke u izlučivanju hlapljivog derivata metilsalicilata (MeSA), što se može povezati s mogućom izvan staničnom lokalizacijom SA u biljnom tkivu. Za istraživanja koja su usmjerena na proučavanje uloge salicilne kiseline u odgovoru biljaka na stresne čimbenike najčešće se upotrebljavaju tri eksperimentalna pristupa. Prvi je pristup ispitati otpornost na stres biljaka tretiranih s različitim koncentracijama salicilne kiseline. Drugi je pristup proučavanje utjecaja pojedinih čimbenika stresa na razinu salicilne kiseline u biljnim tkivima i njegovom odnosu s drugim biokemijskim i fiziološkim parametrima odgovornima za otpornost. Posljednji pristup sastoji se u testiranju otpornosti transgenih biljaka koje imaju povećane ili smanjene razine salicilne kiseline ovisno o čimbenicima stresa. Primjeri takvih istraživanja su mnogobrojni. Ispitujući učinak nedostatka vode na akumulaciju salicilne kiseline te aktivnost dva enzima koji su uključeni u sintezu SA iz fenilalanina, tj. PAL i BA2H. Bandurska i Cieślak (2012) su utvrdili da umjereni deficit vode povećava aktivnost oba enzima kao i razinu salicilne kiseline u listovima i korijenima sadnica kukuruza, ukazujući na aktivaciju alternativnog puta biosinteze salicilne kiseline u biljkama koje su izložene suši. Nadalje, salicilna kiselina akumulirana u biljkama koje rastu u uvjetima nestašice vode može se uključiti u regulaciju mehanizama odgovornih za otpornost na sušu

kroz kontrolu ravnoteže vode i aktivaciju antioksidacijskog sustava. Daljnjim je istraživanjima utvrđeno da egzogena primjena salicilne kiseline učinkovito utječe na metaboličke i fiziološke procese biljaka koji mogu povećati njihovu otpornost na sušu. Salicilna kiselina ublažava negativni učinak vodnog deficita na vodni status tkiva, provodnost vode, sadržaj klorofila, svojstva membrana i fiziološke aktivnosti biljaka. Prema tome, salicilna kiselina bi se mogla koristiti kao potencijalni regulator rasta za poboljšanje prinosa usjeva pri ograničenoj količini vode u tlu (Hayat i sur., 2010.).

### 4.3. Lignin

Lignin je visoko razgranat polimer fenilpropanskih skupina. Nakon celuloze, to je najobilnija organska tvar prisutna u biljkama. Precizna struktura lignina još uvijek nije poznata. Budući da je kovalentno vezan na celulozu i druge polisaharide stanične stijenke, vrlo ga je teško ekstrahirati iz biljnog materijala. Lignin nastaje dehidratacijskom polimerizacijom triju fenilpropanskih alkohola – koniferila, kumarila i sinapila, koji se sintetiziraju iz fenilalanina preko derivata cimetine kiseline. Građevne jedinice lignina prenose se na mjesta njegove biosinteze u obliku  $\beta$ -glikozida glukokumaril alkohola, koniferina i siringina, koji su lakše topivi u vodi i ne polimeriziraju spontano. Na mjestima sinteze lignina alkoholi se oslobađaju djelovanjem enzima  $\beta$ -glukozidaze i enzimatski se dehidriraju u radikale koji se na različite načine spajaju u tri dimenzije i ulažu između celuloznih mikrofibrila u staničnoj stijenci. Spajanje fenilpropanskih alkohola u polimer kataliziraju enzimi peroksidaze. Peroksidaze kataliziraju oksidaciju fenilpropanskih alkohola, stvarajući međuspojeve sa slobodnim radikalima koji se neenzimski kombiniraju tvoreći lignin. U molekuli lignina često postoje višestruke veze na svaku jedinicu fenilpropanskog alkohola, što rezultira kompleksnom strukturom koja se grana u tri dimenzije. Mehanička čvrstoća lignina učvršćuje stabljiku i provodna tkiva, omogućavajući uspravan rast, te provođenje vode i mineralnih tvari kroz ksilem pod negativnim tlakom, a da tkivo pritom ne kolabira (Pevalek-Kozlina, 2003.).

Lignin je ključna strukturna komponenta koja služi za očuvanje integriteta stanične stijenke, koja pruža čvrstoću vaskularnim biljkama, omogućuje transport vode i otopljenih tvari kroz provodne elemente vaskularnog sustava te osigurava fizičku prepreku za fitopatogene i druge oblike stresa iz okoliša. Lignifikacija je stanični proces u kojemu se lignin ugrađuje u staničnu stijenkicu. Ovaj se proces odvija u tri faze: (1) biosinteza monolignola u citosolu, (2) prijenos monolignola do stanične stijenke, (3) zatim njihova oksidativna dehidrogenacija i polimerizacija (Liu i C.J. 2012.). U usporedbi s ostalim polimerima stanične stijenke kao što su pektini i hemiceluloza, koji ne nastaju na staničnoj stijenci već se do nje prenose, stvaranje ligninskih polimera odvija se izravno u staničnoj stijenci oksidativnom polimerizacijom prethodno stvorenih ligninskih monomera (Barros i sur., 2015.).

Prva linija obrane od nametnika u biljci je lignin, koji se nakuplja u staničnoj stjenci, ovaj spoj zajedno s celulozom i hemicelulozom čini fizičku barijeru koja sprječava prodor u unutrašnjost stanice (Ferrer i sur., 2008.).

#### 4.4. Fenolni glukozinolati kao fitoanticipini

Glukozinolati (tioglukozidi) su sekundarni biljni metaboliti koji se uz karotenoide, fenolne spojeve (npr. flavonoide), kumarine i druge spojeve smatraju fitokemikalijama. Sami glukozinolati su fiziološki neaktivni. Tek njihovom razgradnjom, koja može biti enzimska ili neenzimska (kemijska, toplinska), oslobađaju se raznovrsni hlapljivi spojevi koji pokazuju čitav niz bioloških aktivnosti: djeluju kao antioksidansi, antibakterijski, antivirusno, protuupalno, jačaju imunološki sustav i omogućavaju stanični popravak.

Sastoje se od zajedničkog glikozidnog dijela i varijabilnog bočnog lanca (Mithen, 1992.). Glukozinolati se dobivaju iz aminokiselina biosintetskim putem koji se sastoji od dva dijela. U početku postoji faza produljenja lanca nakon koje slijedi biosinteza specifičnog dijela molekule glusinolata. Bočni lanci su izvedeni iz aminokiselina poput metionina, triptofana i fenilalanina (Underhill i sur., 1973.). Indolil glukozinolati su izvedeni iz triptofana (Mithen i Magrath, 1992.). Glikonski dio se razvija kroz složen niz općih međuprodukata koji sadrže dušik i sumpor (Underhill i sur., 1973.).

Dokazano je da su glukozinolati uključeni u otpornost na bolesti (Brader i sur., 2006.). Glukozinolati nisu toksični za gljivične patogene, ali produkti hidrolize glukozinolata su fungitoksični (Doughty i sur., 1991.). 1-metoksiglukobrasicin i sinigrin ne inhibiraju rast patogena sjemena uljane repice *Leptosphaeria maculans in vitro*. Međutim, svi glukozinolati (sinigrin, glukonapin, glukobrasicin i 1-metoksiglukobrasicin) smanjuju rast gljivica kada su dodani na kulture koje sadrže mirozinazu. Progoitrin nije fungitoksičan čak i u prisutnosti mirozinaze. Sinigrin u prisustvu mirozinaze ima najizraženiji učinak. Hlapljivi produkti sinigrina i glukonapina snažno inhibiraju *L. maculans* i nije došlo do rasta na petrijevim zdjelicama. Rezultati pokazuju da su produkti hidrolize glukozinolata fungitoksični, a ne sami glukozinolati, a toksičnost ovih proizvoda hidrolize varira među glukozinolatima. Mithen i sur. (1986.) pokazali su da su proizvodi hidrolize glukobrasicina visoko toksični za gljive. Daljnja antifungalna aktivnost produkata hidrolize može se pripisati proizvodima koji posjeduju indolnu jezgru, a ne tiocijanatni ion. Od indolnih spojeva, indolil-3-karbinol je imao najveću aktivnost (Mithen i sur., 1986.). Glukozinolati mogu poslužiti kao izvor za sintezu fitoaleksina u listovima uljane repice (Conn i sur., 1988.). Fitoaleksin ciklobrasinin nakuplja se u lišću uljane repice zbog infekcije s *Alternaria brassicae*. Ovaj spoj je izveden iz triptofana, a indolil-glukozinolati su također izvedeni iz triptofana. Stoga je predloženo da fitoaleksin bude izveden iz indolil glukozinolata (Hanley i Parsley, 1990). Fitoaleksin djeluje inhibitory na patogene.

