



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**  
Департман за ратарство и повртарство



**Никола Живков**

Дипл.инж. пољопривреде

**ПОКАЗАТЕЉИ БИОТИЧКОГ СТРЕСА У КУКУРУЗУ И**  
**СУНЦОКРЕТУ ИНОКУЛИСАНИМ ФИТОПАТОГЕНИМ ГЉИВАМА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2024.



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**  
Депарتمان за ратарство и повртарство



Кандидат

Дипл.инж. Никола Живков

Ментор

Проф.др. Ђорђе Маленчић

**ПОКАЗАТЕЉИ БИОТИЧКОГ СТРЕСА У КУКУРУЗУ И**  
**СУНЦОКРЕТУ ИНОКУЛИСАНИМ ФИТОПАТОГЕНИМ ГЉИВАМА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2024.

**КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА**

---

**Др Ђорђе Маленчић**

Ужа научна област: Биохемија  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
-Ментор-

---

**Др Симонида Ђурић**

Ужа научна област : Микробиологија  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
-Председник-

---

**Др Јована Шућур Елез**

Ужа научна област: Биохемија  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
-Члан-

## УМЕСТО ПРЕДГОВОРА

Мастер рад „Показатељи биотичког стреса у кукурузу и сунцокрету инокулисаним фитопатогеним гљивама“ урађен је у Биохемијској лабораторији Пољопривредног факултета у Новом Саду.

Желео бих да се захвалим свима који су ми помогли при изради мастер рада као и током студирања, а посебно:

- др Ђорђу Маленчићу, редовном професору Биохемије, ментору, на стручним саветима при изради мастер рада
- др Јовани Шућур Елез, ванредном професору Биохемије, на саветима у току експерименталне израде рада
- Мастер биохемичар Марини Црнковић, на помоћи у току израде мастер рада
- др Симониди Ђурић, редовном професору Микробиологије, на помоћи у постављању огледа
- Мојој породици, која је све време била уз мене у току студирања

**САДРЖАЈ**

1. УВОД .....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ .....	2
2.1. ПОРЕКЛО И ЗНАЧАЈ КУКУРУЗА И СУНЦОКРЕТА.....	2
2.2. РОД <i>Aspergillus</i> spp.....	5
2.3. РОД <i>Fusarium</i> spp. ....	7
2.4. СИБИРСКИ АРИШ .....	10
2.5. АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ БИЉАКА .....	12
2.6. БИЉНИ ФЕНОЛИ.....	14
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА .....	18
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	19
4.1. ПОСТАВЉАЊЕ ОГЛЕДА .....	19
4.2. ПРИПРЕМА ЕКСТРАКАТА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА.....	20
4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНТЕНЗИТЕТА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ (LP) .....	21
4.4. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗЕ (SOD).....	21
4.5. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ ПИРОГАЛОЛ-ПЕРОКСИДАЗЕ.....	22
4.6. ОДРЕЂИВАЊЕ САДРЖАЈА РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА (GSH).....	22
4.7. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНИХ ФЕНОЛА.....	23
4.8. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНИХ ТАНИНА .....	23
4.9. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНИХ ФЛАВОНОИДА .....	23
4.10. ДРРН-РАДИКАЛСКИ ТЕСТ .....	24
4.11. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАКА.....	24
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА .....	24
5.1. ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЈА .....	24
5.2. АКТИВНОСТ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗЕ .....	27
5.3. АКТИВНОСТ ПИРОГАЛОЛ-ПЕРОКСИДАЗЕ .....	30

5.4. САДРЖАЈ РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА (GSH) .....	32
5.5. САДРЖАЈ УКУПНИХ ФЕНОЛА.....	34
5.6. САДРЖАЈ УКУПНИХ ТАНИНА .....	36
5.7. САДРЖАЈ УКУПНИХ ФЛАВОНОИДА .....	38
5.8. ДРРН-РАДИКАЛСКИ ТЕСТ .....	40
6. ЗАКЉУЧАК.....	43
7. ЛИТЕРАТУРА.....	45

# ПОКАЗАТЕЉИ БИОТИЧКОГ СТРЕСА У КУКУРУЗУ И СУНЦОКРЕТУ ИНОКУЛИСАНИМ ФИТОПАТОГЕНИМ ГЉИВАМА

Никола Живков

## РЕЗИМЕ

Мастер рад истражује биотички стрес у кукурузу и сунцокрету који су инокулисани са фитопатогеним гљивама *Aspergillus* spp. и *Fusarium* spp. Реч је о реакцији биљака на патогене врсте гљива, наглашавајући производњу реактивних кисеоничних врста и одбрамбене механизме.

Такође, рад анализира биохемијске параметре као што су активност антиоксидантних ензима, ниво глутатиона, интензитет липидне пероксидације и садржај биљних фенола. Испитано је како ова интеракција утиче на антиоксидантне карактеристике генотипа кукуруза и сунцокрета, пружајући увид у потенцијалне методе за повећање отпорности ових биљака на напад патогених гљива.

Основни циљ рада представљао је покушај да се повећа биохемијски одговор у кукурузу и сунцокрету на напад фитопатогених гљива имајући у виду шта ове ратарске културе значе за пољопривреду и читаву економију Републике Србије.

**Кључе речи:** кукуруз, сунцокрет, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., дихидрокверцетин

## INDICATORS OF BIOTIC STRESS IN MAIZE AND SUNFLOWER INOCULATED WITH PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Nikola Živkov

## SUMMARY

The master thesis investigates biotic stress in maize and sunflower hybrids inoculated with phytopathogenic fungi *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. It is about the reaction of plants to pathogen attack, emphasizing the production of reactive oxygen species and plant defense mechanisms.

Also, the thesis analyzes biochemical parameters such as the activity of antioxidant enzymes, glutathion level, intensity of lipid peroxidation and the content of plant phenols. It was examined how this interaction affects the antioxidant characteristics of maize and sunflower genotypes, providing insight into potential methods for increasing the resistance of these plants to the attack of pathogenic fungi.

The main goal was how to increase the biochemical response of maize and sunflower to pathogen attack bearing in mind what those field plants represent to the agriculture and the entire economy of the Republic of Serbia.

**Key words:** maize, sunflower, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., dihydroquercetine

## 1. УВОД

Одбрамбени одговори биљака на напад патогена подразумевају накупљање фитоалексина, хиперсензитивну смрт ћелија, синтезу протеина повезаних са патогенима, индукцију реактивних кисеоничних врста итд.

Познато је да изазивачи болести и штеточине могу изазвати биотички оксидативни стрес код биљака. Тада у биљкама настају веома реактивни облици кисеоника тзв. кисеонични радикали. Код неких биљака производња ових честица је минимална, док је код других увећана и може изазвати различите метаболичке поремећаје. Неки од најважнијих облика реактивних кисеоничних честица су супероксид-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), хидроксил-радикал ( $\cdot OH$ ) и водоник пероксид ( $H_2O_2$ ). Сви они могу реаговати са примарним биомолекулима, између осталог и са незасићеним масним киселинама узрокујући пероксидацију мембранских липида и њихову деградацију (процес познат као липидна пероксидација, LP).

У циљу селекције отпорности генотипова кукуруза и сунцокрета на фитопатогене гљиве *Aspergillus* spp. и *Fusarium* spp. испитани су параметри оксидативног стреса у две ратарске културе - кукуруза (хибрид NS 3023) и сунцокрета (хибрид NS OSKAR P-1398). Праћена је активност антиоксидантних ензима супероксид-дисмутазе (SOD) и пирогалол-пероксидазе (PPx), затим садржај редукованог глутатиона (GSH) и малондиалдехида (MDA, главног производа LP), као и садржај најважнијих класа биљних фенола.



## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. ПОРЕКЛО И ЗНАЧАЈ КУКУРУЗА И СУНЦОКРЕТА

#### 1.1. Кукуруз

Према површинама које заузима и значају за привреду кукуруз (*Zea mays* L.) је, поред пшенице, најважнија њивска култура, која води порекло из Централне Америке, где су Астеци користили у исхрани за прављење тортиља, док се на нашим просторима гаји од краја 16. века. По укупној производњи и разноврсности употребе је чак и надмашује. С тим у вези све већа употреба кукуруза у исхрани стоке и у индустрији, повећала је интересовање произвођача за ову културу, па су упоредо са напорима усмереним на интензификацију процеса производње почеле брзо да расту и на површини, што није случај са осталим културама. Овај процес је нарочито интензиван последњих година, у земљама које улажу веће напоре за унапређење сточарске производње.

Велика распрострањеност кукуруза и тенденција даљег повећања површина под овом културом резултира из његовог привредног значаја, а привредни значај ове културе условљен је њеном употребном вредношћу. Користи се у три главне сврхе: у исхрани људи, у исхрани стоке и као сировина за производњу врло великог броја индустријских производа. Због своје свестране употребе представља велики значај за извоз.

Такође, његова свестрана употреба омогућава да се троши на газдинствима на којима је произведен, или директно као људска храна у мање развијеним земљама, или, што је чешћи случај, као храна за домаће животиње у развијеним земљама.

У многим деловима света кукуруз је најважнија храна. Од њега се прави хлеб, нарочито код сиромашнијег сеоског становништва. У непосредној људској исхрани кукуруз се највише користи у Португалији, Јужноафричкој Републици, Бразилу, Гватемали, Венецуели, Индији, Мексику, афричким земљама, државама Јужне Америке и на Балкану. Свака земља има своје карактеристично јело направљено од кукуруза. Тако је у Мексику познат врло танак пљоснати хлеб под називом »тортиље«. У Италији је распрострањена добро позната каша из кукурузног брашна тзв.

»палента«. У источној Африци „угали“ и „ченга“, у Румунији „мамалига“, у централној Америци „туруатес“ и у Јужној Америци „беијус“ и „пасоке“.



Слика 1: Кукуруз (*Zea mays* L.)

Извор: <https://www.vecernji.hr/biznis/pet-tisuca-kuna-po-hektaru-proizvodacima-sjemenskog-kukuruzaza-sanaciju-pretrpljenih-gubitaka-zbog-rata-u-ukrajini-1576824> (прегледано дана 01.09.2024.)

Значајно је истаћи да захтева земљишта са рН вредношћу од 6,5 до 7, самим тим земљишта не могу бити превише влажна и кисела, у супротном потребно је извршити калцизацију, фосфатизацију, наводњавање, испирање соли и др.

