

ODBRAMBENI ODGOVORI BILJAKA SUNCOKRETA NA NAPAD GLJIVIČNIH PATOGENA

Slobodan Krsmanović¹, Kristina Petrović¹, Boško Dedić¹, Ferenc Bagi²,
Vera Stojšin², Simona Jaćimović¹, Nemanja Čuk¹

1 Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

2 Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

e-mail: slobodan.krsmanovic@ifvcns.ns.ac.rs

Izvod

Biljke suncokreta pokazuju izražena alelopatska svojstva i kao takve predstavljaju pogodnu bazu za potencijalna naučna istraživanja. Razumevanje i iskorištavanje upravo tog potencijala, moglo bi višestruko smanjiti upotrebu hemijskih sredstava za zaštitu bilja, koja se intenzivno koriste u tehnologiji proizvodnje ovog useva. Danas se u oplemenjivanju suncokreta ulaže veliki napor radi razvoja otpornosti ove biljne vrste prema ekonomski najznačajnijim patogenima, a to su u najvećem broju slučajeva fitopatogene gljive, te parazitni korovi kao što je volovod. Budući da je suncokret sve popularnija kultura na poljima proizvođača u Republici Srbiji, dat je pregled do sada poznatih, pasivnih i aktivnih mehanizama odbrane, koji su ključni u stvaranju otpornosti. Takođe, studija detaljno opisuje interakcijske odnose između najštetnijih gljivičnih patogeneza i biljaka suncokreta, ekspresiju gena koja je uslovljena njihovim napadom, te produkciju metabolita koji su ključni u formiranju indukovane odbrane.

Ključne reči: suncokret, gljivični patogeni, mehanizmi odbrane, interakcijski odnosi

UVOD

Suncokret (*Helianthus annuus* L.) je jedna od najčešće gajenih ratarskih kultura iz familije *Asteraceae*, koja vodi poreklo sa istoka severnoameričkog kontinenta. Rod *Helianthus* čini 53 različite vrste, od kojih 14 vrsta pripada jednogodišnjim biljkama. Smatra se da je biljka prilagođena procesu gajenja od strane Indijanaca pre 3000 godina zbog prepoznavanja korisnih dejstava i nutritivnih svojstava (Seiler i Gulya, 2016). Na samom početku XX veka prvi put u svetu, u Rusiji, započeo je program unapređenja suncokreta na naučnoj osnovi, a ruski farmeri su bili prvi korisnici tih rezultata. Danas zahvaljujući razvoju nauke i dugogodišnjim istraživanjima, suncokret je dobio širok spektar primene te se koristi kao prehrambena i lekovita sirovina, stočna hrana, ukrasna biljka i sirovina za proizvodnju boja u tekstilnoj industriji (Fernandez- Luqueno i sar., 2014).

U Republici Srbiji suncokret se gaji na površini od 239.148 ha, sa prosečnim prinosom od 3,06 t/ha, što pokazuju zvanični podaci FAOSTAT-a za 2018. godinu. Suncokret se počeo gajiti intenzivnije tokom 70-ih i 80-ih godina na našim prostorima, a površine pod ovim usevom nisu eksponencijalno rasle sa godinama. Zbog pojave bolesti uzrokovane fitopatogenom gljivom *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet (*Phomopsis helianthi*) u trogodišnjem periodu (1980–1982) na prostoru AP Vojvodine, došlo je do značajnog smanjenja prinosa na poljima (iznad 1 t/ha), a postotak zaraženih biljaka kretao se između 60–100% (Li i sar., 1985). Epifitotična pojava bolesti umnogome je uticala na proizvođače i dovela u pitanje gajenje suncokreta kao poljoprivredne kulture na ovim prostorima. Tek nakon unosa gena otpornosti prema *Diaporthe* vrstama, ova bolest je stavljena pod kontrolu i nastavljeno je gajenje ovog useva na našim prostorima (Škorić, 1984). Danas se u oplemenjivanju suncokreta pažnja usmerava na otpornosti prema ekonomski najznačajnijim patogenima, a to su u najvećem broju slučajeva fitopatogene gljive i paraziti korovi kao što je volovod (Škorić i sar., 2006). Gubici prouzrokovani infekcijom fitopatogenim bakterijama i virusima su zanemarljivi i periodično se pojavljuju, te stoga ni unošenje gena otpornosti prema ovim patogenima nije primarni cilj genetičara i oplemenjivača (Schneiter i sar., 1997; Markell i Harveson, 2018).

Prirodni mehanizmi i sistemi odbrane koje suncokret poseduje, uspešno se suprostavljaju delovanju patogena, dovode do veće tolerancije prema bolestima i štetočinama, pa je ova kultura sve češći izbor poljoprivrednih proizvođača u Srbiji i širom sveta.