Pokazalo se da biljke osjetljive na patogene sadrže manje glukozinolata. Tipovi gena u *Brassica oleracea* i *B. rapa* osjetljivi na *L. maculans* pokazuju manji sadržaj glukozinolata od rezistentnih genotipova (Mithen i sur., 1987a). Visoke razine otpornosti na *Peronospora parasitica* pronađene su kod divljih pripadnika skupine *B. oleracea* (Greenhalgh i Mitchell, 1976.). Divlje populacije sadrže više ukupnog sadržaja glukozinolata od kultivara (Mithen i sur., 1987b). Sorta kupusa osjetljiva na *Peronospora parasitica* sadržavala je manje koncentracije alilizotiocijanata nego osjetljive sorte (Greenhalgh i Mitchell, 1976.).

Glukozinolati, osim ako nisu hidrolizirani, nisu toksični za patogene. Hidroliza zahtijeva visoku aktivaciju mirozinaza u biljkama. Slična aktivacija se možda neće dogoditi osim ako je tkivo lista jako oštećeno kao što je ozljeda od insekata (Mithen i Magrath, 1992.). Hlapljivi derivati glukozinolata sinigrina nastaju mehaničkom maceracijom tkiva lista *Brassica*. Walker i Stahmann (1955.) zaključili su da glukozinolati možda nisu važni u otpornosti krstašica na *Plasmodiophora brassicae* budući da do hidrolize glukozida dolazi samo kada su stanice domaćina ozbiljno oštećene, ali postoji intiman kontakt plazmodija s citoplazmom napadnute stanice, što ukazuje na manje ili nikakvo oštećenje stanica domaćina. Iako je poznato da gljive također mogu proizvoditi mirozinazu, još nije utvrđeno da se u zaraženom lišću proizvodi dovoljno mirozinaze kako bi se oslobodila dovoljna količina fungitoksičnih hidrolitičkih produkata. (Mithen, 1992.).

## 5. Primjena fenola u suzbijanju biljnih patogena

Kontrola patogenih mikroorganizama jedan je od vodećih problema u poljoprivrednoj proizvodnji. Sve veće ograničenje uporabe sredstava za zaštitu bilja, uključujući i fungicide, proizašlo je iz brige za okoliš i zdravlje konzumenata, a zbog njihove redovite, često i prekomjerne uporabe, kao i neprovođenja mjera dobre poljoprivredne prakse dovelo je do vrlo intenzivnog istraživanja mogućnosti iznalaženja alternativnih ekoloških prihvatljivih fungicida (Staub, 1991., Kohl i Fokkema, 1998., Zhou i Boland, 1998.). Stoga je interes za sekundarnim metabolitima iz ekstrakata bilja i poglavito eteričnih ulja kao potencijalnih antimikrobnih agensa za uporabu u konzerviranju hrane, zaštiti usjeva i farmaceutskim primjenama porastao za vrijeme prethodnog desetljeća (Isman., 2000., Burt, 2004.). Nadalje, brzi će porast za potražnjom organski proizvedenog voća i povrća povećati potrebu za prirodnim pesticidima poput eteričnih ulja. U novije je vrijeme provedeno mnogo istraživanja o antifungalnim aktivnostima eteričnih ulja protiv gljivičnih patogena (Kalemba i Kunicka, 2003.). Poznato je kako promjena fenola u biljci čini biljku otpornijom, a postoje dva načina: promijeniti biljku (selektirati, dobiti novi kultivar) koja ima drugačiji/potencijalno bolji fenolni sastav od matičnih biljaka što je čini otpornijom na biljne patogene zbog tih fenola. I drugi način je specifičnom prihranom biljke (npr. prihrana određenim koncentracijama hraniva s Borom ili nekim drugim hranivima) promijeniti sastav i koncentraciju fenolnih spojeva u biljci (=promijeniti fenolni profil) gdje tako prihranjena biljka ima veću otpornost na patogene od iste biljke koju nismo prihranili borom/promijenili joj sastav fenola (Liakopoulos i Karabourniotis, 2005., Hegazi i sur., 2008., Pasković i sur., 2019a.).

### 5.1. Eterična ulja u suzbijanju biljnih patogena

Eterična ulja su koncentrirani prirodni proizvodi aromatičnih biljaka intenzivnog mirisa koja se upotrebljavaju još od davne prošlosti u alternativnoj medicini. Ona u sebi sadrže niz sastojaka koji mogu zaustaviti ili usporiti rast bakterija i drugih mikroorganizama (Bakkali i sur., 2008.). To su hlapive aromatske koncentrirane hidrofobne uljne tekućine koje se dobivaju iz raznih dijelova biljaka kao što su cvjetovi, pupoljci, sjemenke, listovi, grančice, kora, drvo, plodovi i korijen. Eterična ulja obično su terpenoidi odgovorni za miris i okus povezani s biljem, začinima i parfemima, a nazivaju se i hlapljivim uljima jer lako isparavaju u zrak. Glavni sastojci eteričnih ulja su mono i seskviterpeni uključujući ugljikohidrate, fenole, alkohole, etere, aldehide i ketone odgovorne za biološku aktivnost kao i njihov miris. Fenolni spojevi prisutni u eteričnim uljima također su poznati kao antimikrobne bioaktivne komponente. U prošlosti gljivične vrste roda *Aspergillus*, *Fusarium* i *Alternaria* smatrale su se glavnim biljnim patogenima u svijetu. Općenito, biljna eterična ulja i ekstrakti smatraju se nefitotoksičnim spojevima i potencijalno su učinkoviti protiv velikog broja mikroorganizama (Sahin i sur., 2004.)

Kako bakterije imaju mogućnost razvijanja otpornosti na antibiotike ne začuđuje činjenica kako je utjecaj eteričnih ulja na rast i razvoj različitih mikroorganizama već duži niz godina tema znanstvenih istraživanja. Takva istraživanja pokušavaju pronaći druga rješenja koja bi se mogla primijeniti za prevenciju i liječenje bakterijskih bolesti. Važna prednost eteričnih ulja jest to što nisu štetna za okoliš te jednostavnost njihove primjene. Nazzaro i sur. (2013.) u svojem su istraživanju naveli kako antimikrobna aktivnost eteričnih ulja i mehanizam njihova djelovanja ovise o njihovim sastojcima te na njih mogu djelovati na nekoliko načina, primjerice djelovanjem na membranu ili citoplazmu bakterija (Kalemba i Kunick, 2003.). Najjača antimikrobna svojstva u velikom broju slučajeva pokazala su eterična ulja timijana, origana, metvice, cimetovca, kadulje i klinčića. U istraživanju Oussalah i sur. (2005.) o utjecaju 28 različitih eteričnih ulja na razvoj bakterija *Escherichia coli*, *T. Escherich*, *Salmonella typhimurium* Loeffler, *Staphylococcus aureus* Rosenbach i *Listeria monocytogenes* Murray najbolja antimikrobna svojstva pokazala su eterična ulja: mravinac španjolski, cimetovac list, cimetovac list – kineski, primorski vrisak i origano. Prema posljednjem istraživanju Posavac i sur. (2014.) o utjecaju 12 eteričnih ulja na porast fitopatogene gljive *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid najbolje rezultate (nakon šest dana djelovanja) pokazalo je eterično ulje timijana, dok su vrlo slab antifungalni učinak imala eterična ulja lavande, gorke naranče i bora. U velikom broju istraživanja (Sivropoulou i sur., 1996., Marino i sur., 1999., Unlu i sur., 2010.) eterična ulja timijana, origana i cimetovca pokazala su dobro antifungalno djelovanje na različite mikroorganizme.