### 2.1.2. Сунцокрет

Сунцокрет је пореклом из Америке а његов латински назив је *Helianthus annuus* L. Сматра се да му је ужа домовина Мексико и Перу. Н. И. Вавилов сматра да је постојбина сунцокрета југозападни део северне Америке. Почетком 16. века су га шпанци пренели у Европу и гајили у ботаничкој башти у Мадриду. У прво време сунцокрет се гајио као украсна биљка по баштама и вртovima. Ботаничар Монард га је 1582. године описао и назвао „трава сунца“. Из шпаније се проширио у друге европске земље. У Русији се почео користити као сировина за производњу уља средином 18 века. Сунцокрет као ратарска култура је почео да се гаји у СССР. Конкретно 1802. године у Саратову је засејана значајна површина са 9,4 kg семена и

постигнута је принос од 7,5 тс. Из овог семена су цедили уље, а погаче користили за исхрану стоке. Од тог времена је сунцокрет постао важна ратарска култура и као културна биљка почео се ширити и у друге земље.

У нашој земљи се сунцокрет најпре гајио по баштама и вртovima као украсна биљка. У току првог светског рата Аустроугарска је почела да у већој мери форсира гајење сунцокрета у ужој Србији, ради производње уља. Међутим, у већим размерама је почео да се производи 1930. године, нарочито у Војводини, па све до данас. Чињеница је да сунцокрет веома добро подноси наше климатске услове, даје добар род чак и у најтоплијим и најсушнијим годинама. Пољопривреда у Србији се више не би могла замислити без сунцокрета. Уље од сунцокрета је још увек убедљиво најзаступљеније уље у нашим кухињама, нешто због навике а нешто и због приступачне цене.



Слика 2: Сунцокрет (*Helianthus annuus* L.)

Извор: <https://www.agroklub.rs/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/suncokret-84/>  
(датум приступа 01.09.2024.)

## 2.2. РОД *Aspergillus* spp.

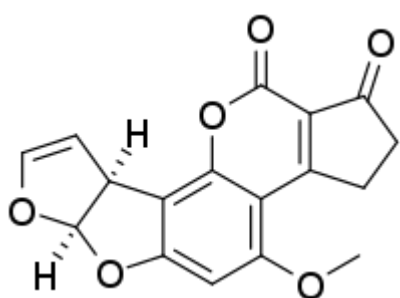
Површина колоније је вунастог, зрнастог или баршунастог изгледа са мање или више развијеним ваздушним мицелијумом. Колоније су обично округле или овалне, збијене или благо лабаве. Боја колоније варира од зелене, плаве, розе и црне. Боје колонија плесни потичу од боја спора, тј. конидија. Конидиофори су равни, неразгранати и несептирани, дужине неколико мм. Расту директно из вегетативних хифа (мицелије супстрата). Основа конидиофора је названа ножна ћелија јер заиста има облик стопе и нема попречну преграду, а конидиофор стоји на њој и завршава се проширењем овалног или елиптичног округлог типа - везикула. Лептири и фиалиди су причвршћени за везикулу. Неке врсте формирају само фиалиде (*A. clavatus*). Док се конидије (*егзоспоре*) формирају на фиалидама: округле овалне или елиптичне, глатке или храпаве и увек једноћелијске, формиране у дужим или краћим неразгранатим ланцима, безбојне су или слабо обојене, а сазревањем добијају изразитију боју (зелена, плава, розе и црна).

*Aspergillus* spp. добро расту чак и у срединама са високим концентрацијама шећера и соли. То су халофили, осмофили и ксерофили. Могу бити загађивачи намирница. Ово се дешава у сировим и сувим кобасицама, сувој и куваној шунци, пакованом месу. Неки производе токсине: *A. flavus* (синтетише целу групу афлатоксина флавуса), *A. ochraceus* (колонија плесни окер боје због тога су и добиле име, синтетишу охратоксине). Обе врсте су изузетно честе чак и у фрижидерима (Стојшин и сар., 2008).

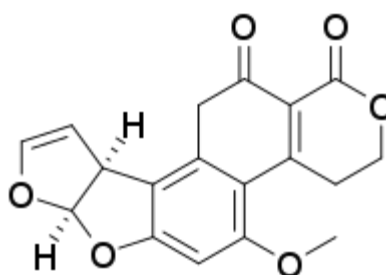
Афлатоксини су природни микотоксини које производе многе врсте гљива, од којих су најзначајније *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*. Афлатоксини су отровни и спадају међу најканцерогеније познате супстанце (Hudler, George, 1998). Афлатоксини се стварају на пољу, и током складиштења, а најчешће се могу наћи у кукурузу, сусаму, кикирикију, памуку, пиринчу, пистаћима, семенкама бундеве, бадему, лешнику, сунцокрету, соји, сушеном воћу и зачинима.

Најзначајнији су афлатоксин В1, В2, G1, G2, М1 и М2. Афлатоксин В1 је најтоксичнији и готово је увек присутан где и В2, G1 и G2. Само афлатоксин В1, који може да се нађе нпр. у намирницама које садрже непрерађене житарице али не може

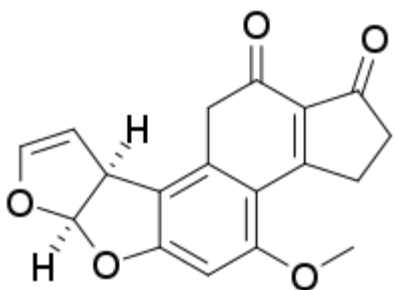
да се нађе у млеку, убраја се у групу канцерогених супстанци, тј. спада у групу 1 према IARC класификацији (International Agency for Research on Cancer) што значи да је агенс карциноген и да је то доказано код људи. Афлатоксин М1 спада у групу 2А што значи да је вероватно карциноген код људи (карциногеност је доказана код животиња). Афлатоксини су добили назив према А (*Aspergillus*) + FLA (*flavus*) + ТОКСИН, а ознаке В и G означавају појаву плаве (blue) или зелене (green) боје флуоресценције под UV зрацима.



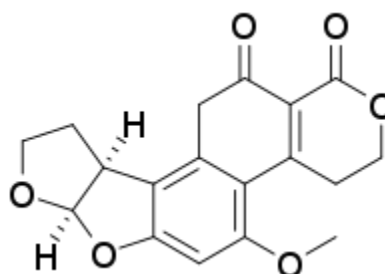
Афлатоксин В1



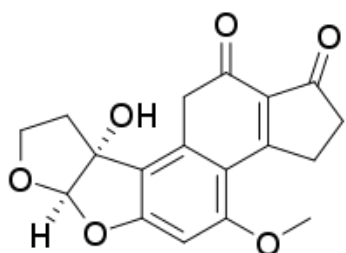
Афлатоксин В2



Афлатоксин G1



Афлатоксин G2



Афлатоксин М1

Слика 3: Хемијска структура неких представника афлатоксина  
Извор: <https://seljak.me/savjetuje/sta-je-aflatoksin-i-zasto-nam-zadaje-toliko-problema/>  
(датум приступа 01.09.2024.)



Слика 4 и 5: Колонија *Aspergillus* spp. и симптом аспергилозе на клипу

Извор:<http://www.pisvojvodina.com/RegionNG/Lists/Photos/Forms/DispForm.aspx?ID=333&RootFolder=%2FRegionNG%2FLists%2FPhotos%2FKukuruz%2F2020> (датум приступа 01.09.2024.)

### 2.3. РОД *Fusarium* spp.

Колоније су вунасте и различите боје: крем, сиво-крем, розе и црвене. Размножава се микроконидијама и макроконидијама тако да се једна конидија налази на једном конидиофору заједно са фиалидом. Размножава се чак и на  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Излучује изузетно токсичне егзотоксине из групе афлатоксина. Они су термостабилни, па се њихова структура тешко може уништити употребом виших температура. Егзотоксин зеареленон је метаболит рода *Fusarium* изолован из кукуруза (недавно је чак изолован и из сира) (Стојшин и сар., 2008).

Врсте рода *Fusarium* су веома распрострањене, а штетне су и за људе и за биљке. Постоји много врста. Често напада житарице, а налази се и на другим биљкама. Фузариозна трулеж корена и стабла је широко распрострањено обољење кукуруза. Посебно је значајно обољење у полуаридним и аридним климатским појасевима. У рејонима где се редовно јавља, може значајно да утиче на смањење приноса и погоршање квалитета зрна. Штетност овог обољења зависи од утицаја спољних фактора, као и осетљивости сорте, односно хибрида. У изузетно неповољним

условима за раст и развој усева, зараженост биљке може да износи и преко 80% (Стојшин и сар., 2008).

Код кукуруза видљиви симптоми фузариозних трулежи корена и стабла се уочавају у време интензивног наливања зрна у виду превременог-принудног зрења. Док, када је реч о зараженим биљкама долази до интензивног сушења, најпре доњих старијих, а касније и осталих листова, односно целе биљке, које се превремено суше, па долази до појаве да се на доњим деловима стабла јављају некротичне површине, најпре око нодуса које касније захватају цео приземни део стабла. Па се услед деструктивног деловања проузроковача, корен и приземни део стабла разграђује и биљке у време техничке зрелости масовно полежу. Клип услед недовољног наливања зрна губи чврстину и савитљив је. Проузроковачи овог обољења сврставају се у паразитске слабости. Паразитирају искључиво ослабљене биљке, док су биљке које расту при нормалним условима, обично знатно мање осетљиве. У нашим агроколошким условима биљке најчешће губе виталност услед недостатка земљишне влаге у сушним годинама. Поједини агротехнички фактори могу у значајној мери да допринесу губљењу виталности биљака (прегуст склоп биљака, једнострано ђубрење азотом, лоша обрада и др. (Стојшин и сар., 2008).

Мере заштите – важно је гајење мање осетљивих хибрида, затим употреба здравог семена, дезинфекција семена и правилна примена свих агротехничких мера које доприносе очувању виталности биљака. Првенствено треба применити оне агротехничке мере, које ће допринети очувању земљишне влаге, као што је квалитетна основна обрада и предсетвена припрема земљишта, затим оптимални склоп биљака, плодоред, избалансирано ђубрење, наводњавање у сушним периодима и др. Препарати за третирање семена су: Bevesan 60-S, Bevetiram, Fužotion, Mankogal-FS, Mankogal-S, Mankohem-FS (mankozeb), Maxim XL 035-FS (флудиоксомил+металаксил-м), Royal-Flo (тирам), Vitavax 200-FF (карбоксин+тирам) (Стојшин и сар.,2008).



Слика 6 и 7: Симптоми на клипу кукуруза проузроковано од стране *Fusarium* spp.

Извор: <http://www.pisvojvodina.com/RegionVS/Lists/Posts/Post.aspx?ID=154>

(датум приступа 01.09.2024.)



Слика 8: Симптоми на клипу проузроковано од стране *Fusarium* spp.

Извор: <http://www.pisvojvodina.com/RegionVS/Lists/Posts/Post.aspx?ID=154>

(датум приступа 01.09.2024.)