Otpornost biljaka i mehanizmi odbrane od patogena

Evolutivnim tokom, egzistirajući zajedno u ekosistemu sa patogenima, biljke su stvorile i razvile sopstvene odbrambene mehanizme kako bi proizvele odgovarajuću reakciju na njihov napad. Glavni cilj svake biljke je da očuva svoju vitalnost i da nesmetano vrši osnovne fiziološke funkcije, ćelijsku deobu, fotosintezu, respiraciju i usvajanje hranljivih materija, a to je jedino moguće ako je biljka zdrava.

Mehanizmi odbrane, koje biljka uspostavlja mogu se podeliti na preinfekcijske (pasivne) i postinfekcijske (aktivne). Napad patogena u biljkama izaziva ekspresiju mnogobrojnih odbrambenih mehanizama. Otpornost u širem smislu može se definisati kao sposobnost biljke da spreči ili uspori štetnu aktivnost patogena (Gasić i Obradović, 2012). Najrasprostranjeniji tip otpornosti ispoljava se između patogenog biološkog agensa i biljke koja nije njegov domaćin (non-host resistance). Gljivični patogeni na osnovu načina života i njihove interakcije sa biljkom domaćinom mogu se podeliti na biotrofe, nekrotrofe i hemibiotrofe. Bio-

trofi hranljive materije dobijaju iz živih biljnih ćelija ili tkiva, dok nekrotrofi radi ishrane koriste odumrle ćelije. Potoje takođe i gljivični patogeni koji se ponašaju i kao biotrofi i nekrotrofi u zavisnosti od uslova i razvojnog ciklusa u kome se nalaze. Takvi patogeni nazivaju se hemibiotrofima (Chowdhury i sar., 2017).

Biljke prepoznaju napad patogena pomoću membranskih ili citoplazmatskih receptora (Dodds i Rathjen, 2010), koji mogu da indukuju dva odbrambena odgovora. Receptori prepoznavanja molekularnih uzoraka (PRR), prepoznaju uzroke koji mogu da budu povezani sa patogenom PAMP (pathogen-associated molecular pattern) ili povezani sa oštećenjem DAMP (damage-associated molecular pattern) i pokreću PTI (PAMP-triggered immunity) odbrambeni odgovor (Zipfel, 2009; Raaymakers i Van den Ackerveken, 2016). Kako bi prevazišli sistem odbrane koji biljka uspostavlja, patogeni luče brojne efektorske proteine u ćelije biljke domaćina. Prepoznavanjem efektoru unutarćelijskim imunološkim receptorima (R-proteini), u biljci se indukuje drugi nivo odbrambenog odgovora ETI (effector-triggered immunity). Ovaj put odbrane najčešće rezultira pojavom hipersenzitivne reakcije (HR), pri čemu dolazi do brzog indukovano odumiranja jedne ili više ćelija, na mestu infekcije biljke domaćina inkompatibilnim patogenom. Upravo ovaj odgovor omogućava biljci da lokalizuje infekciju i spreči dalje širenje patogena i napredovanje bolesti (Jones i Dangl, 2006). Odgovarajuća regulacija odbrambenih odgovora je vrlo važna za biljke, budući da ona može imati i štetan učinak na rast biljaka (Glazebrook, 2005).

Biljke su razvile širok spektar konstitutivnih i indukovanih odbrambenih mehanizama kako bi se zaštitile od napada patogena. Pod konstitutivnim odbrambenim mehanizmima podrazumevaju se barijere, koje su rezultat anatomske-morfološke prirode biljaka. U te odbrambene barijere se ubrajaju debljina kore, formiranje voštano epidermalne kutikule, sastav ćelijskih zidova i ostale karakteristike koje biljkama ne omogućavaju samo odbranu, već im daju i čvrstoću i krutost.

Indukovana odbrana je vid postinfekcijskog biljnog odgovora, nakon što biljka prepozna napad patogena. Ona zahteva značajan angažman ćelija, uključujući opsežno genetičko reprogramiranje, budući da je indukovana ekspresija velikog broja odbrambenih gena nužnih u borbi protiv napada patogena. Mnogi geni povezani s odbranom kodiraju proteine koji poseduju antifungalnu i antimikrobnu aktivnost ili kodiraju enzime koji katalizuju odbrambene metabolite. Pošto biljke za razliku od životinja nemaju sposobnost cirkulacije antititela, odbrana i prepoznavanje napada patogena mora da bude osobina svake ćelije (McDowell i Woffenden, 2003). Efikasna odbrana od biotrofnih patogena zavisi od programiranog odumiranja ćelija domaćina i regulisana je akumulacijom salicilne kiseline i sintezom PR proteina (SAR-sistemično stečena otpornost). Sa druge strane, nekrotrofni patogeni bi imali samo korist od navedene odbrane. Zbog toga se radi odbrane od nekrotrofa aktiviraju drugi sistemi odbrane koji uključuju aktivaciju

jasmonske kiseline i etilena i gde ne dolazi do sinteze PR proteina (Glazebrook, 2005). Ovakav tip odbrane se naziva indukovana sistemična otpornost (ISR).

