

mr Lejla Riđanović, viši asistent
Univerzitet "Džemal Bijedić" Mostar, Nastavnički fakultet

mr Sanel Riđanović, viši asistent
Univerzitet "Džemal Bijedić" Mostar, Nastavnički fakultet

Molekularno–biološki mehanizmi otpornosti biljaka na napad patogena

UDK 581.1

Sažetak

S obzirom na broj fitopatogenih organizama u tlu, u vazduhu i vodi, postojanje zaštitnih mehanizama u biljnim vrstama od velikog je značaja, jer im omogućava normalan životni ciklus. Otpornost biljaka prema bolestima, ili rezistentnost, zasniva se na morfološkim, anatomskim i hemijskim osobinama biljaka, te na njihovim odbrambenim reakcijama. Razni patogeni koriste diverzne mehanizme da bi kolonizirali biljna tkiva. Biljke su razvile dugi niz prikladnih odbrambenih strategija, koje se mogu svrstati u pasivnu i aktivnu otpornost. Stimulirana odbrambena reakcija varira u zavisnosti od prirode infekcije, sa selektivnom stimulacijom najprikladnije reakcije. Samo se oni geni koji se odnose na specifične procese odbrambenih mehanizama aktiviraju. Geni otpornosti na bolesti grupa su nekoliko distinktnih familija funkcionalno različitih, ali strukturalno sličnih gena. Obično su locirani u grupama usko povezanih gena. Ove karakteristike su uzrokovale potrebu za otkrivanjem gena koji imaju kjučnu ulogu u otpornosti na bolesti. Identifikacija gena koji su aktivatori otpornosti na bolesti omogućuje selektivnu proizvodnju komercijalnih usjeva, koji posjeduju neprocjenjivu ekonomsku važnost. Iako je značajan progres učinjen u zadnjoj deceniji, kroz usavršavanja molekularno-bioloških tehnika, susrećemo se s problemom razjašnjavanja molekularnih procesa i identifikacije elicitor gena. Usljed kompleksnosti biljne otpornosti na bolesti, kao i genetičkih i

molekularnih procesa impliciranih u njoj, mehanizmi odbrambenih reakcija trebaju se istražiti ekstenzivnije.

Ključne riječi: biljka, patogen, odbrambeni mehanizmi, pasivna i aktivna otpornost.

Uvod

Više biljke su razvile kompleksne i sofisticirane sisteme odbrambenih mehanizama, koji im omogućavaju da se odupru i prežive napade patogena, kao i razne stresove iz okoliša. Identifikacija gena uključenih u otpornost na bolesti i poznavanje njihovih modela nasljeđivanja, dozvoljava selektivno razmnožavanje komercijalno važnih usjeva, te ima neprocjenjivu ekonomsku važnost. Biljni geni otpornosti na bolesti su objekat velikog interesovanja za uzgajivače biljaka, već decenijama, usprkos činjenici da je njihova biohemijska funkcija bila nepoznata. Odbrambeni mehanizmi stimulisani mikrobnim infekcijama biljnih tkiva se nazivaju "reakcije otpornosti na bolesti" i sastavljeni su od velikog broja biohemijskih reakcija.

Mehanizmi odbrane - klasifikacija

Otpornost biljaka prema na napad patogenima i razvoj bolesti može se klasificirati na:

- pasivnu otpornost ili statičku, već postojeću otpornost, koja se još naziva preinfekcijska ili konstitucijska otpornost,
- aktivnu, postinfekcijsku, stimuliranu ili induciranu otpornost i
- prividnu otpornost.

Pasivna otpornost

Pasivna (preinfekcijska) ili konstitucijska otpornost biljaka postoji, bez obzira da li je biljka napadnuta patogenima ili ne (zbog toga se naziva konstitucijska ili preinfekcijska). Ne radi se, znači, o pravoj genetičkoj otpornosti, pa se često naziva i pseudootpornost. Biljka, naime, ne razvija specijalne mehanizme odbrane, već sama po sebi sadrži određena svojstva ili karakteristike morfološko, anatomsko-fiziološke naravi koji, u slučaju napada patogena, mogu biti faktori sprečavanja procesa infekcije ili samog razvoja bolesti. Genetički gledano, naziva se

horizontalnom otpornošću, jer je pod utjecajem velikog broja gena, malog djelovanja - minor geni (Miličević, 2007). Elementi pasivne ili konstitucijske otpornosti biljaka uključuju otpornost na prodor i otpornost na širenje. Na površini biljaka često postoje prepreke kao što su fizičke barijere, koje onemogućavaju prodiranje patogena - voštane prevlake, kutikula, plutasti sloj,