Слика 9: Колонија *Fusarium* spp.

Извор: <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/fusarium-spp>

(датум приступа 01.09.2024.)



## 2.4. СИБИРСКИ АРИШ

У овом раду је додатно испитан утицај једног комерцијалног фитопрепарата претпостављеног снажног антиоксидантног капацитета - таксифолина (5,7,3",4" - флаванол), такође, познатог као дихидрокверцетин, који припада подкласи флаванола који припадају класи флавоноида у оквиру полифенола. Таксифолин и флавоноиди уопште, могу се наћи у многим пићима и прехранбеним производима. Конкретно, таксифолин се налази у биљној храни као што су воће, поврће, вино, чај и какао.

Таксифолин коришћен у овом истраживању изолован је из сибирског ариша и комерцијално је доступан на нашем тржишту. Претпоставка је била да овај препарат може сузбити негативно дејство фитопатогених гљива својим снажним антиоксидатним деловањем. Стога је из овог разлога представљао додатну контролу у огледу.

Сибирски ариш или руски ариш (*Larix sibirica* Ledeb.), је дрво отпорно на мраз, пореклом из западне Русије, од близу Финске границе до долине Јенисеја у централном Сибиру на истоку, где се хибридује са дахурским аришом *L. gmelinii* из источног Сибира. Хибрид је познат као *Larix × Czekanovskii*.

То је средње до велико листопадно четинарско дрво које достиже висину од 20–50 m са деблом пречника до 1 m. Круна је у младости конична, са годинама постаје широка. Главне гране су равне до уздигнуте, са бочним гранама често вишећим. Избојци су диморфни, са растом подељеним на дуге изданке (обично дуге 10–50 cm) и носе неколико пупољака, а кратки изданци дуги само 1–2 mm са само једним пупољком. Има биморфне иглице, са иглицама на новом изданкукоје су појединачно ношене и распоређене у спиралу око гране и иглицама на старијем дрвету које се налазе у гроздовима од 15-40 иглица. Најлакше га разликује од блиског европског ариша по томе што су изданци длакави (код европског ариша су без длаке). Листови су игличасти, светлозелени, дугачки 2–5 cm и постају јарко жути пре него што опадну у јесен, остављајући бледожуто-жуте изданке голим до следећег пролећа.

Мушке и женске шишарке се рађају одвојено на истом дрвету. Опрашивање је у рано пролеће. Мушке су појединачне, жуте, округле до дугуљасте, пречника 4–8 mm и

производе полен без крила. Зреле женске шишарке су усправне, јајолико-конишне, дуге 2–5 cm, са 30-70 усправних или благо закривљених (непокрених) и перластих семенских љуски. Зелене су променљиво црвене боје када су незреле, постају смеђе и отварају се да би се ослободиле крилато семе када сазре, 4-6 месеци након опрашивања. Стари чешери обично остају на дрвету дуги низ година, постајући мутно сиво-црни. Минимална старост рађања семена је 10-15 година (Vorbov, 1972).



Слика 10: Сибирски ариш

Извор: <https://www.drivotgovinamiksa.eu/sibirski-aris-podnica-ograda/>  
(датум приступа 01.09.2024.)

## 2.5. АНТИОКСИДАНТНИ СИСТЕМ БИЉАКА

Еколошки фактори (високе и ниске температуре, суша, ултраљубичасто зрачење, тешки метали, пестициди и др.), могу изазвати оксидативни стрес код биљака. Оксидативни стрес у биљкама доводи до појачаног стварања реактивних кисеоничних врста (reactive oxygen species - ROS), као што су супероксид-радикал ( $O_2^-$ ), водоник-пероксид ( $H_2O_2$ ), хидроксил-радикал ( $\cdot OH$ ) и синглет кисеоник ( $^1O_2$ ), који континуирано настају у ћелијама изложеним аеробном окружењу. Појава ових токсичних врста код биљака условљава поремећаје у расту и развићу, доводи до оштећења појединих ћелијских компоненти и пероксидације мембранских липида (Маленчић, 2001).

Супероксид-радикал ( $O_2^-$ ) настаје први у низу симултаних реакција редукције молекулског кисеоника. Супероксид-радикал сам ретко изазива оштећење ћелија, али се сматра токсичним јер гради водоник-пероксид и хидроксил-радикал.

Водоник-пероксид ( $H_2O_2$ ) настаје редукцијом молекулског кисеоника са два електрона у присуству водоникових јона. Нема неспарене електроне и није радикал, али се сврстава у реактивне кисеоничне честице јер лако ступа у реакције са металима при чему настаје хидроксил-радикал (Шућур, 2015).

Хидроксил-радикал ( $\cdot OH$ ) представља најреактивнији облик кисеоника, реагује у близини места настајања и најчешће оштећује молекул из кога је настао. Настаје раскидањем О-О везе у молекулу  $H_2O_2$  (најчешће под утицајем топлоте, јонизујуће радијације, ултраљубичастиг зрачења) (Поповић, 2005).

Да би се заштитиле од оксидативних оштећења изазваних реактивним кисеоничним врстама, биљке су током еволуције развиле антиоксидантни систем заштите који обухвата антиоксидантне ензиме и неензимске антиоксиданте. Од ензима који највише учествују у антиоксидантној заштити до данас су у биљкама проучени супероксид-дизмутаза, каталаза, пероксидаза, аскорбат-пероксидаза, глутатион-редуктаза итд. Ензими представљају тзв. прву линију антиоксидантне заштите. Неензимски антиоксиданти су нискомолекуларна органска једињења из групе секундарних биомолекула. То су сулфхидрилна једињења као нпр. трипептид

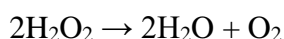
глутатион (GSH), различите фенолне структуре, токофероли, каротеноиди, L-аскорбинска киселина, терпени и њихови гликозиди и неки други секундарни биомолекули. Наведена једињења чине антиоксидантни систем који одржава реактивне кисеоничне врсте у ниској концентрацији у ћелијама и ткивима и време спречава настанак оксидативног стреса (Маленчић, 2001). Према растворљивости у липидима неензимски антиоксиданти се деле на липо и хидросолубилне. Ова особина одређује место њиховог деловања. Липосолубилни делују у липидној фази ћелијске мембране и мембране субцелуларних органа. Хидросолубилни делују у воденој фази, стварајући интеракцију са липосолубилним антиоксидантима на граничној површини мембране (Поповић, 2005).

### 2.5.1. Ензимски антиоксидантни системи заштите

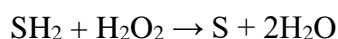
Супероксид-дисмутаза (SOD; EC 1.15.1.1) је врло сложен ензим којег су Ман и Kellin још 1938. године изоловали из говеђе крви. SOD је заједнички назив за више металоензима који катализују реакцију дисмутације  $O_2^-$  до  $H_2O_2$  и  $O_2$ .



Каталаза (EC; 1.11.1.6) је ензим који је прво изолован из јетре и показало се да катализује реакцију разлагања водоника пероксида:



Пероксидаза (EC 1.11.1.7) је пратилац каталазе у пероксизомима биљака. Она је олигомерна оксидаза која катализује дехидрогенацију различитих супстрата према реакцијама:

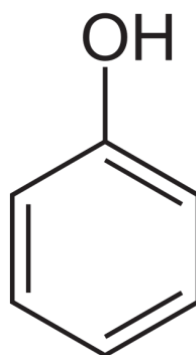


Супстрати пероксидаза могу бити природне супстанце (фенолна једињења) или вештачки синтетисани (попут гвајакола). Пероксидаза је активна у интервалу рН 4-10 и има различиту примарну структуру зависно од извора (Поповић, 2005).

## 2.6. БИЉНИ ФЕНОЛИ

Биљни феноли су хемијска једињења која карактерише најмање један ароматични прстен (C<sub>6</sub>) за који је везана бар једна хидроксилна (ОН) група. Феноли су веома реактивна једињења и као таква растворљива су у води. Заједно са шећерима граде гликозиде (Поповић и Штајнер, 2008).

Веома су распрострањени и у биљкама је до данас идентификовано више хиљада фенолних једињења. Налазе се у вакуолама. У додиру са ваздухом лако оксидују у хиноне или у једињења хиноидне структуре, постају смеђе боје и граде производе који формирају комплексе са протеинима, инхибирајући ензимску активност (Поповић и Маленчић, 2006).



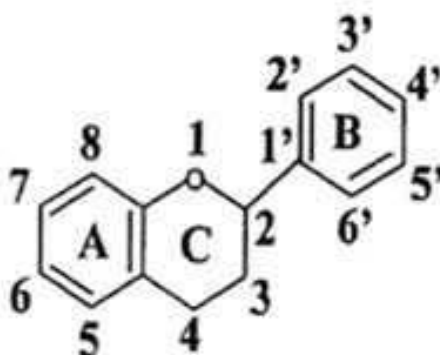
Слика 11: Основна структура фенола  
Извор: Поповић и Маленчић, 2006.

Еволутивна адаптација биљака на копнени начин живота омогућена је у великој мери настанком и синтезом фенолних једињења, јер биљке као и сав живи свет на планети, потичу из воденог окружења. Феноли представљају интегрални део структуре ћелијског зида. Најважнија функција фенола је у формирању боје цветова, а дају и значајан допринос укусу и мирису биљних врста. Ово је веома важно због привлачења инсеката и животиња, тачније опрашивања и разношења семена.

Такође, доприносе чврстоћи и постојаности коре дрвеног биља. Феноли учествују у одбрани биљака од патогена и предатора на тај начин што једноставне фенолне киселине и комплекси танина и фенолних смола на површини биљака успешно одбијају нпр. птице. Такође могу утицати на конкуренцију између биљака, односно алелопатију, тј. делују као алелопатска једињења (Поповић и Маленчић, 2006).

### 2.6.1. Флавоноиди

До данас је познато више од 5000 различитих флавоноида које синтетизују биљке. То су у води растворљиви жути, црвени или љубичасти пигменти који се налазе у свим органима биљака, а нарочито у цветовима и листовима. Најчешће су лоцирани у вакуолима, хлоропластима и хромопластима биљака. Флавоноиди представљају веома распрострањену  $C_6-C_3-C_6$  класу биљних фенолних једињења. Агликонски скелет од 15 C-атома се јавља у различитим структурним класама у зависности од оксидационог стања централног пирановог прстена. Структуре се унутар ове класе модификују помоћи хидроксилацији и метилацији. Флавоноиди се обично глукозилују али и многи од њих ацилују са алифатичним и ароматичним киселинама. Најновија открића везана за функције фенола, посебно флавоноида, односе се на њихову улогу сигнал-молекула у интеракцији између бактерија, азотофиксатора и одређених припадника фамилије *Fabaceae* (легуминозе) (Поповић и Маленчић, 2006).