Yang i Clausen (2007.) ispitivali su antifungalno djelovanje sedam eteričnih ulja i njihov utjecaj na inhibiciju rasta gljiva *Aspergillus niger* van Tieghen, *Trichoderma viride* Pers. i *Penicillium chrysogenum* Thom. koristeći dvije različite metode. Ulja timijana (*Thymus zygis* L.) i egipatskog geranija (*Pelargonium graveolens* L. Herit.) inhibirala su rast svih ispitivanih gljiva tijekom 20 tjedana prilikom uporabe metode namakanja komada drveta u eterično ulje, međutim nisu djelovala inhibitorno prilikom uporabe metode u kojoj je gljiva izložena isparavanjima eteričnih ulja. Stoga se pretpostavlja da je moguće da monoterpeni koji čine eterično ulje inhibiraju klijanje spora ili vegetativni rast prilikom kontakta s gljivom. Autori pretpostavljaju da iako sva ispitivana ulja sadrže ketone u različitim količinama, inhibitorno djelovanje pojedinog ulja rezultat je djelovanja specifičnog ketona ili kombinacije komponenata koji se nalaze u ulju. Ulje ružmarina prema Suhr i Nielsen (2003.) imalo je slab inhibitorni učinak na različite plijesni (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.) prilikom uporabe metode direktne primjene ulja, dok je prilikom primjene metode isparavanja ulje pokazalo dobar inhibitorni učinak.

Inhibitorni učinak pojedinog eteričnog ulja može ovisiti o metodi koja se primjenjuje pri ispitivanju. Ulja koja se sastoje od velikih fenolnih spojeva kao što su timol i eugenol imaju bolji učinak pri direktnoj primjeni, dok ulja koja sadrže manje nefenolne hlapive spojeve, kao primjerice citral i limonen, najbolje se primjenjuju metodama gdje je gljiva izložena isparavanjima eteričnog ulja. Kombinacija različitih eteričnih ulja ili njihovih komponenti često je učinkovitija od djelovanja pojedinih komponenti kada treba kontrolirati više različitih gljiva, stoga je potrebno ispitati sinergiju među eteričnim uljima. U istraživanju Yang i Clausen (2007.)

kombinacija ulja timijana i čajevca imala je manji inhibitorni učinak nego primjena samo ulja timijana, stoga je zaključeno da u ovoj kombinaciji ulja nema sinergije, nego naprotiv, čini se da ulje čajevca umanjuje antifungalna svojstva ulja timijana. Cardwell i Dongo (1994.) ispitali su utjecaj ekstrakata iz devet biljaka na rast micelija gljive *Aspergillus flavus* L. Pojedine biljke odnosno njihovi dijelovi i ekstrakti različito su utjecali na rast micelija: inhibirali su, nisu inhibirali ili su poticali rast micelija. Sušeni plodovi biljaka *Xylopiya aethiopyca* (Dunal) A. Rich. i *Tetrapleura tetraptera* Taub. poticali su rast micelija, dok svjetli listovi biljke *Piper guineense* Schumach. nisu značajno inhibirali rast micelija, međutim, kombinacija sušenog sjemena biljaka *X. aethiopyca* i *P. guineense* potpuno je inhibirala rast micelija.

## 5.2. Uloga modifikacije fenolnog profila biljaka u zaštiti od biljnih patogena

Poznato je da neki abiotički čimbenici utječu na otpornost štetnika i bolesti (Sanzani i sur., 2012.). Za primjer ćemo uzeti maslinu (*Olea europaea* L.), jer spada u jednu od prvih kultiviranih vrsta i ima povijesnu, društvenu i ekonomsku važnost (López-Escudero i Mercado-Blanco, 2011.). Važna je kultura u mediteranskom dijelu Republike Hrvatske. Nasuprot tome, još uvijek je nejasno kako globalno zatopljenje utječe na pojavu sadašnjih štetnika masline ili patogena ili pojavu novih. Ipak, sve prakse u maslinarstvu trebale bi poticati održivost, a studije koje pojašnjavaju odnose između ishrane maslina i biotskih i abiotičkih stresova bit će od velikog interesa, posebno imajući u vidu da su Europski propisi doveli do drastičnog smanjenja broja odobrenih aktivnih tvari za suzbijanje štetnika i bolesti masline. Iako je otpornost biljaka na štetočine i bolesti genetska karakteristika, na nju također mogu utjecati i okolišni čimbenici poput ishrane bilja. Učinak ovisi o hranjivoj tvari, biljnoj vrsti i parazitu, iako može biti mali u vrlo tolerantnim ili vrlo osjetljivim sortama. Višak dušika povećava osjetljivost na pjegavost lišća masline (Fernandez-Escobar, 2019.). Del Río, Báidez, Botía i Ortuño (2003.) prijavili su učinak pojačavanja polifenola nakon primjene hranjive otopine 'Brotomax' koja sadrži urea dušik, bakar, mangan i cink. Nakon prskanja po stablima maslina, nekoliko fenolnih spojeva (tirozol, katehin, oleuropein) se povećalo u lišću i u drugim dijelovima stabla masline (Del Río i sur., 2003.).

Svjetlost je jedan od abiotičkih čimbenika koji utječu na fenolne spojeve lišća masline, posebno spojevi flavonoida. Zapravo, zaštitu od ultraljubičastog B (UV-B) zračenja osiguravaju flavonoidi i drugi fenoli, koji djeluju kao barijera protiv štetnog UV zračenja zahvaljujući njihovim maksimumima adsorpcije u UV području (Heimler i sur., 1992.). Osim toga, lišće koje je bilo izloženo suncu imalo je značajno veću koncentraciju oleuropeina i flavonoida nego lišće pod sjenom (Melgar i sur., 2009.).

Ortega-García & Peragón (2009.) izvijestili su o velikom povećanju koncentracije oleuropeina u lišću nakon što je maslina bila izložena na hladnijem vremenu. Visoka koncentracija oleuropeina može biti povezana s njegovim antioksidativnim kapacitetom i



stoga, oleuropein može zaštititi od oksidativnog oštećenja izazvanog smrzavanjem. Rahioui i sur. (2009.) su pokazali da četiri porodice polifenola: derivati hidroksicimeta, derivati oleuropeina, derivati tirozola i flavonolni monoglukozidi, su odgovorni za otpornost stabla masline na bolest pjegavosti lišća koju uzrokuje *Fusicladium oleagineum* (*Spilocaea oleagina*).

Studije provedene na fenolnim spojevima u lišću masline pokazuju da su genotipovi jedan od najvažnijih čimbenika koji doprinose razlikama u kvantitativnom određivanju fenolnih spojeva (Savournin i sur., 2001.).

Utvrđeno je da fenolni spojevi kvalitativno i kvantitativno variraju ovisno o nekoliko čimbenika kao što su nedostatak vode, salinitet, gnojidba, zemljopisna zona, razdoblje u godini i klimatski uvjeti. Isto tako, drugi biotički čimbenici kao što su napadi gljiva i bakterija, genotip, nosivost i starost lišća značajno utječe na sadržaj ovih spojeva u lišću. Ovo je prvi put da su pregledani abiotički i biotički čimbenici koji utječu na fenole u lišću masline. Fenolni spojevi dio su obrambenog mehanizma masline, a koncentracija pojedinog fenolnog spoja u listu masline mogući je pokazatelj tolerantnosti sorte na specifične bakterijske i gljivične patogene (Markakis i sur., 2010.).