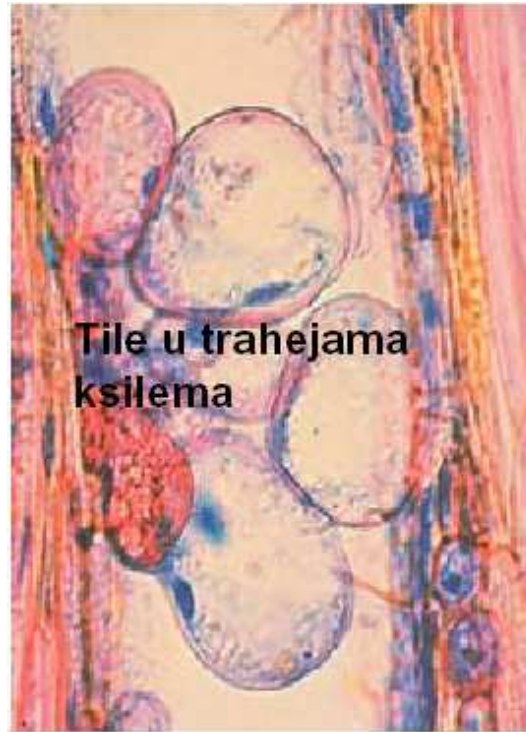
Slika 1: Stvaranje felogena ili pluta na plodovima jabuke zaraženim fitopatogenom gljivom *Venturia inaequalis*, felogen ispod zaraženog dijela ploda odjeljuje inficirano tkivo od zdravog.

debljina ćelijskog zida, lenticelle, stome, dlakavost. Tako se, na primjer, kapljice vode bitne za klijanje spora fitopatogenih gljiva prilikom infekcije, teže zadržavaju na kutikuli i epikutikularnom vosku zbog hidrofobnosti, usljed čega se inhibira klijanje spora gljiva i onemogućava uspješna infekcija. Pored toga, biljke imaju nekoliko konstitutivnih antimikrobijalnih sastojaka, koje ubrajamo u hemijske ili fiziološke faktore pasivne otpornosti, kao što su jedostavni fenoli, saponini i tanini, koji imaju potentna antifungalna svojstva pomoću kojih sprečavaju kolonizaciju tkiva (Osborn, *et. al*, 1998).

Aktivna (postinfekcijska) ili inducirana, stimulirana otpornost

Aktivni odbrambeni mehanizmi zahtijevaju aktivaciju biljnog metabolizma, pošto predstavljaju direktan odgovor organizma na invaziju patogena. Ovo obično uključuje akumulaciju fitoaleksina, fenolnih jedinjenja, etilena, hidrolitičkih enzima, peroksidaza i brojnih proteina koji se sintetiziraju kao odgovor na stres. Prema Hutchesonu (1998), aktivni ili stimulirani

odbrambeni mehanizmi se mogu podijeliti u tri kategorije: primarne reakcije, sekundarne reakcije i sistemčne stečene reakcije. Primarne reakcije su ograničene na ćelije koje su u direktnom kontaktu s patogenom; do sekundarnih reakcija dolazi širenjem signala u ćelije koje su u neposrednoj blizini mjesta primarne infekcije, dok sistemčne stečene reakcije pomoću hormona stimuliraju čitavu biljku. Aktivni odbrambeni mehanizmi vode do stimulirane otpornosti – stanje pojačane razvijene otpornosti, stečeno kao posljedica primarnog izlaganja patogenu, što pomaže pri sprečavanju širenja infekcije (van Loon, *et. al.*, 1998). Stimulirana otpornost je obično sistemčna, pošto se pojačani odbrambeni kapacitet razvija ne samo u primarno inficiranim tkivima, nego i u neinficiranim dijelovima biljke. Prema tome, stimulirana otpornost se obično naziva sistemčna stečena otpornost (SSO). Primjer sistemčnih reakcija na infekciju može se predstaviti promjenama u lišću krompira nakon infekcije korjenova nematodama, kao što su primijetili Bowles, *et. al.*, (1991). Stimulirana otpornost također može biti ograničena na dijelove tkiva izložene primarnoj infekciji, što se naziva lokalizovana stečena otpornost (LSO). I SSO i LSO su efikasni protiv velikog broja patogena. Interesantno je spomenuti da je SSO komparabilan mamalskoj reakciji na imunizaciju, iako su osnovni mehanizmi različiti, (Sticher, *et. al.*, 1997).