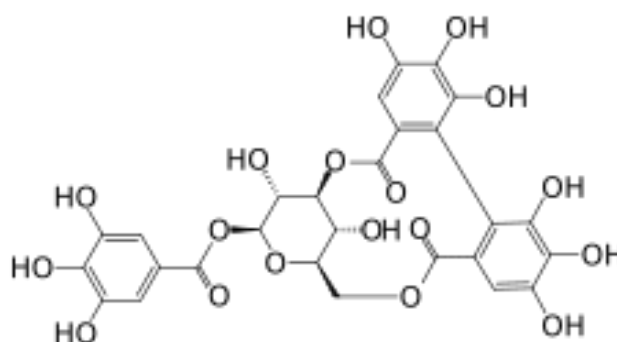


Слика 12: Структура флавоноида

Извор: Радић, М., (2009): Метаболизам флавоноида, Завршни рад, Природословно-математички факултет, Универзитет у Загребу, стр. 2

### 2.6.2. Танини

Танини су растворљиви биљни полифеноли који изазивају таложење протеина из водених раствора. Они су олиго- и полимерни феноли који су подељени у две групе: хидролизујући и кондензујући (проантоцијанидини). Насупрот фенолним полимерима лигнина обе групе танина се налазе у биљним вакуолама. Танини су широко распрострањени у многим биљним врстама, где имају важну заштиту улоге предатора, у неким врстама чак и улогу пестицида.

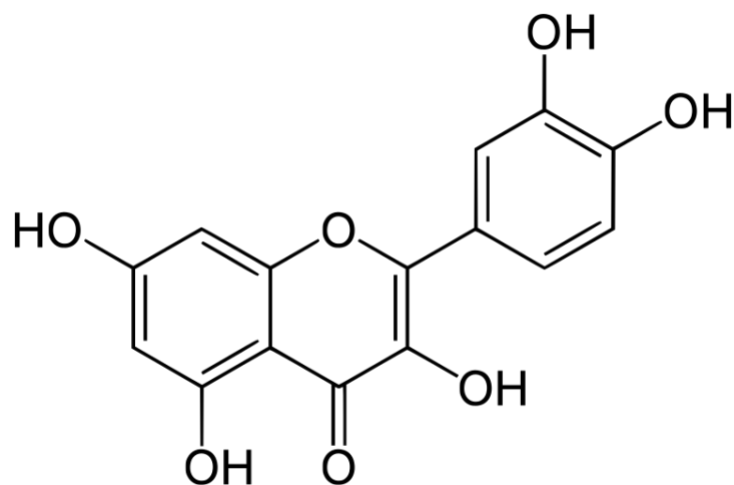


Слика 13: Структура танинске киселине

Извор: Амић, Д., Давидовић-Амић, Д., Бешло, Д., Тринајстић, Н. (2003), Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids, Faculty of Agriculture, The Josip Juraj Strossmayer University, стр. 56

### 2.6.3. Кверцетин

Кверцетин се сматра биофлавоноидом из групе полифенола због тога што је његова хемијска структура основни "скелет" већине других биофлавоноида, укључујући рутин и хесперидин. Неки научници га зову још и „краљем” флавоноида. Кверцетин је флавонол. Овај биљни флавоноид је присутан у воћу, поврћу и житарицама. У бројним студијама кверцетин се показао као најактивнији од већине биофлавоноида, бројне лековите биљке своју активност дугују управо кверцетину. Показало се да је кверцетин добар противупални агенс јер директно блокира неколико почетних ступњева упалног процеса. На пример, кверцетин блокира синтезу и ослобађање хистамина и других медијатора упале. Осим тога доказано је да је јак антиоксиданс, штити LDL холестерол од оксидације, и на тај начин смањује опасност од његовог накупљања на унутрашњим зидовима артерија. Кверцетин такође спречава згрушавање крви, а тиме и стварање крвних угрушака (Hertog и сар., 1993).



Слика 14: Кверцетин, 2 - (3, 4-дихидроксифелин) -3, 5, 7-трихидрокси - 4Х-хромен-4-ОН

Извор: Амић, Д., Давидовић-Амић, Д., Бешло, Д., Тринајстић, Н. (2003), Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids, Faculty of Agriculture, The Josip Juraj Strossmayer University, стр. 56



### 3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Циљ истраживања овог рада био је да се испита утицај гљива *Aspergillus* spp. и *Fusarium* spp. на младе биљке кукуруза и сунцокрета, и то на параметре биотичког стреса и антиоксидантне механизме. У циљу селекције отпорности генотипова кукуруза и сунцокрета на фитопатогене гљиве *Aspergillus* spp. и *Fusarium* spp. испитани су параметри оксидативног стреса у два различита генотипа - кукуруза (хибрид NS 3023) и сунцокрета (хибрид NS OSKAR P-1398). Праћена је активност антиоксидантних ензима супероксид-дисмутазе (SOD) и пирогалол-пероксидазе (PPx), затим садржај редукованог глутатиона (GSH) и малондиалдехида (MDA, главног производа липидне пероксидације (LP)), као и садржај најважнијих класа биљних фенола.

## 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

### 4.1. ПОСТАВЉАЊЕ ОГЛЕДА

Експериментални рад је обухватио 240 биљака кукуруза и 240 биљака сунцокрета (по 10 биљака у 4 посуде), подељених у 6 група: 1) контрола (1К и 1С), 2) биљке+дихидрохверцетин (2К и 2С), 3) биљке инокулисане са *Aspergillus* spp. (3К и 3С), 4) биљке инокулисане са *Fusarium* spp. (4К и 4С), 5) биљке инокулисане са *Aspergillus* spp.+дихидрохверцетин (5К и 5С), и 6) биљке инокулисане са *Fusarium* spp.+дихидрохверцетин (6К и 6С).

Семе генотипова кукуруза (хибрид “NS 3023”) и сунцокрета (хибрид „NS OSKAR P-1398,„) су произведени на Научном институту за ратарство и повртарство у Новом Саду. Сојеви фитопатогених гљива *Aspergillus* spp. и *Fusarium* spp. су изоловани из узорка земљишта и гајени на хранљивој подлози (Труpton 10.0 g, екстракт квасца 5.0 g, агар 15.0 g, и 1000 mL дестилована H<sub>2</sub>O), на 28°C, 72 h а затим чуваниу фрижидеру на 4°C. Инокулум је припремљен тако што је стерилном шпатулом узета култура оба соја гљива и растворена у 100 mL медијума за инокулацију. Он је инкубиран у шејкеру – Incubator ES – 20/60 (BiorSAM, Естонија) 24 h на 28°C, а затим центрифугиран (на 150 обртаја у минути) чиме је постигнута пропација раста патогена. Препарација и узгој микробиолошких узорака урађена је у Лабораторији за микробиологију, Пољопривредни факултет Нови Сад.

Семена кукуруза и сунцокрета површински су стерилисана потапањем у 5% раствор натријум хипохлорита (NaOCl) 20 min, и испрана су неколико пута дестилованом водом. Семена су инокулисана пре сетве потапањем у 60 mL одговарајућег инокулума 30 минута. Семена контролног узорка су потопљена у исту запремину дестиловане воде у истом временском периоду. Семена су сејана у чисте дезинфиковане пластичне посуде напуњене стерилним изжареним песком.

Биљке су гајене 21 дан у контролисаним условима коморе за гајење биљака, на температури од 25-26°C, при релативној влази ваздуха од 60%, са фотопериодом 18:6 часова (светло:мрак), при интензитету светла од 10.000 lx, уз свакодневно заливање дестилованом водом.



Слика број 15: Утицај фитопатогених гљива на раст младих биљака кукуруза  
( Фото: оригинал)



Слика број 16: Утицај фитопатогених гљива на раст младих биљака сунцокрета  
( Фото: оригинал)

## 4.2. ПРИПРЕМА ЕКСТРАКТА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА

Екстракти свежег биљног материјала за биохемијске анализе добијени су хомогенизацијом 1 g свежег биљног материјала (листова кукуруза и сунцокрета) у авану уз додатак 10 ml 0,1 mol/dm<sup>3</sup> КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> пуфера (рН 7). Након хомогенизације, хомогенат је квантитативно пренет у пластичну епрувету. Добијени екстракти су центрифугирани на 10000 обртаја/мин. Супернатант је коришћен као узорак у даљим анализама.

## 4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНТЕНЗИТЕТА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ (LP)

Садржај малондиалдехида (MDA), једног од крајњих производа разградње мембранских липида у ћелијама, користи се као мерило интензитета липидне пероксидације (LP). Интензитет LP одређује се помоћу тиобарбитурне киселине (ТБА), при чему је мерена оксидација липида ћелијских мембрана преко реакција липид-пероксидних продуката насталих у реакционом систему са тиобарбитурном киселином (Mandal и сар., 2008).

Реакционе смеше, које чине 0,5 ml узорка (екстракти листова кукуруза, одн. сунцокрета) и 2 ml раствора за екстракцију MDA (20% трихлорсирћетна киселина, (ТСА) (100 g CCl<sub>3</sub>COOH + 500 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) : 0,5% тиобарбитурна киселина, ТБА (1 g ТБА + 100 ml 10% HClO<sub>4</sub>) = 3:1), загреване су 30 мин на 90°C на воденом купатилу. Након тога су охлађени и центрифугирани 10 мин на 10000 о/мин. Садржај MDA у добијеном супернатанту очитан је спектрофотометријски на λ= 532 nm. Интензитет LP изражен је бројем nmol MDA еквивалената по граму свежег биљног материјала nmol MDA/g св.м).

## 4.4. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИД-ДИКМУТАЗЕ (SOD)

Активност супероксид-дисмутазе (SOD, ЕС 1.15.1.1) одређена је по методи Mandal и сарадника (2008) са малим изменама, која се базира на принципу способности инхибиције фотохемијске редукције нитроблутетразолијум-хлорида (NBT).

Активност SOD изражава се као 1 јединица (U), дефинисана као количина SOD потребна за 50% инхибицију редукције NBT, а у овом раду је изражена као број U по g свежег биљног материјала (U/g св.м.). Реакциони медијум чинили су: 200  $\mu$ l фосфатног пуфера (pH 7,8), 600  $\mu$ l NBT-а ( $63 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ), 200  $\mu$ l L-метионина ( $13 \text{mmol}/\text{dm}^3$ ), 200  $\mu$ l EDTA ( $0,1 \text{mmol}/\text{dm}^3$ ), 600  $\mu$ l рибофлавина ( $13 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ) и 20  $\mu$ l екстракта листова соје (односно воде у слепој проби). Епрувете са реакционим смешама изложене су 15 минута флуоресцентној лампи од 18 W, а затим су очитане апсорбансе слепе и радних проба на  $\lambda = 560 \text{ nm}$ .