Ipak, patogeni često razvijaju mehanizme kojima nadvladavaju biljni odbrambeni sistem, što rezultira kolonizacijom biljke. Tada zaražene biljne vrste postaju domaćini patogenu. Tokom evolucije neke sorte su razvile mehanizme prepoznavanja određenih sojeva ili vrsta patogena i u skladu s tim proizveli efikasne odgovore koji vode ka specifičnoj otpornosti određenog genotipa ili biljne vrste u celini (Hammond-Kosack i Jones, 1996).

Otpornost suncokreta prema beloju truleži (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Sclerotinia sclerotiorum (Libert) De Bary je polifagna gljiva koja napada više od 400 biljnih vrsta (Boland i Hall, 1994). Gljiva je prvi put identifikovana na suncokretu 1861. (Purdy, 1979), dok je u Srbiji prvi put opisana 1948. (Aćimović 1998). Široko je rasprostranjena, i može da izazove bolest na svim delovima biljke suncokreta. Gljiva je prouzrokovatelj bele truleži korena, truleži stabla, uvenuća i truleži glavice i kljanaca. Zaraza ovim patogenom se dešava putem askospora. Patogen prezimljava u zemljištu u vidu sklerocija. Kada se stvore povoljni vremenski uslovi i zemljište bude prohladno, vlažno i osunčano (4–16 °C), sklerocije mogu klijati u miceliju ili se iz njih mogu formirati apotecije sa mnogobrojnim askosporama. Micelija nema preveliki značaj i mogućnost širenja kroz zemljište osim ako se sklerocije ne nalaze blizu biljke domaćina. Uvenuća suncokreta odnosno korenska forma bolesti se javlja usled podzemnih zaraza. Sa druge strane askospore su vazdušno prenosive i za njihovo klijanje kako bi ostvarile infekciju, neophodna je kap vode. Na ovaj način dolazi do pojave stabljične i glavične forme bolesti (Peltier i sar., 2012). Zbog toga je izuzetno teško proizvesti toleratnost prema ovom patogenu, koja je uslovljena sa više gena (Reimonte i Castano, 2008; Rönicke i sar., 2004; Vear, 2004), jer različiti geni kontrolišu otpornost u različitim delovima biljke (Degener i sar., 1998). Zbog toga bi možda, oplemenjivanje suncokreta, radi postizanja otpornosti prema *S. sclerotiorum* trebalo da se radi odvojeno za pojedinačne forme bolesti, jer nije potvrđena povezanost u osetljivosti genotipova prema infekciji na listu, stablu ili glavici (Tourvieille i Vear, 1987; Degener i sar., 1998).

Trulež glave suncokreta je naštetniji vid bolesti koju ova gljiva prouzrokuje. U radu (Rodriguez i sar., 2004) upoređivana su dva genotipa suncokreta (HA-302 tolerantan i HA-89 osetljiv) kako bi se otkrilo koji mehanizmi su zaslužni za odbranu i proizvodnju otpornosti suncokreta prema ovom patogenu. Rezultat rada je pokazao da u početku infekcije nema razlike u ponašanju dva genotipa, ali je krajnji rezultat bio različit. Kod tolerantne sorte došlo je do kolapsa ćelija, zadebljana ćelijskih zidova i promene u njihovom sastavu, te povećanja sadržaja fenolnih jedinjenja u stubiću tučka i kruničnim listićima, što je predstavljalo in-

dukovani odgovor izazvan razvojem gljive. Ovoj odgovor je bio znatno slabijeg intenziteta kod osetljive sorte. Zajedničko za obe sorte je bilo i da gljiva nije formirala miceliju u prašnicima nego samo oko polenovih zrna, a razlika u tome što je slab odgovor osetljivog genotipa doveo do širenja bolesti po čitavoj glavici i do propadanja tučka. Oksalna kiselina (OA) koju proizvodi ova fitopatogena gljiva je bitan faktor virulencije. Pod dejstvom OA dolazi do helacije ćelijskog zida i zakiseljavanja ćelije domaćina, što za posledicu ima pojačanu aktivnost mnogih enzima koji učestvuju u razgradnji ćelijskog zida (van Kan, 2006). Biljke koje imaju veću otpornost prema *S. sclerotiorum* sintezom fenolnih jedinjenja stvaraju odgovarajući odbrambeni odgovor (Monazzah i sar., 2016) i sprečavaju dalje napredovanje patogena.

Najnovija studija koja izučava ekspresiju gena nakon infekcije *S. sclerotiorum* (Fass i sar., 2020) pokazuje identične promene u građi ćelija i oksidoredukcionim procesima kao i prethodna studija (Rodriguez i sar., 2004). U ovoj studiji takođe je dokazana i obilna proizvodnja nekodirajućih RNK sekvenci, kod sorti koje su pokazale visok nivo tolerantnosti prema beloj truleži, što daje pretpostavku da bi i one mogle igrati veliku ulogu u formiranju otpornosti.