Tile u trahejama ksilema

Slika 2: Tile ili mjehurasti izraštaji ksilemskog parenhima unutar traheja ksilema začepljuju provodne snopiće, te je širenje patogena kroz biljku putem ksilema spriječeno.

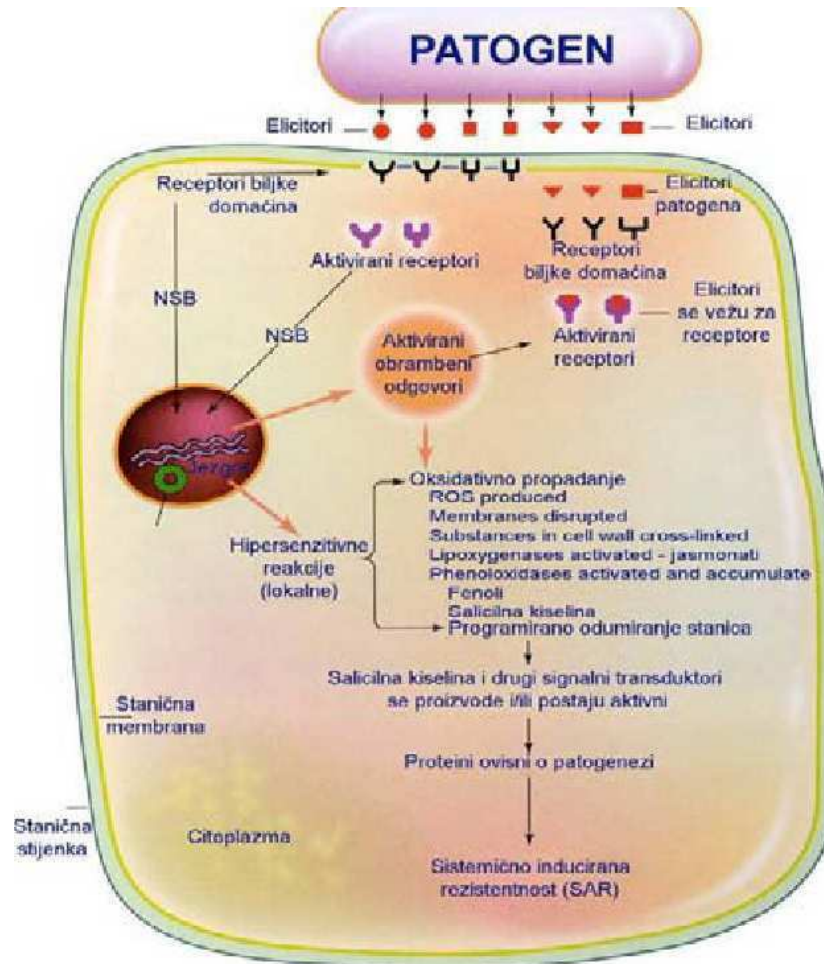
Molekularni mehanizmi otpornosti

Tokom protekle decenije značajna dostignuća su se ostvarila u pokušaju da se ilustruju osnove molekularnih mehanizma uključenih u podsticanje aktivnih reakcija, i u objašnjenja prirode procesa odgovornih za odbranu. Glavni problem za molekularne biologe je nemogućnost određivanja osnovnih modela aktivnih odbrambenih reakcija. Ovo je uglavnom posljedica toga što, izgleda, ne postoji ni jedan neophodan biološki mehanizam koji uopšteno koriste sve biljke kako bi otkrile i regovale na sve patogene invazije. Još jedan problem u studijama biljne otpornosti na bolesti je taj što populacije patogena, s obzirom na to da su biotički entiteti, mogu značajno varirati od loklita do lokaliteta, tako da je veoma teško donijeti uopštene zaključke o razvoju biljne otpornosti.

Biljni mehanizmi odbrane su veoma raznoliki. Tokom svojih života, biljke su izložene velikom broju potencijalnih patogena, kao što su bakterije, virusi, gljivice i herbivore, toplotni šok i isušivanje. Razni patogeni koriste diverzne mehanizme da bi kolonizirali biljna tkiva. Međutim, biljke su razvile dugi niz prikladnih odbrambenih strategija. Stimulisana odbrambena reakcija varira u zavisnosti od prirode infekcije, sa selektivnom stimulacijom najprikladnije reakcije. Samo se oni geni koji se odnose na specifične procese odbrambenih mehanizama aktiviraju, (Smith, 1991). Geni otpornosti na bolesti su grupa nekoliko distinktnih familija funkcionalno različitih, ali strukturalno sličnih gena, (Warren, *et. al*, 1998). Obično su locirani u grupama usko povezanih gena.