#### 4.5. ОДРЕЂИВАЊЕ АКТИВНОСТИ ПИРОГАЛОЛ-ПЕРОКСИДАЗЕ

Метода за одређивање пирогалол-пероксидазе (PPx, EC 1.11.1.7), заснива се на реакцији оксидације пирогалола у пурпурогалин у присуству ензима пирогалол-пероксидазе. Активност PPx изражена је у U по g свежег биљног материјала (U/g св.м.).

#### 4.6. ОДРЕЂИВАЊЕ КОЛИЧИНЕ РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА (GSH)

Садржај глутатиона (GSH) одређен је на основу реакције боје непротеинских тиолних (-SH) група у присуству 5,5-дитиобис [2-нитробензојеве киселине] (DTNB) (Sedlak и Lindsi, 1968). Апсорбанца добијеног обојеног производа је очитана спектрофотометријски после 5 минута на  $\lambda = 412 \text{ nm}$ . Садржај GSH одређен у радним узорцима у односу на слепи узорак у коме је узорак изостављен. За припрему узорка узето је 1 ml екстракта свежег биљног материјала, 1 ml 5% TCA и 1 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Смеша је центрифугирана 10 минута на  $1500 \times g$ . Супернатант (0,1 ml) је додат у реакциони медијум који се састоји од 2,0 ml 0,4 M TRIS-HCl пуфера (pH 8,9), 0,9 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  и 0,1 ml 6 mM DTNB. Садржај GSH се изражава бројем  $\mu\text{mol}$  GSH по граму свежје биљне масе ( $\mu\text{mol}$  GSH/g св.м.).

#### 4.7. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНОГ ФЕНОЛА

Укупни феноли су одређени помоћу Folin-Ciocalteu реагенса по методи Hagerman и сарадника (2000). Ова метода се базира на мерењу редукционог капацитета фенолних једињења и других сродних супстанци. Реакциона смеша се припрема мешањем 3,36 ml дестиловане воде, 200  $\mu$ l 33% раствора Folin-Ciocalteu, 20  $\mu$ l екстракта (осим у слепој проби где се додаје 20  $\mu$ l воде) и 400  $\mu$ l раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Након 60 минута, читава се апсорбанца на  $\lambda = 720 \text{ nm}$ . За конструисање калибрационе криве користи се серија разблажења галне киселине у води, припремљена из основног раствора галне киселине. Садржај укупних фенола у испитиваним екстрактима изражава се као mg еквивалената галне киселине по g суве масе биљног материјала (mg GAE/g с.м.).

#### 4.8. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНИХ ТАНИНА

За одређивање укупних танина примењује се метода за одређивање укупних фенола, с тим што се као узорак користи супернатант добијен центрифугирањем (1960 x g, 10 min) реакционе смеше коју чине 0.1 g поливинилполипиролитона (PVPP), 1 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  и 1 ml екстракта. Након таложења танина, помоћу PVPP-а, одређује се садржај нетанинских фенола у супернатанту. Из разлике садржаја укупних фенола и нетанинских фенола добија се садржај укупних танина у узорку (Маленчић и Поповић, 2011). Количина укупних танина изражава се као mg еквивалената галне киселине по g суве масе биљног материјала (mg GAE/g с.м.).

#### 4.9. ОДРЕЂИВАЊЕ УКУПНИХ ФЛАВОНОИДА

Метода за одређивање количине укупних флавоноида базира се на особинама флавоноида да са јонима метала граде одговарајуће метало комплексе (Markham, 1989). Реакциона смеша се припрема мешањем одређене запремине узорка (400  $\mu$ l екстракта), 1 ml дестиловане воде и 2,5 ml раствора  $\text{AlCl}_3$  (осим у слепој проби где се додаје вода). Након 15 минута читава се апсорбанса на  $\lambda = 430 \text{ nm}$ . Калибрациона

крива је конструисана помоћу серије разблажења кверцетина у 70% ЕтОН, почевши од основног раствора. Са калибрационе криве стандарда кверцетина израчунат је садржај флавоноида у испитиваним екстрактима и изражен као mg еквивалената кверцетина по g суве масе биљног материјала (mg QE /g с.м.).

#### 4.10. DPPH-РАДИКАЛСКИ ТЕСТ

Укупна неензимска антиоксидативна активност испитиваних узорача одређена је по методи Lee и сарадника (1998), која се базира на разлици у активности уклањања 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил радикала (DPPH-радикал) између слепо и радне пробе. На основу добијене разлике, изражене као % у односу на контролу, може се оценити укупна неензимска антиоксидативна способност биљног екстракта. Уситњено је 0.4 g сувог биљног материјала и хомогенизовано у расхлађеном (4°C) авану са тучком са 4.0 ml апсолутног ЕтОН. Након центрифугирања, 0.5 ml супернатанта додато је 0.25 ml DPPH етанолног раствора и 1.25 ml апсолутног етанола, док је у слепу пробу уместо узорка додато 0.5 ml апсолутног етанола. Након 30 минута очитана је апсорбанса на  $\lambda=517$  nm. Активност уклањања DPPH-радикала изражена је као број mg еквивалената тролокса по g суве масе биљног материјала (mg troloxa /g с.м.).

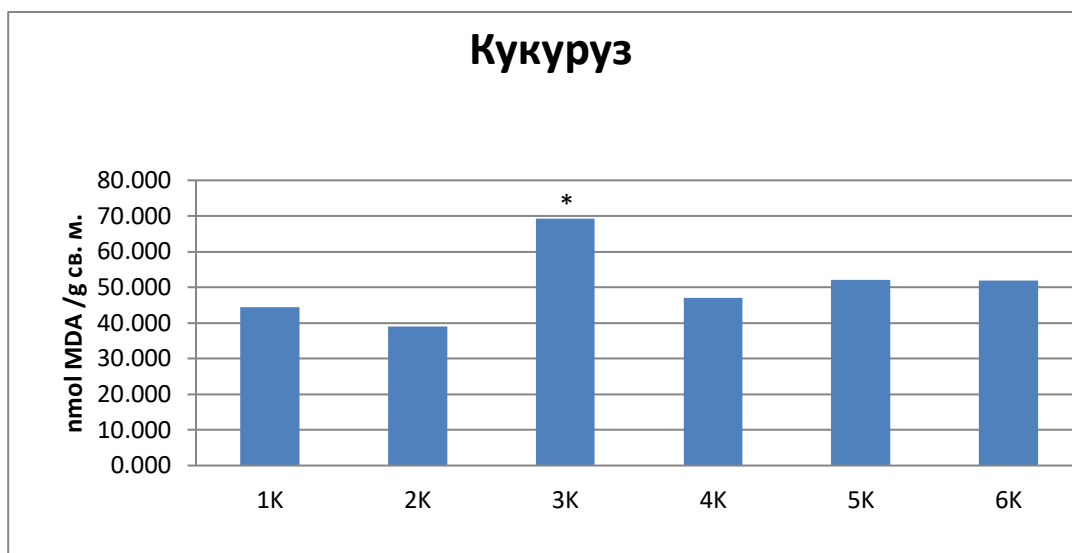
#### 4.11. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Сви експерименти су изведени у три понављања, а резултати представљени као средња вредност. Одређена је стандардна грешка средње вредности (SE). Подаци су обрађени применом софтверског пакета Microsoft Excel for Windows верзије 2007 и Statistica for Windows верзије 13.2 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA).

## 5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### 5.1. ЛИПИДНА ПЕРОКСИДАЦИЈА

Повећана липидна пероксидација представља последицу на појаву биотичког стреса, код кукуруза и сунцокрета, у овом случају. Односно, липидна пероксидација је процес оксидативног оштећења липида у ћелијским мембранама, што је показатељ оксидативног стреса у биљкама.



Графикон 1: Утицај различитих третмана на интензитет липидне пероксидације у кукурузу

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1K - контрола

2K - дихидрохверцетин

3K - *Aspergillus*

4K - *Fusarium*

5K - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

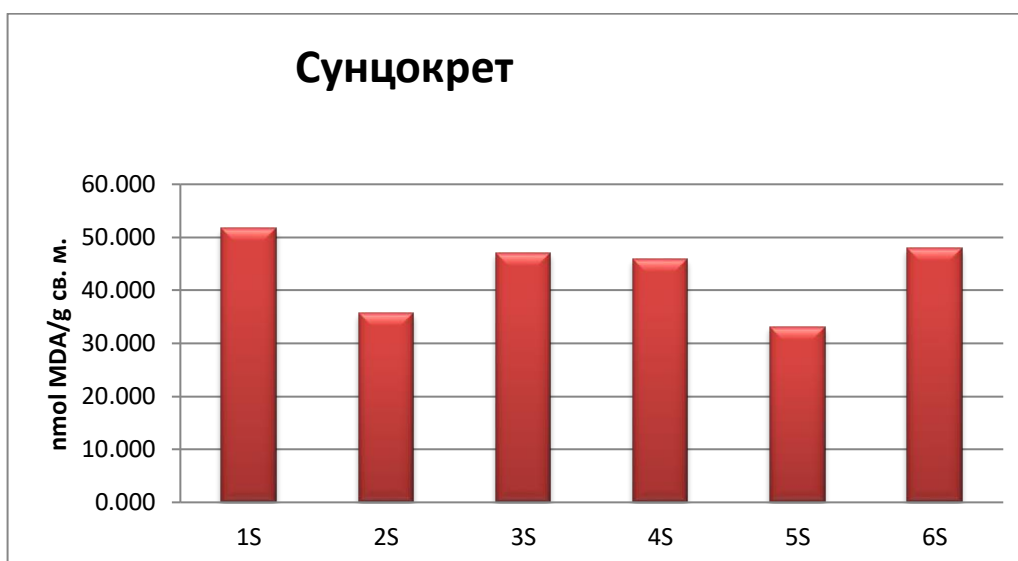
6K - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Контролна група (1K) представља ниво липидне пероксидације у нетретираним биљкама кукуруза. Уз примену дихидрохверцетина (2K), ниво липидне пероксидације је сличан контролном третману, што сугерише да дихидрохверцетин не повећава оксидативни стрес у биљкама. Излагање кукуруза гљиви *Aspergillus* (3K) резултирало је значајним порастом липидне пероксидације, означеним са звездом (\*), указујући на то да *Aspergillus* индукује оксидативни стрес у биљкама. Ово је очекивано, јер



инфекција гљивом може довести до повећаног стварања слободних радикала и оксидативног оштећења ћелијских компоненти.