Otpornost suncokreta prema sivo-mrkoj pegavosti stabla (*Diaporthe helianthi*)

Sistemična priroda bolesti sivo-mrke truleži stabla suncokreta, list-lisna peteljka-stablo, detaljno je opisana kroz histološke studije tkiva nakon što askospore klijaju u infektivnu hifu, ona formira miceliju koja prodire u međućelijske prostore lista, širi se prema debljim nervima na listu, idući prema glavnom nervu i na kraju ulazi u lisnu peteljku. Nakon prodora patogena iz lisne peteljke u stablo dolazi do širenja micelije i ulaska u ćelije ksilema i floema pri čemu biljke venu i suše se.

Ovaj proces potvrđuje beznačajnu ulogu anatomije listova na otpornost prema ovom patogenu. Međutim u genotipovima suncokreta koji se odlikuju povećanom tolerantnosti i otpornosti prema *Diaporthe* vrstama uočeno je zadržavanje ćelijskih zidova kod ćelija sprovodnih sudova, kao i formiranje tamnih tvorevina koje su nalik gumenim čepićima (Lesavoy i Marchenko, 2008).

Što se tiče indukovane odbrane u cilju formiranja otpornosti, primećene su razlike otpornih genotipova u odnosu na osetljive. Količina vodonik peroksida (H_2O_2) koji se formira prilikom napada ovog patogena se višestruko povećava (Pennisi i sar, 2002). Zabeleženo je i da agresivnost istog izolata na različitim genotipovima nije ista. Bolest se daleko brže širila na genotipovima sa propusljivijim ćelijskim membranama na kojima se proizvodila znatno veća količina elektrolita (Muntanola-Cvetković i sar., 1991).

Otpornost suncokreta prema ugljenastoj truleži (*Macrophomina phaseolina*)

Traženje gena otpornosti prema prouzročivaču ugljenaste truleži suncokreta kako bi se proizveli genotipovi sa visokom toleratnosti i dalje predstavlja veliki zadatak za oplemenjivače. Brojne su studije novijeg datuma koje govore o testiranju različitih genotipova i biohemijskim promena koji se dešavaju u njima radi proizvodnje otpornosti (Taha i sar., 2018; Shehbaz i sar., 2018; Nafady i sar., 2019).

U svom radu (Taha i sar., 2018) testirali su 14 različitih genotipova suncokreta radi stvaranja i otkrivanja mehanizama otpornosti prema *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goidanich. Na osnovu istraživanja došlo se do zaključka da se otpornost genotipova suncokreta može pripisati delovanju i povećavanju sadržaja određenih enzima. U radu je detaljno praćena količina salicilne kiseline, fenolnih jedinjenja, polifenoloksidaza i katalaza i kod zaraženih i kod nezaraženih linija suncokreta. Rezultati su pokazali da je najveća proizvodnja fenola zabeležena u genotipovima koji su pokazali najveću otpornost prema ovom patogenu. Fenoli bi mogli igrati značajnu ulogu u stvaranju odbrambene reakcije kod suncokreta jer su oni kao jedinjenja neophodni za sintezu lignina, najvažnije komponente ćelijskih zidova i fitoaleksina. Oksidativni enzimi su isto tako igrali važnu ulogu u razvoju otpornosti, jer učestvuju u sintezi lignina i oksidativnih fenola što omogućava formiranje i jačanje ćelijskih struktura.

Poznato je da srebrnolisni suncokret (*Helianthus argophyllus* L.) poseduje otpornost prema *M. phaseolina*, koja je kontrolisana od strane velikog broja gena (multigena otpornost). U radu (Shehbaz i sar., 2018) proučavana je otpornost novih hibrida suncokreta nastalih ukrštanjem sa navedenim divljim srodnikom. U F3 i F4 generaciji posmatrana je otpornost datih hibrida prema *M. phaseolina*. Rezultati su pokazali da su dva gena ključna za rezistenciju prema ovom patogenu i dobijena je velika korelacija između boje stabljike i žilavosti stabljike u odnosu na pojavu bolesti. Hibridi koji poseduju „stay green“ osobinu pokazali su znatno veći nivo otpornosti od hibrida kod kojih je stabljika imala normalno zrenje. Smatra se da je zelena stabljika postojanija, jačeg mehaničkog sastava, te zbog toga i otpornija na napad ovog patogena.

Otpornost suncokreta prema mrkoj pegavosti stabla i listova (*Phoma macdonaldii*)

Phoma macdonaldii (Boerema) je patogen koji se svakodnevno susreće na poljima pod suncokretom i pojavljuje se gotovo na svakoj sorti i hibridu, u manjem ili većem intenzitetu. Kao i kod prethodno navedenih gljivičnih patogena, otpornost prema ovoj bolesti uslovljena je sinergizmom i ekspresijom više gena.