Vanderplank (1998) je sugerisao da se termini vertikalna i horizontalna otpornost mogu koristiti kako bi se objasnila priroda biljnih odbrambenih mehanizama. Vertikalnu otpornost nalazimo kod biljaka koje su visoko otporne na neke fiziološke rase patogena, ali su suseptibilne na druge. Horizontalna otpornost je mnogo šira i pruža odbranu protiv svih znanih rasa patogena. Fiziološke rase su podvrste specijalizovanih patogenih vrsta, klasificirane na osnovu reakcija koje razvijaju kad se inokuliraju na set kultivara, (Manners, 1993). Flor (1956) je postavio gen-za-gen hipotezu, koja tvrdi da za svaki gen avirulencije (avr) kod patogena, postoji korespondirajući specifični gen otpornosti (R) u biljci. Ovo sugerise da je biljka-patogen interakcija visoko specifična, a ne stohastična. Ta relacija implicira da bi proizvod

gena otpornosti trebao nositi motive ili dijelove koji bi indicirali svoju ulogu u protein-protein interakciji. Nivo vjerodostojnosti ove hipoteze je, međutim, ograničen, pošto ne uzima u obzir situacije u kojim je biljna otpornost poligenična. I pored toga, Halterman i Martin (1997) tvrde da je gen-za-gen veza primijećena u brojnim biljka-patogen interakcijama. Izgleda da fizički kontakt između



Slika 3: Prikaz elicitor - receptor prepoznavanja između patogena i biljaka sa signalnom transdukcijom i obrambenim reakcijama biljke.

proizvoda gena otpornosti i Avr proteina pruža objašnjenje za molekularnu bazu nekih gen-za-gen interakcija. Postoji i argument da funkcija proizvoda R gena nije ograničena na prepoznavanje patogena. R. Proteini također izgleda da stimulišu aktivaciju višestrukih signalnih puteva, čim se vežu za specifičnog

elicitora¹. Ovo vodi ka indukciji specifičnih gena vezanih za odbranu, i inicijaciji odbrambene reakcije. Staskawicz, *et al.*, (1995) sugeriraju da su biljke mogle evolvirati mehanizme transdukcije signala za ekspresiju otpornosti za široki niz nesrodnih patogena. Ovo su podržali Warrren, *et al.*, (1998) koji su spekulirali da bi proizvodi R gena mogli vršiti interakciju s komponentama mehanizma prenosa signala koje dijele višestruke signalne putanje R gena. Priroda ovih mehanizama nije u potpunosti razjašnjena. Nedavne molekularne analize su pružile evidenciju kao potporu specifičnosti R-Avr vezanja. Visoko specifični receptor-ligand mehanizam R-Avr proteinske interakcije prethodi funkciji signalirajućih komponenti biljne otpornosti, (Parker i Coleman, 1997). R-Avr interakcija se najvjerojatnije odvija u citoplazmi biljne ćelije. Trenutno se misli da reakcija protiv bakterijskih Avr proteina pod utjecajem R gena zahtijeva asocijaciju Hrp-translociranog bakterijskog proteina sa leucin-bogatim ponavljajućim regionom gena otpornosti, (Hutcheson, 1998). Viralne infekcije su se najčešće proučavale koristeći duhan mozaik virus (TMV), radi njegove pristupačnosti i jednostavnosti manipulacije. Pretpostavlja se da je protein TMV replikaza proizvod gena za avirulenciju. Iako nije fizički karakterizovan, mutacijska analiza indicira da je specifični dio uključen u proces prepoznavanja. Analiza fungalnih proteina kao elicitora aktivnih reakcija je pružila dalju potporu ideji da je specifična konfiguracija i trodimenzionalni oblik molekule proteina neophodan za uspješno prepoznavanje određivača avirulencije od strane gena otpornosti (Hutcheson, 1998). Nedavno je kloniran gen Mi iz paradajza, koji pruža otpornost na nekoliko vrsta nematoda. Otkriveno je da kodira protein karakteriziran pretpostavljenim mjestom za vezanje nukleotida i ponavljajućim sekvencama bogatim leucinom, (Williamson, 1998). Ronald (1997) je reportirao novu klasu biljnih gena otpornosti u rizi, koji kodiraju receptor kinazu.