Третман са *Fusarium* (4К) показује ниво липидне пероксидације који је нешто нижи од оног који је индукован са *Aspergillus* али и даље повишен у односу на контролу, што сугерише да и *Fusarium* може изазвати оксидативни стрес. Када се кукуруз третира комбинацијом *Aspergillus* и дихидрохверцетина (5К), долази до смањења липидне пероксидације у поређењу са самим третманом *Aspergillus*, што би могло указивати на то да дихидрохверцетин има заштитни ефекат. Слично, комбинација *Fusarium* и дихидрохверцетина (6К) показује смањење садржаја MDA у односу на третман само са *Fusarium*, што може указивати на заштитни ефекат дихидрохверцетина.



Графикон 2: Утицај различитих третмана на интезитет липидне пероксидације у сунцокрету

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрохверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

5S - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрохверцетин

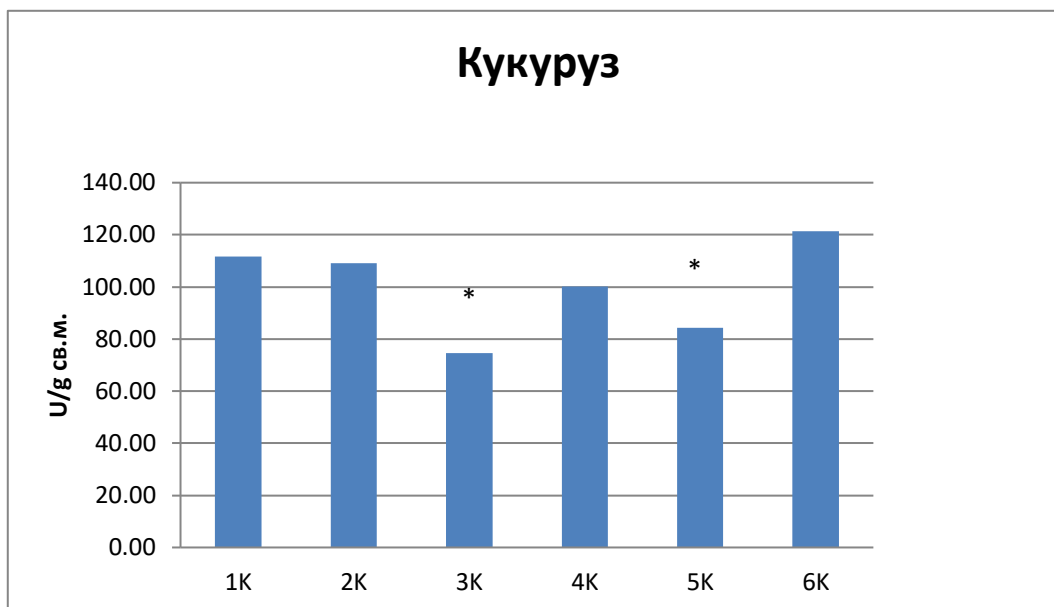
Из графикана је видљиво да су третмани са *Aspergillus* и *Fusarium* појединачно имали умањујући ефекат на интензитет LP у односу на контролну групу. Међутим, када се дихидрохверцетин комбинује са *Aspergillus* или *Fusarium* долази до смањења интензитета LP у комбинацији са дихидрохверцетином. Ово указује да дихидрохверцетин има позитиван утицај у спречавању негативног ефекта до ког доводи *Aspergillus*, код обе испитиване биљке. *Fusarium* се показао отпорнијим на примену дихидрохверцетина.

Посебно је интересантно да комбинација *Fusarium* и дихидрохверцетина доводи до интензитета LP која је скоро једнака оној у контролној групи, што сугерише да би дихидрохверцетин могао да неутралише инхибирајући ефекат *Fusarium* на интензитет LP. На крају, може се закључити да би дихидрохверцетин могао имати потенцијал као модулатор интензитета LP у сунцокрету када је изложен патогеним гљивама, што би могло имати значајне импликације за пољопривредну праксу и складиштење сунцокретовог семена. Даља истраживања су неопходна како би се утврдили механизми ових интеракција и потврдила ова прелиминарна опсервација.

## 5.2. АКТИВНОСТ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАТЕ

Супероксид-дисмутаза (SOD) је ензим који има важну улогу у одбрани биљака од оксидативног стреса, претварајући супероксид-анјон радикале у бимолекулској реакцији дисмутације у кисеоник и водоник-пероксид. Различити третмани могу утицати на активност овог ензима, што је приказано на графиконима.

У контролном третману (1К), видимо основну активност ензима SOD у кукурузу. Применом дихидрохверцетина (2К), забележено је смањење активности SOD у односу на контролу, што може указивати на антиоксидативно деловање дихидрохверцетина које смањује потребу за активношћу SOD.



Графикон 3: Активност супероксид-дисмутазе (SOD) у кукурузу под различитим третманима

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрохверцетин

3К - *Aspergillus*

4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Међутим, када кукуруз третирамо гљивама *Aspergillus* (3К) и *Fusarium* (4К), долази до значајног повећања активности SOD, што указује на то да ове гљиве индукују оксидативни стрес у биљкама, а биљке реагују повећањем активности ензима SOD како би се заштитиле од штетних радикала. Занимљиво је да комбинација *Aspergillus* и дихидрохверцетина (5К) показује мању активност SOD у односу на третман само са гљивама. Ово би могло указивати на синергијски ефекат дихидрохверцетина у смањењу оксидативног стреса изазваног гљивама, што доводи до мање потребе за активацијом SOD ензима.

Астерикси код третмана 3К и 4К указују на статистички значајно повећање активности SOD у односу на контролни третман, што потврђује хипотезу о стресном утицају гљива на биљке.



Графикон 4: Активност супероксид-дисмутазе (SOD) у сунцокрету под различитим третманима

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрохверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

5S - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрохверцетин

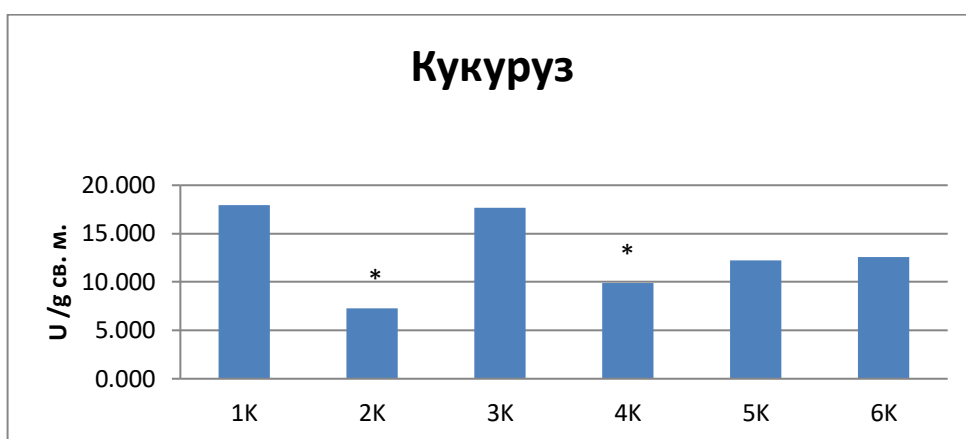
Контролни третман (1K) пружа референтне вредности за активност SOD у нетретираном сунцокрету. Употреба дихидрохверцетина (2K) показује смањену активност SOD у односу на контролу, што може указивати на то да дихидрохверцетин делује као антиоксиданс у сунцокрету, смањујући потребу за активацијом ензима. Инфекција са *Aspergillus* (3K) показује статистички значајан пад активности SOD у односу на контролу. То може сугерисати да *Aspergillus* може сузбијати природну одбрану сунцокрета против оксидативног стреса, или да инфекција мења метаболизам биљке на начин који доводи до смањења продукције или активности SOD.

Третман са *Fusarium* (4K) не показује значајну промену у активности SOD у поређењу са контролом, што сугерише да овај патоген можда не утиче значајно на оксидативни стрес или активност SOD у сунцокрету, или да су механизми одбране биљке против *Fusarium* другачији у односу на *Aspergillus*. Комбинација *Aspergillus* и

дихидрохверцетина (5К) као и *Fusarium* и дихидрохверцетина (6К) показују сличну активност SOD као у контролном третману, што може указивати на то да дихидрохверцетин помаже у стабилизацији нивоа SOD упркос присуству патогена.

### 5.3. АКТИВНОСТ ПИРОГАЛОЛ-ПЕРОКСИДАЗЕ

На заштиту кукуруза и сунцокрета велику улогу има пирогалол-пероксидаза.



Графикон 5: Активност пирогалол-пероксидазе у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином  
Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрохверцетин

3К - *Aspergillus*

4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Овај графикон приказује активност ензима пирогалол-пероксидазе у биљкама кукурузу под утицајем различитих третмана. Контролна група (1К) представља стандардну активност PPx без додатних третмана. Третман дихидрохверцетином (2К) показује незнатно нижу активност PPx у односу на контролу, што може указивати да дихидрохверцетин има антиоксидативна својства која смањују потребу за ендогеним PPx ензимима.

С тим у вези, *Aspergillus* (3К) узрокује повећање активности РРх у односу на контролу, што може бити знак да ова гљива инхибира одбрамбени механизам против оксидативног стреса. С друге стране, *Fusarium* (4К) узрокује смањење активности РРх, што је означено звездицом (\*) и указује на то да овај патоген смањење оксидативни стрес у биљци, изазивајући појачани одговор РРх. Када се комбинују *Aspergillus* и дихидрохверцетин (5К), забележено је значајно смањење активности РРх у поређењу са третманом само са *Aspergillus*, што сугерише да дихидрохверцетин може умањити стрес узрокован нападом фитопатогена. Сличан ефекат се види и код комбинације *Fusarium* и дихидрохверцетина (6К), где је активност РРх, такође, повећана у поређењу са третманом само са *Fusarium*, али виша у односу на контролу.



Графикон б: Активност пирогалол-пероксидазе у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином  
Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрохверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

5S - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Овај графикон приказује активност ензима пирогалол-пероксидазе у биљкама сунцокрета под утицајем различитих третмана. Контролна група (1С) представља

стандардну активност РРх без додатних третмана. Третман дихидрохверцетином (2С) показује незнатно нижу активност РРх у односу на контролу, што може указивати да дихидрохверцетин има антиоксидативна својства која смањују потребу за ендогеним РРх ензимима.