U istraživanju (Abou i sar., 2011) posmatran je odnos patogen-domaćin, a promene su praćene korišćenjem skeniranja, elektronske i svetlosne mikroskopije. Testirani su izolati na osetljivim i genotipovima sa većom tolerantnošću prema *P. macdonaldii*. Rezultati su otkrili direktno prodiranje patogena kroz kotiledone, peteljke i koren bez prethodnog formiranja apresorija. Primećeno je i direktno mehaničko prodiranje micelije u ćelije bez proizvodnje posebne enzimske aktivnosti. Evolucija i napredovanje bolesti unutar biljke razlikovala se u skladu sa osetljivosti genotipova. Kod genotipova sa povećanom otpornosti, bolest je znatno slabije napredovala i primećene su razlike u morfološkim osobinama hife u odnosu na lokaciju patogena. Kod otpornih sorti, patogen je stigao do korteksa korena (jedino mesto pojave) i nije mogao prodrći dalje u biljne ćelije, te je registrovan velik broj praznih (neinfektivnih) hifa. Kod osetljivih sorti patogen je kolonizovao celokupno tkivo korena sa samo nekoliko praznih hifa. Smatra se da odustvo prodiranja u listove i lisne peteljke može biti sprečeno zbog nemogućnosti gljive da stvori apresorije. Razlog za izostajanje ovih tvorevina nalazi se u različitim faktorima kao što su: površinska tvrdoća lista, sadržaj epikutikularnih voskova i krutost.

Najnovija studija (Sun i sar., 2020) izučava proteomiku, i govori koji geni su odgovorni za stvaranje otpornosti prema *P. macdonaldii*. Ispitani su nivoi ekspresije i ustanovljeno je osam gena koji kodiraju sintezu proteina, fenolnih jedinjenja, oksidaza i drugih enzima, a zaslužni su za odbrambeno dejstvo. Smatra se da oni imaju uticaj na sprečavanje razvića bolesti. Ovo je ujedno i prva studija koja je dala uvid u karakterizaciju proteoma za nekrotrofnu gljivu *P. macdonaldii*.

Otpornost suncokreta prema ostalim značajnijim patogenima

Suncokret je usev koji ima veliki broj prirodnih neprijatelja. Jedan od najčešćih patogena suncokreta jeste *Alternaria helianthi* (Hansford) Tubaki & Nishihara, fitopatogena gljiva koja uzrokuje mrkocrnu pegavost lišća suncokreta. Međutim veliki broj sorti i genotipova suncokreta ima razvijenu indukovanu otpornost prema ovoj fitopatogenoj gljivi. U radu (Usha i sar., 2016) ispitivani su hemijski procesi koji se aktiviraju kada *Alternaria helianthi*, izvrši infekciju biljaka suncokreta. Posmatrane su pojave u sintezi tri hemijska induktora, α -amino buterne kiseline (AABA), γ - amino buterne kiseline (GABA) i salicilne kiseline, a kao biološki agensi za indukovanje korišteni su sojevi *Pseudomonas fluorescens* i *Trichoderma harizanum*, na osam različitih genotipova suncokreta. Praćene su takođe i procene poznatih biljnih biohemijskih enzima, fenola, peroksidaza, ukupnog šećera, fenilalanin liaze (PAL) i katalaze, spektrofotometrijskim putem, kako bi se razumela efikasnost induktora u razvoju otpornosti biljaka. Kao najbolji primer induktora kod svih biljaka, nakon 18h praćenja, pokazala se sinteza

γ -aminobuterne kiseline (GABA), čija povećana sinteza je proizvela odbrambeni odgovor biljaka i bila zaslužna za stvaranje imuniteta. Sinteza GABA je bila neporedivo veća u tretmanima gde su se koristili biološki induktori od tretmana gde su korišteni samo izolati gljive *Alternaria helianthi*.

Nandeeshkumar i sar., (2008) su pokazali da učešće važnih odbrambenih enzima poput katalaze, hitinaze, fenilalanin amonijak-lijaze (PAL), polifenol-oksidaze i peroksidaze tokom ISR-a (Induced Systemic Resistance) indukovanih od strane PGPR-a (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) protiv plamenjače suncokreta koju izaziva oomiceta *Plasmopora halstedii*. Sinteza novih proteina koji imaju direktno ili indirektno dejstvo na tok patogeneze ima najveći uticaj na otpornost biljaka prema datom patogenu. Ovi proteini uključuju različite enzime za odbranu i PR (Pathogenicity Related) proteine. Veliki broj enzima povezan je sa ISR, uključujući β -1,3-glukanazu, hitinazu (Koch i sar., 1992), fenilalanin amonijak-liazu (Geetha i sar., 2005), katalazu (Bailly i sar., 2004), peroksidazu i polifenol oksidazu (van Loon, 1997). Uočeno je da se koncentracija ovih enzima višestruko povećala nakon infekcije biljaka izolatom pseudogljive *Plasmopora halstedii*.