Bol, *et al.*, (1990) su izvršili ekstenzivnu studiju na molekularnim mehanizmima biljne otpornosti na viralne infekcije. Klasificirali su grupu proteina zvanih proteini ovisni o patogenezi (PR) u pet familija na osnovu njihove strukturne sličnosti, fizičkih

¹ Elicitori su različiti hemijski spojevi koje proizvode patogeni organizmi, a koji induciraju različite odbrambene mehanizme u biljci (fitoaleksine, PR-proteine, hipersenzitivne reakcije, histološke reakcije – sintezu lignina, suberina, felogena, i dr.

i seroloških svojstava. Ovi proteini su stimulisani u biljkama nakon infekcije sa nekrotizirajućim virusima i drugim patogenima. Interesantna observacija je da aktivacija PR proteina sa TMV I, čak, i abiotičkim faktorima pruža stečenu otpornost ka nesrodnim patogenima. Funkcija PR-1 i PR-2 je još uvijek nepoznata. Hidrolitički enzimi, identificirani kao glukanaze i kitinaze, i klasificirani kao osnovni PR-2 i PR-3 proteini, pokazali su da posjeduju određena antifungalna svojstva, (Bowles, *et. al.*, 1991). Oni djeluju sinergistično da uspore rast gljivica, (Melchers, *et. al.*, 1993). Pored fungalnih elicitora, sinteza ovih enzima se također može inducirati tretiranjem biljke etilenom. Kitinaze hidroliziraju β -1, 4 N-acetilglukozaminske lance kitinovitih polimera, dok neki također uzrokuju liziranje bakterijskih ćelija hidrolizom peptidoglikanskog sloja. Kitin je glavni sastojak gljivičnog ćelijskog zida. Drugi glavni sastojak gljivičnog ćelijskog zida je β -1, 3 glukan, koji se uspješno cijepa β -1, 3 glukanazom, (Bol, *et. al.*, 1990). Također je primijećeno da se nakon gljivične infekcije kod otpornih biljaka, β -1,3 glukanazina mRNA rapidno akumulira do veoma visoke koncentracije. Ovo nije primijećeno u osjetljivim biljkama, što indicira aktivnost β -1, 3 glukanaze u odbrambenim reakcijama. Proteini ovisni o patogenezu su u početku otkriveni u duhanu, a poslije su otkriveni u mnogim drugim vrstama biljaka, uključujući krompir, paradajz, zob i kukuruz. Sn-1 protein, koji su izolovali i karakterizovali Romero i saradnici (1995). Izgleda da je strukturalno i funkcionalno sličan PR proteinima. Rapidno se akumulira u tkivima ranjenih biljaka.

Pored proteina ovisnih o patogenezu, misli se da je i sinteza velikog broja stresnih proteina jedan od odbrambenih mehanizama, (Scriver i Mundy, 1990). Osmotini su jedna grupa ovih stresnih proteina, i obično su aktivirani solnim stresom duhana. Neale, *et. al.*, (1990) su pronašli da je osmotin podstaknut infekcijom sa duhan mozaik virusom i ranjavanjem i tako se može smatrati patogenezu-povezanim proteinom. Osmotini su klasificirani kao članovi familije 5 PR proteina. Melchers, *et. al.*, (1993) su karakterizirali AP24 protein iz *Nicotiana tabacum*, za koji je otkriveno da ima jaka antifungalna svojstva. Molekularni genetički podaci dobijeni iz njihovih studija sugeriraju da bi ovaj protein mogao biti identičan duhanovom osmotinu. Osmotin-slični proteini su pronađeni u brojnim drugim vrstama, uključujući vinovu lozu i soju, (Loulakakis, 1997; Graham, *et. al.*, 1992). Za drugu grupu proteina, familiju inhibitora proteinaza (PI) se zna da

se akumuliraju kao odgovor na ranjavanje i kod monokotiledonih i dikotiledonih vrsta. Misli se da oni smanjuju hranjivu vrijednost biljnih tkiva. Jedna generalna odbrambena reakcija brojnih biljaka je indukcija enzima uključenih u sintezu etilena, biljni hormon koji može da inducira mnoge stresne reakcije. Nije jasno da li etilen, zapravo, promovira podložnost, ili otpornost na bolesti. Hoffman, *et. al.*, (1999) sugeriraju da smanjena senzitivnost na etilen može biti beneficalna protiv nekih patogena, ali pogubna za otpornost prema drugim patogenima.