*Aspergillus* (3С) узрокује смањење активности РРх у односу на контролу, што може бити знак да ова гљива инхибира одбрамбени механизам против оксидативног стреса. С друге стране, *Fusarium* (4С) узрокује повећање активности РРх, што је означено звездицом (\*) и указује на то да овај патоген повећава оксидативни стрес у биљци, изазивајући појачани одговор РРх. Када се комбинују *Aspergillus* и дихидрохверцетин (5С), забележено је значајно смањење активности РРх у поређењу са третманом само са *Aspergillus*, што сугерише да дихидрохверцетин може умањити стрес узрокован нападом фитопатогена. Сличан ефекат се види и код комбинације *Fusarium* и дихидрохверцетина (6С), где је активност РРх такође нижа у поређењу са третманом само са *Fusarium*, али виша у односу на контролу.

#### 5.4. САДРЖАЈ РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА (GSH)

Глутатион је важан антиоксиданс у биљкама који учествује у детоксикацији и штити ћелије од оксидативног стреса.



Графикон 7: Садржај редукованог глутатиона у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином  
Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрохверцетин

3К - *Aspergillus*

4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Графикон приказује садржај глутатиона (GSH) у кукурузу под различитим третманима. Примена дихидрохверцетина (2К) не показује значајну промену у активности GSH, што указује да овај третман сам по себи не утиче значајно на оксидативни статус биљке.

Третман са *Aspergillus* (3К) доводи до статистички значајног повећања активности GSH, што је означено звездом (\*). Ово указује на то да излагање кукуруза *Aspergillus* гљиви може индуковати оксидативни стрес, а повећана активност GSH може бити одговор биљке на тај стрес. Код третмана са *Fusarium* (4К), активност GSH се не разликује значајно од контролне, што сугерише да *Fusarium* можда не изазива исти ниво оксидативног стреса или да биљке на овај патоген одговарају на другачији начин. Комбинација *Aspergillus* и дихидрохверцетина (5К) као и *Fusarium* и дихидрохверцетина (6К) показују смањење садржај GSH у поређењу са третманом само са *Aspergillus*, али нису значајно различити од контролне групе или третмана само са *Fusarium*.



Графикон 8: Садржај редукованог глутатиона у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином

Извор: Сопствено истраживање



**Легенда:**

1S - контрола

2S - дихидрохверцетин

3S - *Aspergillus*4S - *Fusarium*5S - *Aspergillus* + дихидрохверцетин6S - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Уочава се да третман са дихидрохверцетином (2C) и комбинација *Aspergillus* са дихидрохверцетином (5C) показују статистички значајно повећање нивоа GSH у односу на контролну групу, што је означено звездом. Ово може указивати на антиоксидативни потенцијал дихидрохверцетина, који може помоћи у повећању нивоа GSH, молекула познатог по својој улози у антиоксидативној одбрани.

Са друге стране, третман са *Fusarium* (4C) резултирао је смањењем нивоа GSH у односу на контролну групу, што може указивати на оксидативни стрес изазван патогеном. Међутим, када се *Fusarium* комбинује с дихидрохверцетином (6C), ниво GSH је виши у односу на третман само са *Fusarium*, што сугерише да дихидрохверцетин може ублажити оксидативни стрес изазван патогеном.

## 5.5. САДРЖАЈ УКУПНИХ ФЕНОЛА

Полазећи од чињенице да феноли представљају важан секундарни метаболитни део биљака који имају антиоксидативна својства и могу да играју улогу у одбрани биљака од патогена и стреса, одређивање њихове заступљености код кукуруза и сунцокрета чини битан део одређивања њихове контаминације, односно очувања квалитета.



Графикон 9: Садржај укупних фенола у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрокверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрокверцетин

3К - *Aspergillus*

4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрокверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрокверцетин

Графикон приказује садржај укупних фенола у кукурузу који је био изложен различитим третманима. Контролни третман (1К) показује базни ниво фенола у необрађеном кукурузу. Третман дихидрокверцетином (2К) показује незнатно нижи ниво фенола у односу на контролу, што може указивати да дихидрокверцетин не стимулише значајно повећање фенолних једињења у биљци.

Инфекција гљивама *Aspergillus* (3К) и *Fusarium* (4К) не показује значајну промену у садржају фенола у односу на контролу, што сугерише да ове инфекције не стимулишу знатно повећање синтезе фенолних једињења у кукурузу или да се промене у садржају фенола не могу лако детектовати методом која је коришћена.



Графикон 10: Садржај укупних фенола у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрокверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрокверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

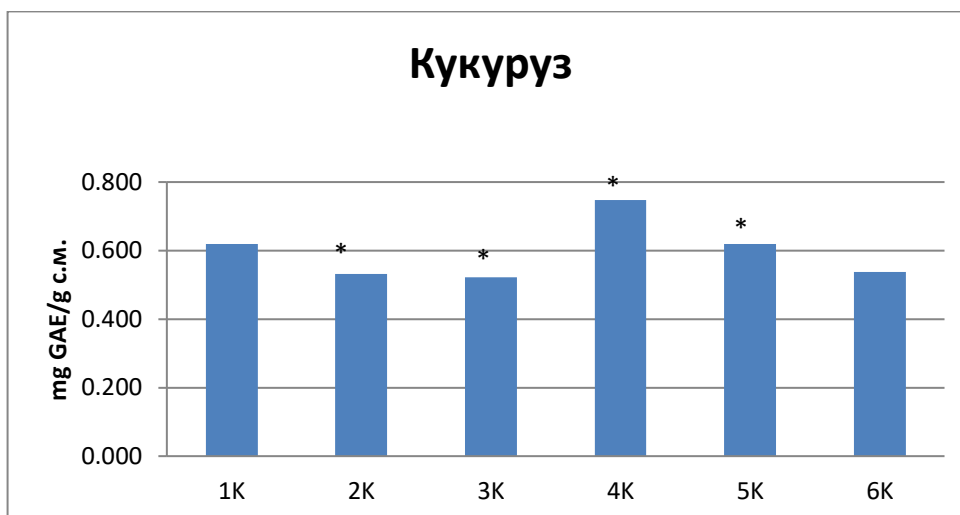
5S - *Aspergillus* + дихидрокверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрокверцетин

Из графикона се може закључити да је највећи ниво фенола забележен у контролној групи (1C), док су сви третмани резултирали смањењем нивоа фенола у односу на контролу. Ово смањење може указивати на то да су поменути третмани утицали на метаболизам фенолних једињења у биљкама сунцокрета, што може бити последица како директног дејства третмана, тако и одговора биљке на стрес услед присуства патогена или апликације дихидрокверцетина.

## 5.6. САДРЖАЈ УКУПНИХ ТАНИНА

Полазећи од чињенице да су танини широко распрострањени као група хетерогених једињења различитог биолошког порекла, одређивање његове укупне садржине представља битан део њиховог квалитета.



Графикон 11: Садржај укупних танина у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином  
Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрохверцетин

3К - *Aspergillus*

4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Графикон приказује садржај укупних танина у кукурузу након различитих третмана. Танини су важни фитохемикалије који имају улогу у одбрани биљака и могу деловати као антиоксиданси. Контролни третман (1К) показује базни ниво танина у кукурузу. Третман дихидрохверцетином (2К) показује незнатно повећање садржаја танина у односу на контролу, што може указивати да дихидрохверцетин делимично стимулише биосинтезу танина у биљци.

Инфекција са *Aspergillus* (3К) и *Fusarium* (4К) такође показује повећање садржаја танина у односу на контролу, означено звездицом (\*), што сугерише да ове гљиве могу

индуковати биљку да произведе више танина као одговор на стрес. Ово је у складу са познатом улогом танина у одбрани биљака од патогена.



Графикон 12: Садржај укупних танина у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрокверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S- контрола

2S- дихидрокверцетин

3S-*Aspergillus*

4S- *Fusarium*

5S- *Aspergillus* + дихидрокверцетин

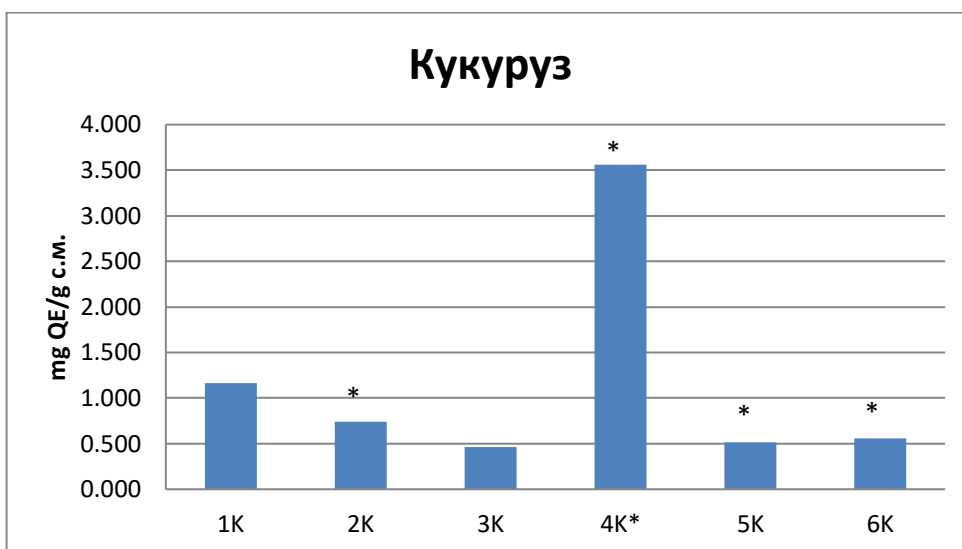
6S- *Fusarium* + дихидрокверцетин

На графикону је приказана концентрација фенола у сунцокрету, за различите третмане.

Видљиво је да третмани са дихидрокверцетином (2C), *Aspergillus* (3C), и комбинацијом *Aspergillus* и дихидрокверцетина (5C) показују статистички значајно повећање садржаја фенола у односу на контролу, што је означено звездом. Ово може сугерисати да дихидрокверцетин и *Aspergillus*., као и њихова комбинација, могу индуковати обрамбени механизам биљке кроз синтезу фенолних једињења.

## 5.7. САДРЖАЈ УКУПНИХ ФЛАВОНОИДА

Графикон приказује садржај укупних флавоноида у кукурузу који је третиран различитим агенсима. Флавоноиди су познати по својим антиоксидативним својствима и могућој улози у заштити биљака од патогена. Контролни третман (1К) даје основну вредност за садржај флавоноида у кукурузу.