Studija (Prats i sar., 2002) govori o uticaju metabolita acibenzolar-S-metila (ASM) na formiranje otpornosti suncokreta na rđu koju izaziva *Puccinia helianthi* Schweinitz. Utvrđeno je da ASM utiče na letalni period i smanjenje veličine uredopustula. Citološke studije su pokazale da je odbrana uslovljena smanjenom klijavošću spora i ometanjem formiranja apesorija.

Fusarium solani (Martius) L. Lombard & Crous koji uzrokuje trulež korena i fuzariozno uvenuće suncokreta je takođe jedan od ekonomski značajnijih patogena. Uočeno je da delovanje ekstrakta kurkume (*Curcuma longa* L.) dovodi do ekspresije gena koji u mnogome pomažu da se stvori odbrambena reakcija i proizvede otpornost suncokreta prema truleži korena. Ekstrakt kurkume je pokrenuo imunološki sistem suncokreta što pokazuje promena sadržaja ukupnih fenola, kao i pokretanje antioksidativnih enzima kod domaćina (peroksidaze i PLA). Pomoću PCR tehnike i sekvenciranja otkrivena su tri genska regiona koja podstiču sintezu proteina zaslužnih za odbranu. To su geni za sintezu glutation-S-transferaza 6, askorbat peroksidaze i defensina. Merenjem posle 14 dana, uočeno je da je ekspresija gena dovela do povećavanja sadržaja hitinaze u biljkama za oko devet puta, a sadržaja defensina za oko četiri puta (Al Sahli i sar., 2018).

ZAKLJUČAK

Tokom evolucije, egzistirajući zajedno u ekosistemu sa patogenima, biljke su gradile sopstvene mehanizme odbrane pomoću kojih su se suprostavljale njihovim napadima. Samo zdrava biljka sposobna je da održi normalne fiziološke funkcije. Pojava bolesti i kolonizacija biljaka patogenom nije pravilo, nego izu-

zetak, i samo biljke koje ne proizvedu odgovarajući odbrambeni odgovor bivaju zaražene. Mehanizmi odbrane koji se formiraju mogu se podeliti u preinfekcijske (pasivne) i postinfekcijske (aktivne). Prirodna otpornost suncokreta i formiranje odbrane ne zavisi samo od barijera koje su rezultat anatomske-morfološke prirode biljaka, nego i od ekspresije gena koji pokreću sintezu različitih biljnih metabolita. Upravo ti metaboliti su ključni u zaustavljanju širenja bolesti i proizvodnji odgovarajućeg odbrambenog odgovora protiv gljivičnih patogena. Kod genotipova koji poseduju visoku tolerantnost prema *S. sclerotiorum* uočena je pojačana sinteza fenolnih jedinjenja i nekodirajućih RNK sekvenci. Za podsticanje odbrambenog odgovora protiv *D. helianthi* prouzrokača sivo-mrke pegavosti stabla kao ključna se pokazala sinteza vodonik peroksida (H_2O_2). Kod tolerantnih genotipova prema *M. phaseolina* zabeležena je povećana sinteza fenola, sekundarnih metabolita koji igraju glavnu ulogu u sintezi lignina, najvažnije komponente ćelijskih zidova i fitoaleksina. U najnovijim istraživanjima pronađeno je čak osam gena koji su važni za formiranje otpornosti prema *P. macdonaldii*. Navedeni geni kodiraju sintezu proteina, fenolnih jedinjenja, oksidaza i drugih enzima kod kojih je potvrđeno učestvovanje u formiranju odbrambenog odgovora. Ustanovljeno je takođe i učešće drugih metabolita u stvaranju otpornosti prema ekonomski manje značajnim patogenima suncokreta. Za stvaranje otpornosti prema *A. helianthi* bila je ključna sinteza GABA, za otpornost prema rđi suncokreta povećana sinteza ASM, a za formiranje otpornosti prema *F. solani* promena sadržaja ukupnih fenola, te antioksidativnih enzima (peroksidaze i PLA). Prema oomiceti *P. halstedii* povećana sinteza nekoliko enzima, uključujući β -1,3-glukanazu, hitinazu, fenilalanin amonijak-liazu, katalazu dovela je do formiranja ISR-a kod otpornih genotipova.