Kisikova jedinjenja u odbrambenim reakcijama

Nedavno je prikupljena evidencija koja podržava hipotezu o proizvodnji reaktivnih kisikovih jedinjenja u odbrambenim reakcijama. Međutim, aktivni kisikovi radikali su štetni i za biljne ćelije, kao i za patogene, i moraju biti rapidno procesovani da bi se odstranilo oksidativno oštećenje (Noctor i Foyer, 1998). Zaključeno je da je akumulacija oksidativnih radikala unaprijedena inhibitorima proteinaze. Intersantna obzervacija je da su aktivna kisikova jedinjenja neophodna za podsticanje akumulacije izoflavonoida fitoaleksina u ćelijama soje (Guo, *et.al.*, 1998). Važan mehanizam otpornosti kod biljaka je programirana ćelijska smrt, gdje primarno inficirane ćelije ulaze u apoptozu. Rana smrt inficiranih ćelija ograničava širenje patogena kroz biljku, kao rezultat akumulacije raznih toksičnih jedinjenja i nemogućnosti obligatnih intracelularnih patogena da prežive i hrane se na mrtvim ćelijama (Bailey, 1991). Ova nekroza biljnih ćelija odnosi se na hipersenzitivnu reakciju. Smatra se da do ćelijske smrti u hipersenzitivnoj reakciji dolazi zbog disfunkcije plazmalema kod inficiranih ćelija.

Očvršćavanje ćelijskog zida je još jedan važan odbrambeni proces, pošto opstruira dalje širenje infekcije. Enzimi, uglavnom odgovorni za ovaj proces, su peroksidaze. One polimeriziraju alkoholne derivate aromatičnih kiselina, kao što su kumarična, ferulična i sinapična kiselina, u lignin i suberin koji pospješuju unakrsno povezivanje ovih molekula u mreže ćelijskog zida. Aktivnost osnovnog izoenzima peroksidaze B3 je također implicirana u otpornosti na bolesti kod vinove loze. Prisustvo ovog enzima je otkriveno u raznim otpornim *Vitis spp.*, dok je odsutan u podložnim (Barcelo, *et.al.*, 1996).

Fenolna jedinjenja u ulozi otpornosti biljaka na patogene

Značajnu ulogu u mnogim odbrambenim reakcijama ima generalni metabolizam fenilalanina, koji, iako konstitutivno prisutan u niskom nivou u mnogim biljnim tkivima, biva indukovano oštećenjem ili napadom patogena. Ova putanja pruža prekursore za sintezu raznih sekundarnih fenolnih biljnih proizvoda, na primjer stilbin i flavonoidne fitoaleksine, kao i važnu signalizirajuću molekulu, salicilnu kiselinu (Manners, 1993). Fitoaleksini su strukturno veoma raznoliki, pretežno su niskomolekularna jedinjenja i mogu se identifikovati u raznim biljnim vrstama. Najbolje su do sada proučeni fitoaleksini koji su otkriveni u biljakama iz porodice *Fabaceae* i *Solanaceae* (Kastori, 1998). Međutim, svi oni imaju antimikrobna svojstva i akumuliraju se u reakciji na infekciju. Misli se da aktivnost fitoaleksina zavisi od mogućnosti biljaka da proizvedu velike količine ovih jedinjenja u veoma kratkom vremenskom periodu nakon infekcije (Fischer, *et. al.*, 1996). Prema tome, izgleda da je moguće postići sintezu fitoaleksina proizvodnjom transgenih biljaka koje sadrže dodatne kopije patogen-induktibilnih fitoaleksin gena. Međutim, otkriveno je da izuzetno veliki nivoi ekspresije stilbin sinaza gena, koji kodiraju fitoaleksin rezveratrol, imaju značajnu kontraindikaciju, pošto su transgene muške biljke duhana bile sterilne.

Salicilna kiselina je važan regulator sistemne otpornosti na bolesti kod dikotiledonih biljaka. To je prirodno fenolno jedinjenje prisutno u mnogim biljkama. Povećani nivoi endogene salicilne kiseline induciraju ekspresiju patogeneza – povezanih gena i razvoj otpornosti. Pored toga, salicilna kiselina izgleda da pobuđuje isti set od devet gena koji su sistemno aktivirani pri infekciji sa duhan mozaik virusom (Chen, *et.al.*, 1994). Objavljeni rezultati sugerišu da je jedan od mogućih modela akcije salicilne kiseline inhibicija aktivnosti katalaze, što vodi do povećanih nivoa hidrogen peroksida. Smith (1991) je potvrdio da ciklični AMP igra važnu ulogu u procesu transdukcije signala, koji stimulišu sintezu fitoaleksina. Međutim, načini na koje se prenosi poruka ćelijskoj DNK da je elicitor prisutan u biljnoj ćeliji još uvijek nisu u potpunosti objašnjeni.