Bor (B) je esencijalan biogeni element čiji nedostatak može značajno ograničiti rast, razvoj, prinos i kvalitetu ploda masline (Fernández-Escobar, 2016.). Folijarna primjena gnojiva s B uobičajena je praksa u maslinarskoj proizvodnji (Perica i Čmelik, 2007.), međutim odgovor masline na nedostatak B nije dovoljno istražen (Chatzissavvidis i Therios, 2010.). Bor sudjeluje u različitim fiziološkim i biokemijskim procesima u stanicama (Mousavi i Motesharezadeh, 2020.), a metabolizam fenolnih spojeva jedan je od tih procesa (Broadley i sur., 2012.). Poznato je da nedostatak B može utjecati na promjene u fenolom profilu biljke (Tekaya i sur., 2016.). Naime, nedostatak B može dovesti do povećanja koncentracije fenola u listu masline različitim mehanizmima, poput: i) indukcije fenilpropanoidnog biosintetskog puta reduciranjem porasta biljke i ugradnjom ligninskih perkursora, ii) povećanjem aktivnosti fenilalanin-amonij-lijaze (PAL), iii) povećanjem koncentracije fenolnih kiselina (cis-dihidroksil struktura) koje formiraju kompleks cis-dihidroksil-borata s citoplazmatskom bornom kiselinom (Liakopoulos i Karabourniotis, 2005.). U maslinarskoj proizvodnji Hrvatske, jedna od najzastupljenijih udomaćenih sorata je 'Istarska bjelica'. Značajne karakteristike ove sorte su visoki sadržaj fenola i tolerantnost na pojedine abiotičke i biotičke stresove (Benčić i sur., 2009.). Ipak, prema dostupnoj literaturi, utjecaj ishranjenosti B na fenolni profil lista masline sorte 'Istarske bjelica' do sada nije istražen (Liakopoulos i Karabourniotis, 2005.).

## 6. Zaključna razmatranja

Fenolni spojevi imaju veliki značaj kako za biljke, tako i za ljude. Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti biljaka i uloge u njihovom organizmu su razne kao na primjer obrana od herbivornih organizama, sudjeluju u mehaničkoj potpori, privlačenju oprašivača i rasprostranjivača plodova ili redukciji rasta susjednih biljaka.

U biljkama je otkriveno nekoliko sekundarnih metabolita protiv gljivica. Neki od ovih metabolita se sintetiziraju kao odgovor na infekciju (fitoaleksini), dok su drugi preformirani infektivni inhibitori (fitoanticipini).

Transkripcijska aktivacija enzima uključenih u biosintezu fitoaleksina uočena je unutar nekoliko minuta nakon prepoznavanja invazije patogena. Fitoaleksine mogu sintetizirati žive stanice koje su podvrgnute napadu patogena i izlučuju se iz tih stanica prema mjestu infekcije. Izlučeni fitoaleksini inhibiraju klijanje gljivičnih spora i rast hifa. Oni također mogu potisnuti proizvodnju toksina od strane patogena. Međutim, potencijalni patogeni mogu detoksificirati fitoaleksine svog domaćina. Oni proizvode specijalizirane enzime za razgradnju ovih fitoaleksina. Čini se da su ti enzimi faktori patogenosti i pokazalo se da su bitni za patogenezu gljivica. Indukcija sinteze fitoaleksina je odgođena u osjetljivim interakcijama u usporedbi s rezistentnim interakcijama. Vjerojatno bi se fitoaleksini akumulirali u vrijeme kada je patogen već napao tkiva domaćina. Ovo kašnjenje može biti posljedica odgođenog otpuštanja elicitora iz stanice gljiva. Čak i količina otpuštanja elicitora može biti manja u kompatibilnim interakcijama, a indukcija fitoaleksina općenito ovisi o dozi elicitora. Količina proizvedenih fitoaleksina možda neće biti dovoljna da inhibira rast patogena u osjetljivoj interakciji. Supresori sinteze fitoaleksina otkriveni su u nekim virulentnim patogenima. Tekućine za klijanje spora nekih patogena sadrže i elicitore i supresore, a njihova interakcija može odrediti osjetljivost ili otpornost. Svaka biljka domaćin proizvodi nekoliko fitoaleksina, ponekad čak i strukturno vrlo različitih. Svi ovi fitoaleksini možda nisu jednako fungitoksični i pokazalo se da neki manje toksični fitoaleksini sami se nakupljaju u osjetljivim interakcijama. Neki fitoaleksini možda nemaju nikakvu ulogu u patogenezi gljivica.

U biljkama je otkriveno nekoliko fitoanticipina. Nekoliko fenola djeluje kao fitoanticipini, a većina ih je vrlo toksična za gljivične patogene. Potencijalni patogeni razgrađuju te fenole u netoksične ili manje toksične. U tekućini za klijanje spora identificirani su specifični enzimi koji razgrađuju fenole. Patogeni mogu potisnuti povećanu sintezu fenola u osjetljivim tkivima, vjerojatno potiskivanjem enzima biosinteze fenola. Supresori mogu proizvoditi patogeni i oni mogu potisnuti nakupljanje fenola u zoni infekcije. Toksini koje proizvode patogeni također mogu potisnuti nakupljanje ovih fenola. Neki se fenoli možda neće akumulirati do fungitoksične razine na mjestu infekcije.

Lista flavonoida, kao i njihovi pozitivni učinci, sve više i više raste te upravo zbog tih korisnih primjena, ove kemijske spojeve treba prestatu zanemarivati. Njihove brojne uloge u

rizosferi, počevši od sudjelovanja u mikorizi, zaštite od raznih štetočina i infekcija mikroorganizama, alelopatije i djelovanja kao signalnih molekula u procesu nodulacije, pa sve do sudjelovanja u hormonalnoj regulaciji rasta biljaka, doprinose boljem razvoju korijena u toj zoni koji i je osnova za što bolji rast i razvoj biljke. Iako se već dosta zna o ovim sekundarnim metabolitima, današnji značajan razvoj tehnologije, kao i dosadašnji napreci u biologiji, mogu itekako doprinijeti boljem i detaljnijem razumijevanju njihove uloge u interakcijama sa drugim biljkama i patogenim organizmima.

Poboljšanje vodnog statusa u listovima sprječavanjem dehidracije kod vodnog deficita i ograničavanje redukcije provodnosti puči primjenom salicilne kiseline ima pozitivnu ulogu u održavanju fotosintetskih aktivnosti i smanjenju oštećenja. Iz svega navedenog, može se zaključiti da je salicilna kiselina jedna od ključnih komponenti za normalno funkcioniranje biljaka, ali i za opstanak biljaka u uvjetima biotičkog i abiotičkog stresa.

Peroksidaze i lakaze ključni enzimi u lignifikaciji staničnih stijenki živih stanica, a svaki od enzima uključen je u ovaj proces nekom svojom specifičnom aktivnošću i ulogom. Svojim zajedničkim djelovanjem ovi enzimi omogućuju stvaranje lignina, koji je pak ključna makromolekula u održavanju mehaničke čvrstoće biljne stabljike.

Glukozinolati igraju važnu ulogu u suzbijanju gljivične patogeneze u križancima. Produkti hidrolize glukozinolata vrlo su fungitoksični. Osim ako tkivo nije oštećeno, glukozinolati se možda neće hidrolizirati i postati toksični. Neki patogeni proizvode mirozinazu za hidrolizu glukozinolata. Točna uloga ovih glukozinolata u patogenezi gljivica nije poznata. Endogena salicilna kiselina je ključna signalna molekula uključena u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa.

U biljkama je opisano nekoliko stotina sekundarnih metabolita, većina ih je vrlo otrovna za gljive. Međutim, virulentni patogeni razvili su vlastite mehanizme za njihovu detoksikaciju i izazivanje bolesti. Poznavanje ovih mehanizama detoksikacije može pomoći u razvoju novih metoda liječenja bolesti.