LITERATURA

- Abou, A. T., Naffaa, W., Martinez, Y. & Dechamp-Guillaume G. (2011): Mode of Penetration by *Phoma macdonaldii* in Susceptible and Tolerant Sunflower Genotypes. *Arab. J. of P. Prot.* 29(1).
- Al Sahli, A. A., Alaraidh, A. & Rashad, Y. (2018): Extract from *Curcuma longa* L. triggers the sunflower immune system and induces defence-related genes against *Fusarium* root rot. *Phytopathologia Mediteranea*, 57(1): 26–36.
- Aćimović, M. (1998): Bolesti suncokreta. Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
- Bailly, C., Leymarie, J., Lehner, A., Rousseau, S., Coame, D. & Corbineau, F. (2004): Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying. *J Exp Bot.*, 55(396): 475–483.
- Boland, G. J. & Hall, R. (1994): Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Pathol.* 16: 93–108.
- Chowdhury, S., Basu, A. & Kundu, S. (2017): Biotrophy-necrotrophy switch in pathogen evoke differential response in resistant and susceptible sesame involving multiple signaling pathways at different phases. *Scientific Reports* 7:17251.

- Degener, J., Melchinger, A. E., Gumber, R. K. & Hahn, V. (1998): Breeding for Sclerotinia resistance in sunflower: A modified screening test and assessment of genetic variation in current germplasm. *Plant breeding*, 117: 367–372.
- Dodds, P. N. & Rathjen, J. P. (2010) Plant immunity: Towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.* 11: 539–548
- Fass, I. M., Rivarola, M., Ehrenbolger, G. F., Maringolo, C. A., Montecchia, J. F. Quiroz, F., Garcia-Garcia, F., Blazquez J. D., Hopp, H. E., Heinz, R. A., Paniego N. B. & Lia, V. V. (2020): Exploring sunflower responses to *Sclerotinia* head rot at early stages of infection using RNA-seq analysis. *Nature*, 10:13347.
- Fernandez-Luqueno, F., Lopez-Valdez, F., Miranda-Arambula, M. & Rosas-Morales M. (2014): An introduction to the sunflower crop. *Sunflowers: Growth and development, Environmental Influences and Pests/Diseases*. Nova science publishers. 1: 1–18.
- Gašić, K. & Obradović A. (2012): Indukovana otpornost biljaka. *Ratarstvo i povrtarstvo*. 49(3): 326–334.
- Geetha, N. P., Amruthesh, K. N., Sharathchandra, R. G. & Shetty, H. S. (2005): Resistance to downy mildew in pearl millet is associated with increased phenylalanine ammonia lyase activity. *Fun Plant Biol.*, 32: 267–275.
- Glazebrook, J. (2005): Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual reviews*, 43: 205–227.
- Hammond-Kosack, K. E. & Jones, D. G. J. (1996): Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8:1773–1791.
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006): The plant immune system. *Nature* 444:323–329.
- Koch, K. E., Nolte, K. D., Duke, E. R., McCarty, D. R. & Avigne, W. T. (1992). Sugar levels modulate differential expression of maize sucrose synthase genes. *Plant Cell*, 4: 59–69.
- Lesavoy, M. P., & Marchenko, O. A. (2008): Mechanisms of penetration and defeat of plants of sunflower by a fungus *Phomopsis/Diaporthe helianthi*. *Archives of Phytopathology and Plant protection*, 32(3): 223–228.
- Li, Š., Marić, A. & Maširević S. (1985): Ispitivanje epidemiologije *Phomopsis* sp. (*Diaporthe* sp.) na suncokretu. *Zaštita bilja*, 36 (4), 174.
- Markell S. & Harveson A. (2018): Sunflower diseases diagnostic series. North Dakota State University.
- McDowell, J. M. & Woffenden, B. J. (2003): Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. *Trends in Biotechnology*, 21:178–183.
- Monazzah, M., Enferadi, S. T., Soleimani, M. J. & Rabiei Z (2016): An unspecific phytotoxin oxalic acid and its effect on sunflower proteome. *Aust J Bot* 64:219–226.
- Muntanola-Cvetković, M., Vukojević, M. & Mihaljčević, M. (1991). The systemic nature of the sunflower disease caused by *Diaporthe helianthi*. *Canadian Journal of Botany*, 69(7): 1552–1556.
- Nafady N. A., Hashem M., Hassan A. E., Ahmed H. A. M. & Alamri S. A. (2019): The combined effect of arbuscular mycorrhizae and plant-growth-promoting yeast improves sunflower defense against *Macrophomina phaseolina* diseases. *Biological Control*, 138: 104049: 10.1016/j.biocontrol.2019.104049.