Zaključak

Biljke koriste brojne odbrambene mehanizme da bi preživjele i odoljele invazijama potencijalnih uzročnika bolesti. Postoji impresivna i opsežna literatura na temu biljnih otpornosti na bolesti, što sugerira da je naučno-istraživačka djelatnost u ovoj oblasti aktivna i intezivna. Prirodnu otpornost na patogene nekih vrsta biljaka koriste oplemenjivači i selekcioneri da bi stvorili otporne kultivare i hibride otporne na pojedine bolesti. Međutim, naučnici nisu bili u mogućnosti da razjasne sve važne molekularne događaje uključene u prepoznavanje i reakciju na razne pobuđivače, iako je značajan napredak postignut u posljednjoj dekadi sa usavršavanjem molekularno-bioloških tehnika. Usljed znatne kompleksnosti biljne otpornosti na bolesti i raznolikosti genetičkih i molekularnih faktora impliciranih u njoj, priroda širokog niza odbrambenih reakcija tek treba da bude razjašnjena. Potrebno je još mnogo više ekstenzivnijih studija prije nego što se ovi problemi mogu riješiti u potpunosti da bi se iznašla i praktična primjena.

Literatura

1. Alexander, H. M. (1992). Evolution of Disease Resistance in Natural Plant Populations. In 'Plant Resistance to Herbivores and Pthogens: Ecology, Evolutions and Genetics.'(Ed. Fritz, R. S. and Simms, E. L.) pp. 326-245. The Univerrisity of Chicago Press, Chicago.
2. Bailey, J. A. (1991). Recognition events associated with specific interactions between plants and pathogenic fungi. Proceedings of the Pathochemical Society of Europe. 32: Biochemistry and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interaction, (Ed. Smith, C. J) pp. 210-225. Clarendon Press, Oxford.
3. Barcelo, A. R., Zapata, J. M., Calderon, A. A. (1996). A Basic Peroxidase Isoenzyme, Marker of Resistance Against *Plasmopara viticola* in Grapevines, is Induced by and Elicitor for *Trichoderma viride* in Susceptible Grapevines. *Journal of Phytopathology*, **144**, 309-313.
4. Beeching, J. R., Han, Y., Gomez-Vasques, R., Day, R. C., Cooper, R. M. (1998). Wound and defense responses in

- Cassava as related to post-harvest physiological deterioration. In 'Phytochemical Signals and Plant-Microbe Interaction.' (Ed. Romeo, et.al.) pp. 231-247. Plenum Press, New York.
5. Bent, A. F. (1996). Plant disease resistance genes: function meets structure. *Plant Cell* **8**, 1757-71.
 6. Bol, J. F., Linthorsi, H. J. M., Cornelissen, B. J. C. (1990). Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Ann. Rev. Phytopathol.* **28**, 113-138.
 7. Boller, T. (1985). Induction of hydrolases as a defense reaction against pathogens. In 'Cellular and Molecular Biology of Plant Stress.' (Ed. Key, J. L., Kosuge, T.) pp. 247-62. Liss, New York.
 8. Bowles, D. J., Gurr, S. J., Scollan, C., Atkinson, H. J., Hammond-Kosack, K. (1991). Proceeding of the Pathochemical Society of Europe. 32: Biochemistry and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions, (Ed. Smith, C. J.) pp. 225-237. Clarendon Press, Oxford.
 9. Calderon, A. A., Zapala, J. M., Barcelo, R. (1994). Peroxidase-mediated formation of resveratrol oxidation products during the hypersensitive-like reaction of grapevine cells to an elicitor from *Trichoderma viride*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **44**, 289-299.
 10. Chen, Z., Malamy, J., Henning, J., Conrath, U., Sanchez-Casas, P., Silva, H., Ricigliano, J., Klessig, D. F. (1994). Induction, modification, and transduction of the salicylic acid signal in plant defense responses. *Proceeding of the Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 4134-4137.
 11. Fischer, R., Budde, I., Hain, R. (1997). Stilbene synthase gene expression causes changes in flower colour and male sterility in tobacco. *The Plant Journal* **11** (3), 489-498.
 12. Godiard, L., Grant, M. R., Dietrich, R. A. (1994). Perception and response in plant disease resistance. *Curr Opin Genet Dev* **4**(5), 662-71.
 13. Graham, J. S., Bukhart, W., Gillikin, J. W. (1992). Complete amino acid sequence of soybean leaf P21; similarity to the thaumatin-like polypeptides. *Plant Physiology* **98**, 163-165.
 14. Guo, Z. J., Lamb, C., Dixon, R. A. (1998). Potentiation of the Oxidative Burst of Isoflavonoid Phytoalexin