## 7. Literatura

1. Agrios GN. (2004). Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press. San Diego.
2. Ahuja I., Kissen R. and Bones A.M. (2012). Phytoalexins in defense against pathogens. Trends Plant Sci. 17: 73–90.
3. Ahuja I., Rohloff J. and Bones A. M. (2010). Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. Agronomy for Sustainable Development. 30: 311–348.
4. Alok S., Jain S. K., Verma A., Kumar M., Mahor A. i Sabharwal M. (2014). Herbal antioxidant in clinical practice: a review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 1: 78–84.
5. Ataga A.E., Epton H.A.S. and Frost R.R. (1993). Effect of virus infection on the concentration of furanocoumarins in celery (*Apium graveolens* L. var. dulce Mill. D.C.). Physiol. Mol. Plant Pathol. 42: 161–168.
6. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M., (2008). Biological effects of essential oils. Rev. Food Chem. Toxicol. 46: 446–475.
7. Bandurska H. and Cies´lak, M. (2012). The interactive effect of water deficit and UV-B radiation on salicylic acid accumulation in barley roots and leaves. Environmental and Experimental Botany.
8. Barros J., Serk H., Granlund I. and Pesquet E. (2015). The cell biology of lignification in higher plants. Annals of Botany. 15: 1053-1074.
9. Bednarek P. and Osbourn A. (2009). Plant-microbe interactions: Chemical diversity in plant defense. Science 324: 746-748.
10. Benčić Đ., Cukon J. i Gunjača J. (2009). Morfološka različitost fenotipova masline (*Olea europaea* L.) lokalnog naziva “Bjelice” u Istri. Sjemenarstvo, 26 (1-2): 39-46.
11. Bhattacharyya M.K. and Ward E.W.B. (1986). Resistance, susceptibility and accumulation of glyceollin I-III in soybean organs inoculated with *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 29: 227–237.
12. Blount J.W., Dixon R.A. and Paiva N.L. (1992). Stress responses in alfalfa (*Medicago sativa* L.). XVI. Antifungal activity of medicarpin and its biosynthetic precursors; implications for the genetic manipulation of stress metabolites. Physiol. Mol. Plant Pathol 41: 333–349.
13. Bonhoff A., Loyal R., Ebel J. and Grisebach H. (1986a). Race: cultivar specific induction of enzymes related to phytoalexin biosynthesis in soybean roots following infection

- with *Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea*. Arch. Biochem. Biophys. 246: 149–154.
14. Bonhoff A., Loyal R., Feller K., Ebel J. and Grisebach H. (1986b). Further investigations of race: cultivar-specific induction of enzymes related to phytoalexin biosynthesis in soybean roots following infection with *Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea*. Biol. Chem. Hoppe. Seyler 367: 797–802.
  15. Boudet A.-M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. Phytochemistry. 68: 2722-2735.
  16. Bourgaud F., Gravot A., Milesi S. and Gontier E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science 161: 839-851.
  17. Brader G., Mikkelsen M.D., Halkier B.A. and Palva E.T. (2006). Altering glucosinolate profile modulates disease resistance in plants. Plant J., 46: 758–760.
  18. Brindle P.A. and Threlfall D.R. (1983). The metabolism of phytoalexins. Biochem. Soc. Trans. 11: 516–522.
  19. Brinker A.M. and Seigler D.S. (1991). Isolation and identification of piceatannol as a phytoalexin from sugarcane. Phytochemistry. 30: 3229–3232.
  20. Broadley M., Brown P., Cakmak I., Rengel Z. and Zhao F. (2012). Function of Nutrients: Micronutrients. U: Marschner, P.,ur. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. London. UK. Academic Press. Elsevier.
  21. Burt S. (2004). Essential oils their antibacterial properties and potential applications in foods review. International Journal of Food Microbiology. 223–253.
  22. Cardwell K.F. and Dongo L. (1994). Effect of extracts from nine plant species found in Africa on the mycelial growth of *Aspergillus flavus* Link. Proc. of 6th IWCSPP. Canberra, Australia. 978-980.
  23. Chatzissavvidis C. and Therios I. (2010). Response of four olive (*Olea europaea* L.) cultivars to six B concentrations: Growth performance, nutrient status and gas exchange parameters. Scientia Horticulturae. 127: 39-38.
  24. Conn K.I., Tewari J.P. and Dahiya J.S. (1988). Resistance to *Alternaria brassicae* and phytoalexin elicitation in rapeseed and other crucifers. Plant Sci. 56: 21–2.
  25. Dai J. and Mumper R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Molecules. 15(10): 7313-7352.
  26. Dai J. and Mumper R.J. (2010). Plantphenolics: extraction, analysis and the antioxidant and anticancer properties. Molecules. 15: 7313-7352.
  27. Dam N.M. and Bouwmeester H.J. (2016). Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. Trends in Plant Science. 21: 256-265.

28. Damiani I., Morreel K., Danoun S., Goeminne G., Yahiaoui N., Marque C., Kopka J., Messens E., Goffner D., Boerjan W., Boudet A.-M. and Rochange S. (2005). Metabolite profiling reveals a role for atypical cinnamyl alcohol dehydrogenase CAD1 in the synthesis of coniferyl alcohol in tobacco xylem. *Plant Molecular Biology*. 59: 753-769.
29. Davies K. M. (2000). Plant colour and fragrance U: Verpoorte R. i Alfermann A. W. (ur.) *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Dordercht / Boston / London. Kluwer Academic Publishers, str. 127-153.
30. Del Río J. A., Báidez A. G., Botía J. M. and Ortuño A. (2003). Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chemistry*. 83: 75–78.
31. Delserone L.M., McCluskey K., Matthews D.E. and VanEtten, H.D. (1999). Pisatin demethylation by fungal pathogens and nonpathogens of pea: association with pisatin tolerance and virulence. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55: 317–326.
32. Desjardins A.E. and Gardner H.W. (1989). Genetic analysis in *Gibberella pulicaris*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2:26–34.
33. Desjardins A.E., Plattner R.D. and Spencer G.F. (1988). Inhibition of trichothecene toxin biosynthesis by naturally occurring shikimate aromatics. *Phytochemistry* 27: 767–771.
34. Desjardins A.E., Spencer G.F., Plattner R.D. and Beremand M.N. (1989b). Furanocoumarin phytoalexins, trichothecene toxins, and infection of *Pastinaca sativa* by *Fusarium sporotrichoides*. *Phytopathology* 79: 170–175.
35. Dewick P. (2007). Technological Change and the Environmental Impact of Food Production and Consumption. *Journal of Industrial Ecology*. Vol. 11, No. 3, pp. 133-146.
36. Dixon R.A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411: 843–847.
37. Dixon R.A. and Harrison M.J. (1990). Activation, structure and organization of genes involved in microbial defense in plants. *Adv. Genet.* 28: 165–234.
38. Dixon R.A., Achnine L., Kota P., Liu C.J., Reddy M.S.S. and Wang L. (2002.). The phenylpropanoid pathway and plant defence - A genomics perspective. *Molecular Plant Pathology* 3: 371-390.
39. Dixon R.A., Dey P.M. and Lamb C.J. (1983a). Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol. Related Areas Mol. Biol.* 55: 1–136.

40. Dixon R.A., Dey P.M., Lawton M.A. and Lamb C.J. (1983b). Phytoalexin production in French bean. Intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 71: 251–256.
41. Dmitriev A.P., Tverskoy L.A., Kozlovsky A.G. and Grodzinsky D.M. (1990). Phytoalexins from onion and their role in disease resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 37: 235–244.
42. Doughty K.J., Porter A.J.R., Morton A.M., Kiddle G., Bock C.H. and Wallsgrave R. (1991). Variation in the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. II. Response to infection by *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc., *Ann. Appl. Biol.* 118: 469–477.
43. Ebel J. and Grisebach H. (1988). Defense strategies of soybean against the fungus *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*: a molecular analysis. *Trends Biol. Sci.* 13: 23–27.
44. Fernandez-Escobar R. (2019). Olive Nutritional Status and Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses. Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain.
45. Fernández-Escobar R. (2019). Olive Nutritional Status and Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses. *Frontiers in Plant Science.* 10: 1151.
46. Ferrer J.-L., Austin M. B., Stewart C. and Noel J. P. (2008). Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry.* 46(3), 356–370.
47. Franke R., Humphreys J-M., Hemm M-R., Denault J-W., Ruegger MO., Cusumano J-C. and Chapple C. (2002). The Arabidopsis REF8 gene encodes the 3-hydroxylase of phenylpropanoid metabolism. *Plant Journal.* 30: 33-45.
48. Graham M.Y. and Graham T.L. (1991). Rapid accumulation of anionic peroxidases and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* wall glucan. *Plant Physiol.* 97: 1445–1455.
49. Graham T.L. (1991). Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soybean seedling tissues and seed and root exudates. *Plant Physiol.* 95: 594–603.
50. Graham T.L., Kim J.E. and Graham M.Y. (1990). Role of constitutive isoflavone conjugates in the accumulation of glyceollin in soybean infected with *Phytophthora megasperma*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 3: 157–166.
51. Greenhalgh J.R. and Mitchell N.D. (1976). The involvement of flavour volatiles in the resistance to downy mildew of wild and cultivated forms of *Brassica oleracea*. *New Phytol.* 77: 391–398.