- Nandeeshkumar, P., Ramachandrakini, K., Prakash, H. S., Niranjana, S. R. & Shekar Shetty, H. (2008): Induction of resistance against downy mildew on sunflower by rhizobacteria. *Journal of Plant Interactions*, 3: 255–262.
- Peltier, A. J., Bradley, C., Chilvers, M. I., Malvick, D. K., Mueller, D., Wise, K. A. & Esker P. (2012): Biology, Yield loss and Control of *Sclerotinia* Stem Rot on Soybean. *Journal of Integrated Pest Management*, 3(2): doi: <http://dx.doi.org/10.1603/IPM11033>.
- Pennisi, A. M., Abenavoli, M. R., Maimone, B. & Di Dio, L. (2002): In Planta and in vitro Interactions between *Phomopsis* (*Diaporthe*) Isolates and Sunflower. *Plant Protection Science*, 38 (2) 461–465.
- Prats, E., Rubiales, D. & Jorrián J. (2002): Acibenzolar-*S*-methyl-induced resistance to sunflower rust (*Puccinia helianthi*) is associated with an enhancement of coumarins on foliar surface. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 60(3): 155–162.
- Purdy, L. H. (1979): *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution and impact. *Phytopathol.* 69: 875–880.
- Reimonte, G. & Castano, F. (2008): Susceptibility of sunflower (*Helianthus annuus*) hybrids to mid stem rot and broken stem caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Cien. Inv. Agr.* 35: 21–28.
- Rodriguez, A. M., Bazzalo, M. E., Godeas, A. M. & Venedikian, N. (2004): Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* Attack on Flower Parts of *Helianthus annuus* heads in Tolerant and Susceptible Varieties. *Mycopathologia*, 157(3): 291–302.
- Rönicke, S., Hahn, V., Horn, R., Gröne, I., Brahm, L., Schnabl, H. & Friedt, W. (2004): Interspecific hybrids of sunflower as a source of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Breed.* 123: 152–157.
- Raaymakers, T. M. & Van den Ackerveken, G. (2016): Extracellular recognition of oomycetes during biotrophic infection of plants. *Front Plant Sci.* 7. Published online. doi:10.3389/fpls.2016.00906.
- Schneiter, A. A., Rashid, K. Y., Masirevic S. & Gulya T. (1997): Sunflower diseases. doi: 10.2134/agronmonogr35.c6.
- Shehbaz, M., Rauf, S., Al-Sadi, A. M., Nazir, S., Bano, S., Shahzad, M. & Hussain, M. M. (2018): Introgression and inheritance of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) resistance from silver sunflower (*Helianthus argophyllus* Torr. & A. Gray) into cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Australasian Plant Pathology*, 47(4): doi: 10.1007/s13313-018-0573-9.
- Seiler, G. J. & Gulya, T. (2016): *Sunflower: Overview. Reference Module in Food Science*, 247–253. doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.00027-5.
- Taha, M. M., Mahmoud, A. F., Hassan, M. A., Mahmoud, A. M. & Sallam, A. M. (2018): Potential resistance of certain sunflower cultivars and inbred lines against charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Journal of Phytopathology and Pests Management*, 5(3): 55–66.
- Tourvieille, D. & Vear, F. (1984): Comparaison de methodes d'estimation de la resistance a *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Agronomie* 4, 517–525.

- Usha, D., Santha Lakshmi Prasad, M & Venkateshwara Rao, L. (2016): Effects of biotic and abiotic inducers on induction of defense enzymes in sunflower. *International Journal of Current Research*, 8(3): 28181–18185.
- van Kan J. A. (2006): Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends Plant Sci*, 11:247–253.
- van Loon, L. C. (1997): Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103:753–765.
- Vear, F. (2004): Breeding for durable tolerance to main diseases of sunflower. Proc 16th Int. *Sunflower Conf.*, Fargo, North Dakota, USA, 15–28.
- Škorić, D. (1984): Genetic resources in the *Helianthus* genus. *Proceedings of the International Symposium on Science and Biotechnology for an Integral Sunflower Utilization*, Bari, Italy. October 25, 37–73.
- Škorić D., Jocić S. & Gvozdrenović, S. (2006): Dostignuća u oplemenjivanju suncokreta prema bolestima, volovodu i insektima. *Biljni lekar*, 34(4–5): 299–313.
- Zipfel, C. (2009): Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12:414–420.

Abstract

DEFENSE RESPONSES OF SUNFLOWER PLANTS TO THE FUNGAL PATHOGEN ATTACK

Slobodan Krsmanović¹, Kristina Petrović¹, Boško Dedić¹, Ferenc Bagi², Vera Stojšin², Simona Jaćimović¹, Nemanja Ćuk¹

¹Institute of field and vegetable crops, Novi Sad

²University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad

E-mail: slobodan.krsmanovic@ifvcns.ns.ac.rs

Sunflower plants show pronounced allelopathic traits and represent a suitable base for potential scientific research work. Understanding and exploiting precisely of that potential could greatly reduce the use of chemical products for plant protection that are intensively used in the production technology of this crop. Today, a big effort is made in sunflower breeding in order to produce the resistance to the economically most important pathogens, which are in most cases phytopathogenic fungi and parasitic weeds such as broomrape. Since sunflower is an increasingly popular crop within farmer fields in the Republic of Serbia, an overview of so far known, passive and active defense mechanisms, that are key for the crop resistance creating, is given. The study also describes in detail, the interactions among the most harmful fungal pathogens and sunflower plants, the expression of genes caused by their attack, and the production of metabolites that are crucial for the induced defense formation.

Key words: sunflower, fungal pathogen, defense mechanisms, interaction