- Accumulation by Serine Protease Inhibitors. *Plant Physiology* **118**(4), 1487-96.
15. Halterman, D. A., Martin, G.B. (1997). Signal recognition and transduction involved in plant disease resistance. *Essays in Biochemistry* **32**, 87-99.
 16. Hoffman, T., Schmidt, J. S., Zheng, X., Bent, A. F. (1999). Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That Are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol.* **119**, 935-950.
 17. Hutcheson, S.W. (1998). Current Concepts of Active Defense in Plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* **36**, 59-90.
 18. Kastori, R. (1998). Fiziologija biljaka, Feljton, Novi Sad.
 19. Kombrink, E., Halbroch, K. (1991). Molecular response of potato to infection by *Phytophthora infestans*. Biochemistry and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interaction, pp. 237-255. Clarendon Press, Oxford.
 20. Lee, H., Raskin, I. (1998). Glucosylation of Salicylic Acid in *Nicotiana tabacum*. *Biochemistry and Cell Biology* **88**(7), 692-297.
 21. Loulakakis, K. A. (1997). Nucleotide Sequence of a *Vitis vinifera* L cDNA. Encoding for Osmotin-Like Protein. *Plant Physiol.* **113**, 1464-66.
 22. Manners, J. G. (1993) Principles of Plant Pathology, 2nd ed. Cambridge University Press.
 23. Matern, U., Grimmig, B. (1995). Plant cell wall reinforcement in the disease-resistance response: molecular composition and regulation. *Canadian Journal of Botany* **73**, 551-517.
 24. Melchers, L.S. *et.al.*, (1993). Extracellular targeting of the vacuolar tobacco proteins AP24, chitinase and β -1,3-glucanase in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* **21**, 583-593.
 25. Neale, A. D., Wahleithner, J. A. (1990). Chitinase, β -1,3-Glucanase, Osmotin and Extensin Are Expressed in Tobacco Explants during Flower Formation. *The Plant Cell* **2**, 673-684.
 26. Noctor, G., Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **49**, 249-279.

27. Osbourn, A.E., Wubben, J.P., Melton, R.E. (1998). Saponins and Plant Defense. In 'Phytochemical Signals and Plant-Microbe Interaction.' (Ed. Romeo, et.al.) pp.1-15. Plenum Press, New York.
28. Parker, J.E., Coleman, M.J. (1997). Molecular intimacy between proteins specifying plant-pathogen recognition. *Trends Biochem Sci*, **22**(8), 291-6.
29. Romero, J.P., Klein, M., Houlne, G. (1995). Characterisation of a family of genes encoding a fruit-specific wound-stimulated protein of bell pepper (*Capsicum annum*). *Plant Molecular Biology*, **28**, 1011-25.
30. Ronald, P.C. (1997). The molecular basis of disease resistance in rice. *Plant Mol. Biol.* **35**(1-2), 179-86.
31. Scliver, K., Mundy, J. (1990). Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *Plant Cell* **2**, 503-512.
32. Smith, C.J. (1991). Signal transduction involved in elicitation of phytoalexin synthesis in *Medicago sativa* L. *Biochemistry and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interaction*, pp. 255-271. Clarendon Press, Oxford.
33. Staskawitz, B.J., Baker, B.J., Ellis, J.G., Jones, J.D. (1995). Molecular genetics of plant disease resistance. *Science* **268**(5211), 661-667.
34. Sticher, L (1997). Systemic Acquired Resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* **35**, 235-270.
35. Vanderplank, J.E., (1984). *Disease Resistance in Plants*. Academic Press Inc., London.
36. van Loon, L.C., Baakker, P., Pieterse, C.M. (1998). Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **36**, 453-83.
37. Warren, R.F., Henk, A., Mowery, P. (1998). A Mutation within the Leucine-Rich Repeat Domain of the Arabidopsis Disease Resistance Gene RPS5 Partially Suppresses Multiple Bacterial and Downy Mildew Resistance Genes. *The Plant Cell* **10**, 1439-1452.
38. Williamson, V.M. (1998). Root-Knot Nematode Resistance Genes in Tomato and Their Potential for Future Use. *Annu. Rev. Phytopathol.* **36**, 277-93.