52. Guetsky I., Kobiler I., Wang N., Perlman N., Gollop N., Avila-Quezada G., Hadar I. and Prusky D. (2005). Metabolism of the flavonoid epicatechin by laccase of *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on pathogenicity on avocado fruits. *Phytopathology* 95: 1341–1348.
53. Hahn M.G., Bonhoff A. and Grisebach H. (1985). Quantitative localization of the phytoalexin glyceollin I in relation to fungal hyphae in soybean roots infected with *Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea*. *Plant Physiol.* 77: 591–601.
54. Hammerschmidt R. and Nicholson R.L. (1977). Resistance of maize to anthracnose: effect of light intensity on lesion development. *Phytopathology* 67: 247–250.
55. Hanley A.H. and Parsley K.R. (1990). Identification of 1-methoxyindolyl-3-methyl isothiocyanate as an indole glucosinolate breakdown product. *Phytochemistry* 29: 769–771.
56. Hassan S. and Mathesius U. (2012). The role of flavonoids in root-rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant-microbe interactions. *Journal of Experimental Botany.* 63(9): 1-16.
57. Hayat Q., Hayat S., Ifran M. and Ahmad A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany.* 68, 14–25.
58. Heimler D., Pieroni M., Tattini A. and Cimato A. (1992). Determination of flavonoids, flavonoid glycosides and biflavonoids in *Olea europaea* L. Leaves. *Chromatographia.* 33: 369–373.
59. Herrmann K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 4: 315-347.
60. Hipskind J.D. and Palva N.L. (2000). Constitutive accumulation of a resveratrol-glucoside in transgenic alfalfa increases resistance to *Phoma medicaginis*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13: 551–562.
61. Hipskind J.D., Hanau R., Leite B. and Nicholson R.L. (1990). Phytoalexin synthesis in sorghum identification of an apigeninidin acyl ester. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36: 381–396.
62. Hiramatsu I., Ichinose Y., Shiraishi T., Oku, H. and Ouchi S. (1986). Regulation of pisatin biosynthesis in pea leaves by elicitor and suppressor produced by *Mycosphaerella pinodes*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 52: 53–58.
63. Hrazdina G., Borejsza-Wysocki W. and Lester C. (1997). Phytoalexin production in an apple cultivar resistant to *Venturia inaequalis*. *Phytopathology* 87: 868–876.



64. Hu W.J., Kawaoka, A., Tsai C.J., Lung J., Osakbe K., Ebinuma H. and Chiang V.L. (1998). Compartmentalized expression of two structurally and functionally distinct 4-coumarate: CoA ligase genes in aspen (*Populus tremuloides*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95: 5407-5412.
65. Isman M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603–608.
66. Iwakuma T., Ataka Y., Matsuyama N. and Wakimoto, S. (1990). Phytoalexin production elicited by *Pyricularia oryzae* infection and its hyphal wall-component treatment in rice leaves. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 56: 665–670.
67. Jurišić Grubešić R., Kremer D., Vladimir-Knežević S. and Vuković Rodríguez J. (2012). Analysis of polyphenols, phytosterols, and bitter principles in *Teucrium L.* species. *Central European Journal of Biology*. 7: 542-550.
68. Kalemba D. and Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Currnet Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.
69. Kendra D.F. and Hadwiger L. (1987). Calcium and calmodulin may not regulate the disease resistance and pisatin formation responses of *Pisum sativum* to chitosan or *Fusarium solani*. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 31: 337–348.
70. Kohl J. and Fokkema N.J., (1998). Biological control of *Botrytis cinerea* by suppression of sporulation. *Brighton Crop Prot. Conf. - Pests i Diseases 7C*: 681-686.
71. Krasavina M. S. (2007). Effect of salicylic acid on solute transport in plants. In *Salicylic acid: A plant hormone* (pp. 25-68). Springer Netherlands.
72. Kumar S. and Pandey A.K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids. An Overview. *The Scientific World Journal*. 1-16.
73. Lattanzio V. (2013). Phenolic compounds: introduction. U: Ramawat K. G., Mérillon J-M (ur.) *Natural products. Phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes*. Berlin Heidelberg. Springer-Verlag, str 1543-1580.
74. Liakopoulos G. and Karabourniotis G. (2005). Boron deficiency and concentrations and composition of phenolic compounds in *Olea europaea* leaves: a combined growth chamber and field study. *Tree physiology*. 25 (3): 307-315.
75. Liu C.J. (2012). Deciphering the enigma of lignification: Precursor transport, oxidation, and the topochemistry of lignin assembly. *Molecular Plant*. 5: 304-317.
76. Lo S.C., Hipskind J.D. and Nicholson R.L. (1999). cDNA cloning of a sorghum pathogenesis-related protein (PR-10) and differential expression of defense-related genes following inoculation with *Cochliobolus heterostrophus* or *Colletotrichum sublineolum*. *Mol. Plant Microbe Interact*. 12: 479–489.

77. Lombaert G.A., Siemens K.H., Pellaers P. and Ng W. (2001). Furanocoumarins in celery and parsnips: multiyear Canadian survey. *J. AOAC International*, 84:1135–1143.
78. López-Escudero F. J. and Mercado-Blanco J. (2011). Verticillium wilt of Olive: A Case Study to Implement an Integrated Strategy to Control a Soil-Borne Pathogen. *Plant and Soil*. 344: 1-50.
79. Loschke D.C., Hadwiger L.A., Schroder J. and Hahlbrock K. (1981). Effects of light and of *Fusarium solani* on synthesis and activity of phenylalanine ammonia-lyase in peas. *Plant Physiol*. 68: 680–685.
80. Lucas W. J. and Lee J.-Y. (2004). Plasmodesmata as a supracellular control network in plants. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 5: 712-726.
81. Luthria D.L. and Mukhopadhyay S. (2006). Influence of sample preparation on assay of phenolic acids from eggplant. *J. Agric. Food Chem*. 54: 41–47.
82. Mahesh V., Million-Rousseau R., Ullmann P., Chabrillange N., Bustamante J., Mondolot L., Morant M., Noirot M., Hamon S., De Kochko A., Werck-Reichhart D. and Campa C. (2007). Functional characterization of two p-coumaroyl 3O-hydroxylase genes that are involved in chlorogenic acid biosynthesis in coffee trees. *Plant Molecular Biology*. 64: 145- 159.
83. Manka M., Visconti A., Chelkowski J. and Bottalico A. (1985). Pathogenicity of *Fusarium* isolates from wheat, rye and triticale towards seedlings and their ability to produce trichothecenes and zearalenone. *Phytopathol. Z*. 113: 24–29.
84. Marino M., Bersani C. and Comi G. (1999). Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. Measured using a Bioimpedometric Method. *Journal of Food Protection*. 975-1096.
85. Markakis E. A., Tjamos S. E., Antoniou P. P., Roussos P. A., Paplomatas E. J. and Tjamos E. C. (2010). Phenolic responses of resistant and susceptible olive cultivars induced by defoliating and non defoliating *Verticillium dahliae* pathotypes. *The American Phytopathology Society*. 94, 1156–1162.
86. Mayama S., Bordin A.P.A., Morikawa T., Tanpo H. and Kato H. (1995). Association between avenalumin accumulation, infection hypha length and infection type in oat crosses segregating for resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* race 226. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 46: 255–261.
87. Melgar J. C., Guidi L., Remorini D., Agati G., Degl'innocenti E., Castelli S., Baratto M.C. Faraloni C. and Tattini M. (2009). Antioxidant defences and oxidative damage in salt-treated olive plants under contrasting sunlight irradiance. *Tree Physiology*. 29: 1187–1198.

88. Mierziak J., Kostyn K. and Kulma A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules* 19(10): 16240-16265.
89. Miller J.D., Young C.J. and Sampson D.R. (1985). Deoxynivalenol and fusarium head blight resistance in spring cereals. *Phytopathol. Z.* 113: 359–367.
90. Mithen R. (1992). Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica* 63: 71–83.
91. Mithen R.F. and Magrath R. (1992). Glucosinolates and resistance to *Leptosphaeria maculans* in wild and cultivated Brassica species. *Plant Breeding*. 108: 60–68.
92. Mithen R.F., Lewis B.G. and Fenwick G.R. (1986). In vitro activity of glucosinolates and their products against *Leptosphaeria maculans*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 87: 433–440.
93. Mithen R.F., Lewis B.G., Heaney R.K. and Fenwick G.R. (1987a). Resistance of Brassica species to *Leptosphaeria maculans*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 88: 525–531.
94. Mithen R.F., Lewis B.G., Heaney R.K. and Fenwick G.R. (1987b). Glucosinolates of wild and cultivated Brassica species. *Phytochemistry*. 26: 1969–1973.
95. Monache G.D., Botra B., Vinaquerra V., de Mello J.E. and de Andrade Chiappeta A. (1996). Antimicrobial isoflavanones from *Desmodium canum*. *Phytochemistry*. 41: 537–544.
96. Morant M., Schoch G.A., Ullmann P., Ertunc T., Little D., Olsen C.E., Petersen M., Negrel J. and Werck-Roichhart D. (2007). Catalytic activity, duplication and evolution of the CYP98 cytochrome P450 family in wheat. *Plant Molecular Biology*. 63: 1-19.
97. Morkunas I., Marczak L., Stachowiak J. and Stobiecki M. (2005). Sucrose-induced lupine defense against *Fusarium oxysporum*. Sucrose-stimulated accumulation of isoflavonoids as a defense response of lupine to *Fusarium oxysporum*. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 363–373.
98. Mousavi S.M. and Motesharezadeh B. (2020). Boron deficiency in fruit crops. U: Srivastava A.K., Hu, C., ur. *Fruit Crops: Diagnosis and Management of Nutrient Constraints*. Amsterdam. Netherlands. Elseiver.
99. Nair R.B., Xia Q., Kartha C.J., Kurylo E., Hirji R.N., Datta R. and Selvaraj G. (2002). Arabidopsis CYP98A3 mediating aromatic 3-hydroxylation. Developmental regulation of the gene, and expression in yeast. *Plant Physiology*. 130: 210-220.
100. Nawar H.F. and Kuti J.O. (2003). Weyerone acid phytoalexin synthesis and peroxidase activity as markers for resistance of broad beans to chocolate spot disease. *J. Phytopathol.* 151: 564–570.
101. Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R. and De Feo V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 1451-1474.

102. Nicholson R.L., Jamil F.F., Snyder B.A., Lue W.L. and Hipskind J. (1988). Phytoalexin synthesis in the juvenile sorghum leaf. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33: 271–278.
103. Nielsen K.A., Gottfredsen C.H., Buch-Pedersen M.J., Ammitzbøll H., Mattsson O., Duus J.Ø. and Nicholson R.L. (2004). Inclusions of flavonoid 3-deoxyanthocyanidins in *Sorghum bicolor* self-organize into spherical structures. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 65: 187–196.
104. Oku H., Shiraishi T. and Ouchi S. (1987). Role of specific suppressors in pathogenesis of *Mycosphaerella* species, *Molecular Determinants of Plant Diseases* (S. Nishimura, C.P. Vance, and N. Doke, eds.). Japan Scientific Society Press. Springer-Verlag. Berlin. Tokyo. pp. 145–156.
105. Oku H., Shiraishi T., Ouchi S. and Ishiura M. (1980). A new determinant of pathogenicity in plant disease. *Naturwissenschaften.* 67: 310.
106. Ortega-García F. and Peragón, J. (2009). The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual). *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 89: 1565–1573.
107. Oussalah M., Caillet S., Saucier L. and Lacroix M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. *E. Food Control.* 18: 414–420.
108. Pathak M.A., Daniels F. and Fitzpatrick T.B. (1962). The presently known distribution of furanocoumarins (psoralens) in plants. *J. Invest. Dermatol.* 39: 225–239.
109. Perica S. i Čmelik Z. (2007). Utjecaj folijarne gnojidbe dušikom, kalijem i borom na razinu i sezonsku promjenjivost koncentracija dušika, kalija i bora u lišću masline sorte Oblica. *Pomologia Croatica: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva.* 13 (2): 63–75.
110. Pevalek-Kozlina B. (2003). Površinska zaštita i obrambene tvari. U Pevalek-Kozlina B. (ur.) *Fiziologija bilja.* Zagreb, Kaptol. Profil International, str 470–485.
111. Poje I. (2016). Nematode kao štetnici povrtlarskih kultura u zaštićenim prostorima.
112. Porter A.J.R., Morton A.M., Kiddle G., Doughty A.J. and Wallsgrove R.M. (1991). Variation in the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus*) leaves. 1. Effect of leaf age and position. *Ann. Appl. Biol.* 118: 461–467.
113. Rahioui B., Zine El Aabidine A., Baissac Y., El Boustani E., Khadari B., Jay Allemand C. and El Modafar C. (2009). Phenolic compounds of olive tree leaves and their relationship with the resistance to the leaf-spot disease caused by *Spilocaea*

- oleaginea. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 5: 204–214.
114. Rakwal R., Agrawal G.K., Yonekura M. and Kodama O. (2000). Naringenin 7-O-methyltransferase involved in the biosynthesis of the flavanone phytoalexin sakuranetin from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci*. 155: 213–221.
115. Reddy M.S.S., Chen F., Shadle G., Jackson L., Aljoe H. and Dixon R.A., (2005). Targeted down regulation of cytochrome P450 enzymes for forage quality improvement in alfalfa *Proceedings of National Academy of Science of USA*. 102: 16573–16578.
116. Reis Giada M. L. (2013). Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. U: Morales-Gonzales (ur.) *Oxidative stress and chronic degenerative diseases: a role for antioxidants*. Intech, str 87-112.
117. Ruegger M., Chapple C. (2001). Mutations that reduces in a poylmalate accumulation in *Arabidopsis thaliana* define loci with diverse roles in phenylpropanoid metabolism. *Genetics*. 159: 1741-1749.
118. Sahin F., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G. and Özer H., (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* spp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 15: 549-557.
119. Sanzani S. M., Schena L., Nigro F., Sergeeva V., Ippolito A. and Salerno M.G. (2012). Abiotic diseases of olive. *J. Plant Pathol*. 94 (3): 469–491.
120. Savournin C., Baghdikian B., Elias R., Dargouth-kesraoui F., Boukef K. and Balansard G. (2001). Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Olea europaea* leaves. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 49: 618–621.
121. Schoch G., Goepfer T.S., Morant M., Hehn A., Meyer D., Ullmann P. and Werck-Reichhart D. (2001). CYP98A3 from *Arabidopsis thaliana* is a 30-hydroxylase of phenolic esters, a missing 160 link in the phenylpropanoid pathway. *The Journal of Biological Chemistry*. 276: 36566-36574.
122. Schutt C. and Netzly D. (1991). Effect of apiferol and apigenidin on growth of selected fungi. *J. Chem. Ecol*. 17: 2261–2266.
123. Seong G. U., Hwang I. W. and Chung S. K. (2015). Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) leaves. *Food Chemistry*. 199: 612-618.

124. Shiraishi T., Oku H., Yamashita M. and Ouchi S. (1978). Elicitor and suppressor of pisatin induction in spore germination fluid of pea pathogen, *Mycosphaerella pinodes*. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 44: 659–665.
125. Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T. and Arsenakis M. (1996). Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Origanum Essential Oils. *Journal Agricultural Food Chemistry.* 44(5):1202-1205.
126. Snyder B.A. and Nicholson R.L. (1990). Synthesis of phytoalexins in sorghum as a site specific response to fungal ingress. *Science.* 248: 1637–1639.
127. Snyder B.A., Leite B., Hipskind J., Butler L.G. and Nicholson R.L. (1991). Accumulation of sorghum phytoalexins induced by *Colletotrichum graminicola* at the infection site. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39: 463–470.
128. Soto-Vaca A., Losso J.N., Xu Z., Finley J.W. (2012). Review: Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *J. Agric. Food Chem.* Epub ahead of print.
129. Southerton S.G. and Deverall B.J. (1990). Changes in phenolic acid levels in wheat leaves expressing resistance to *Puccinia recondita* f. sp. *Tritici*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 37: 437–450.
130. Staub T. (1991). Fungicide resistance: practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29: 421-442.
131. Steffens M., Ettl F., Kranz D. and Kindl H. (1989). Vanadate mimics effects of fungal cell wall in eliciting gene activation in plant cell cultures. *Planta.* 177: 160–168.
132. Stevenson D.E. and Hurst R.D. (2007). Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences.* 64: 2900-2916.
133. Sugiyama A. and Yazaki K. (2014). Flavonoids in plant rhizospheres: secretion, fate and their effects on biological communication. *Plant Biotechnology.* 31: 431-443.
134. Suhr K.I. and Nielsen P.V. (2003). Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology.* 94(4): 665-674.
135. Szoboszlay M., White-Monsant A. and Moe L.A. (2016). The Effect of Root Exudate 7,4'- Dihydroxyflavone and Naringenin on Soil Bacterial Community Structure. *PLoS ONE.* 11(1): 1- 16.
136. Taiz L. and Zeiger E. (2010). *Plant Physiology.* Fifth Edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
137. Tekaya M., El-Gharbi S., Mechri B., Chehab H., Behir A., Chraief I., Ayachi M., Boujnah D., Attia F. and Hammami M. (2016). Improving performance of olive trees

- by the enhancement of key physiological parameters of olive leaves in response to foliar fertilization. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38: 101.
138. Thomzik J.E., Stenzel K., Stocker R., Schreiger P.H., Hain R. and Stahl D.J. (1997). Synthesis of a grapevine phytoalexin in transgenic tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) conditions resistance against *Phytophthora infestans*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 37: 255–270.
  139. Tomas-Barberan F.A. and Espin J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81: 853-876.
  140. Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2: 1231-1246.
  141. Underhill E.W., Wetter L.R. and Chisholm M.D. (1973). Biosynthesis of glucosinolates, *Biochem. Soc. Symp.* 38: 303–326.
  142. Unlu M., Ergene E., Unlu G., Sivas ZH. and Vural N. (2010). Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume Lauraceae. *Journal Food and Chemical Toxicology*. 48(11): 3274-3280.
  143. Van Sumere C. F. (1989). Phenols and phenolic acids U: Dey P. M. i Harborne J. B. (ur.) *Methods in plant biochemistry. Plant phenolics*. London, San Diego. Academic Press, str 30- 68.
  144. VanEtten H.D., Mansfield J.W., Bailey J.F. and Farmer E.E. (1994). Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus ‘phytoanticipins’. *Plant Cell*. 6: 1191–1192.
  145. VanEtten H.D., Matthews D.E. and Matthews, P.S. (1989). Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annu. Rev. Phytopathol.* 27: 143–164.
  146. VanEtten H.D., Sandrock R.W. Wasmam C.C., Soby S.D., Mellusky K. and Wang, P. (1995). Detoxification of phytoanticipins and phytoalexins by phytopathogenic fungi. *Can. J. Bot.* 73(Suppl. 1): S518-S525.
  147. Vidhyasekaran P. (1988). *Physiology of Disease Resistance in Plants*. Vol. I, CRC Press, Florida. pp. 149.
  148. Vidhyasekaran P. (2002). *Bacterial Disease Resistance in Plants: Molecular Biology and Biotechnological Applications*. Haworth Press, Binghamton, New York, USA. pp. 520.

149. Von Elbe J. H. and Schwartz S. J. (1996). Flavonoids and other phenols. Colorants. U: Fennema O.R. (ur.): Food chemistry. Third edition. New York, Basel, Hong Kong. Marcel Dekker Inc., str 681-697.
150. Walker J.C. and Stahmann M.A. (1955). Chemical nature of disease resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 6: 351–366.
151. Wang P. and VanEtten H.D. (1992). Cloning and properties of a cyanide hydratase gene from the phytopathogenic fungus *Gloeocercospora sorghi*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187: 1048–1054.
152. Wegulo N., Yang X.-B., Martinson C.A. and Murphy P.A. (2005). Effects of wounding and inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum* on isoflavone concentrations in soybean. *Can. J. Plant Sci.* 85: 749–760.
153. Weigand F., Koster J., Weltzein H.C. and Barz W. (1986). Accumulation of phytoalexins and isoflavone glucosides in a resistant and a susceptible cultivar of *Cicer arietinum* during infection with *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathol.* 115: 214–221.
154. Wink M. (1988). Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics.* 75: 225-233.
155. Xiong D., Xiaoduo Z. and Xinxin W. (2017). Effects of Surface Oxidation Treatment of Carbon Fibers on Biotribological Properties of CF/PEEK Materials. *Journal of Bionic Engineering.* 14: 640-647.
156. Yamada T., Hashimoto H., Shiraishi T. and Oku H. (1989). Suppression of pisatin, phenylalanine ammonia-lyase mRNA, and chalcone synthase mRNA accumulation by a putative pathogenicity factor from the fungus *Mycosphaerella pinodes*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2: 256–261.
157. Yang V.W. and Clausen C.A. (2007) Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 59: 302-306.
158. Yoshioka H., Shiraishi T., Yamada T., Ichinose Y. and Oku H. (1990). Suppression of pisatin production and ATPase activity in pea plasma membranes by orthovanadate, verapamil and a suppressor from *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 31: 1139–1146.
159. Zhou T., Boland G.J. Kuykendall L.D. and Marcell D. (1998). Biological control strategies for *Sclerotinia* Diseases, plant-microbe interactions and biological control. New York. 127-156.
160. Ziegler E. and Pontzen R. (1982). Specific inhibition of glucan-elicited glyceollin accumulation in soybeans by an extracellular mannan-glycoprotein of *Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea*. *Physiol. Plant Pathol.* 20: 321–331.



## Životopis

Dora Valentić rođena je 02.08.1998. godine u Novoj Gradišci. Godine 2013. upisuje Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga Zagreb, smjer Ekološki tehničar, a zatim 2017. godine upisuje preddiplomski studij Zaštite bilja na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Godine 2020. dobiva titulu *univ. bacc. ing.* nakon obrane završnoga rada na temu „Praćenje fenoloških faza razvoja jednogodišnjih širokolisnih korova u proljetno-ljetnom razdoblju“ pod vodstvom mentorice prof. dr. sc. Klare Barić. Iste godine upisuje diplomski studij Fitomedicina na Agronomskom fakultetu Zagreb. Tijekom fakultetskog obrazovanja, u sklopu studentske prakse, radila je kao ispomoć u Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu te tamo stekla korisna iskustva vezana za struku, a time i znanja u odnosu s ljudima, suočavanju s raznim situacijama te preuzimanju odgovornosti za iste. Slobodno vrijeme provodi u prirodi te raznim aktivnostima koje ona pruža.