Графикон 13: Садржај укупних флавоноида у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1К - контрола

2К - дихидрохверцетин

3К - *Aspergillus*

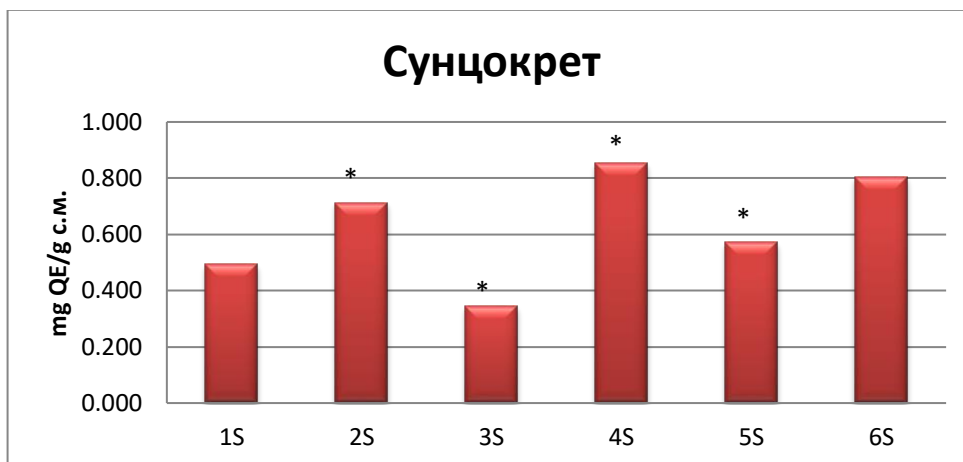
4К - *Fusarium*

5К - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6К - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Третман дихидрохверцетином (2К) резултира нешто нижим садржајем флавоноида у односу на контролу, што може указивати да дихидрохверцетин не стимулише акумулацију флавоноида у кукурузу.

Изложеност кукуруза гљиви *Aspergillus* (3К) не мења значајно садржај флавоноида, што сугерише да овај патоген можда не изазива стрес који би довео до повећања садржаја ових биомолекула.



Графикон 14: Садржај укупних флавоноида у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрокверцетином  
Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрокверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

5S - *Aspergillus* + дихидрокверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрокверцетин

Графикон илуструје концентрацију укупних флавоноида у сунцокрету, изражену у mg галне киселине еквивалената по граму суве масе. Статистички значајно повећање у концентрацији флавоноида у односу на контролу примећено је код третмана са дихидрокверцетином (2C), *Aspergillus* (3C), и *Fusarium* (4C), што је означено звездицом. Ово сугерише да су и дихидрокверцетин и инфекција патогеним гљивама подстакли биљку на повећану синтезу флавоноида, што би могло бити део одбрамбеног одговора биљке.

### 5.8. DPPH-РАДИКАЛСКИ ТЕСТ

Графикон приказује активност DPPH радикала у кукурузу који је био третиран на различите начине. DPPH тест је метода која се користи за мерење антиоксидативне

активности, где већа способност узорка да редукује DPPH радикале указује на већу антиоксидативну активност.



Графикон 15: Активност DPPH радикала у биљкама кукуруза третираним фитопатогеним гљивама и дихидрохверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1K - контрола

2K - дихидрохверцетин

3K - *Aspergillus*

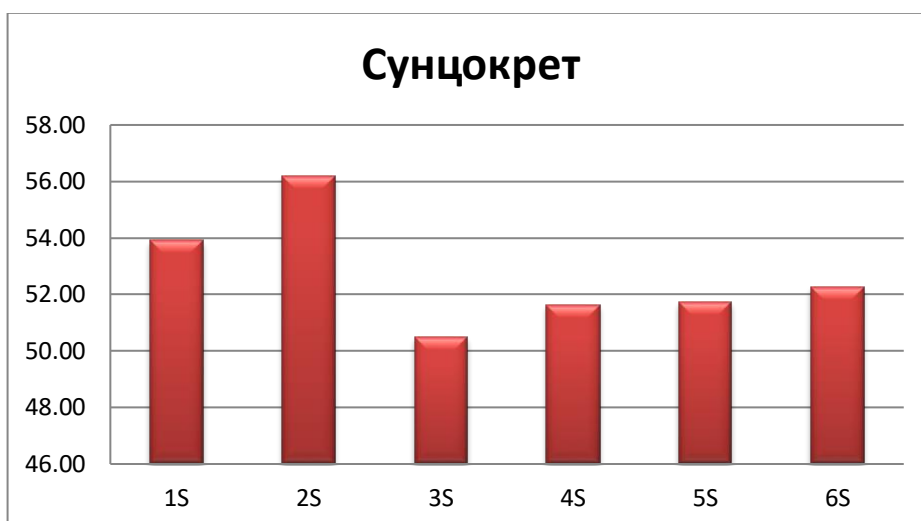
4K - *Fusarium*

5K - *Aspergillus* + дихидрохверцетин

6K - *Fusarium* + дихидрохверцетин

Контролни третман (1K) пружа референтну вредност за антиоксидативну активност кукуруза. Третман дихидрохверцетином (2K) показује смањење антиоксидативне активности у односу на контролу, што може указивати да дихидрохверцетин у овом контексту не делује као снажан антиоксиданс, или да може чак и потиснути ендogene антиоксидативне механизме кукуруза.





Графикон 16: Активност DPPH радикала у биљкама сунцокрета третираним фитопатогеним гљивама и дихидрокверцетином

Извор: Сопствено истраживање

#### Легенда:

1S - контрола

2S - дихидрокверцетин

3S - *Aspergillus*

4S - *Fusarium*

5S - *Aspergillus* + дихидрокверцетин

6S - *Fusarium* + дихидрокверцетин

Из графика се може закључити да је третман са дихидрокверцетином (2C) довео до највеће вредности у односу на контролу и остале третмане, што сугерише да дихидрокверцетин може имати стимулативни ефекат на мерену активност или концентрацију у сунцокрету. Третмани са *Aspergillus* и *Fusarium*, било појединачно или у комбинацији са дихидрокверцетином, показали су ниже вредности у односу на третман са самим дихидрокверцетином, али су и даље били већи или приближни контролној групи.

## 6. ЗАКЉУЧАК

1. Хибрид сунцокрета NS OSKAR P-1398 је показао највећу отпорност на напад фитопатогених гљива *Aspergillus* и *Fusarium*, где је липидна пероксидација била значајно мања у односу на контролу и друге испитиване третмане.
2. Највећу активност супероксид-дисмутазе показали су неинфицирани узорци хибрида сунцокрета NS OSKAR P-1398. Они су једини показали повећање активности SOD након гљивичне инфекције.
3. Третман дихидрохверцетином резултирао је нешто нижим садржајем флавоноида у односу на контролу, што указује да дихидрохверцетин не стимулише акумулацију флавоноида.
4. Инфекција гљивама родова *Aspergillus* и *Fusarium* не показује значајну промену у садржају фенола у односу на контролу.
5. Инфекција гљивама родова *Aspergillus* и *Fusarium* показује повећање садржаја танина у односу на контролу.
6. Примена дихидрохверцетина не показује значајну промену у садржају GSH, што указује да овај третман сам по себи не утиче значајно на оксидативни статус биљке.
7. Комбинација третмана са гљивом *Fusarium* и дихидрохверцетина доводи до интензитета LP која је скоро једнака оној у контролној групи, што сугерише да би дихидрохверцетин могао да неутралише инхибирајући ефекат гљиве *Fusarium*.
8. Применом дихидрохверцетина забележено је смањење активности SOD у односу на контролу, што може указивати на антиоксидативно деловање дихидрохверцетина.
9. Третмани гљивама родова *Aspergillus* и *Fusarium* било појединачно или у комбинацији са дихидрохверцетином, показали су ниже вредности садржајем

супероксид дисмутазе у односу на третман са самим дихидрокверцетином, али су и даље били већи или приближни контролној групи.

10. На основу испитаних параметара хибрид сунцокрета NS OSKAR P-1398 показао је најбоља антиоксидативна својства и повећану толеранцију на напад фитопатогених гљива *Aspergillus* и *Fusarium*. Због наведеног, хибрид сунцокрета NS OSKAR P-1398 се може препоручити за њивску производњу као и за селекцију на отпорност на микозне патогене.

## 7. Литература

Bobrov, E. G. (1972): Kratkiy obzor vidov Listvennits - Synopsis specierum generis *Larix* Miller. Novitates Systematicae Plantarum Vasculatum ., 9: 4-15.

Lee, S., Mbvambo, Z., Chung, H., Luiengi, L., Gamez, E., Mehta, R., Kinghorn, A., Pezzuto, J. (1998): Assessment of the antioxidant potential of natural products. Combinatorial chemistry and high-throughput screening, 1: 35-46.

Hagerman, A., Harvei Mueller. I., Makkar HPS. (2000): Quantification of tannins in tree leaves - Laboratory manual.FAO/IAEA, Беч.

Hertog, MGL, Feskens, EJM, Hollman, PCH, Katan, MB, Kromhout, D. (1993): Dietary antioxidant flavonols and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet, 342: 1007-1011.

Hudler, George V. (1998): Magic Mushrooms, Mischievous Molds: The Extraordinary Story of the Mushroom Kingdom and Its Influence on Human Affairs. Princeton University. ISBN 978-0-691-07016-2.

Mandal, S., Mitra, A., Mallik, N. (2008): Biochemical characterization of the oxidative burst during the interaction between *Solanum lycopersicum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Physiological and Molecular Plant Pathology, 72: 56-61.

Misra, HP., Fridovich I. (1972): Role of superoxide anion in autoxidation of epinephrine and simple measurement of superoxide dismutase. Journal of Biological Chemistry 247: 3170-3175.

Markham, KR. (1989): Flavones, flavonols and their glycosides. V: Methods in Plant Biochemistry 1 (ur. Dei PM, Harborne, JB). Academic Press, London.

Piper, M. (1965) Značaj, poreklo i stanje proizvodnje kukuruza: Kukuruz. Beograd: Zadružna knjiga, 7-40.

Sedlak, J., Lindsay, H. (1968): Evaluation of total protein bound and non-protein bound sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry* 25, 192-205.

Амић, Д., Давидовић-Амић, Д., Бешло, Д., Тринајстић, Н. (2003), Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids, Faculty of Agriculture, The Josip Juraj Strossmayer University.

Маленчић, Ђ. (1996): Утицај јона бакра на антиоксидантне ензиме и ензим метаболизма азота у младим биљкама пшенице и кукуруза. Магистарски рад, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду.

Маленчић, Ђ. (2001): Биохемијска истраживања одабраних самониклих врста рода *Salvia* из Војводине. Докторска дисертација, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду.

Маленчић, Ђ., Поповић, М. (2011): Практикум из Биохемије биљака. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.

Поповић, М. (2005): Биохемија биљака. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.

Поповић, Б., Штајнер, Д. (2008): Оксидативни стрес код биљака. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.

Поповић, М., Маленчић, Ђ. (2006): Активни принципи украсног биља. Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду.

Радић, М., (2009): Метаболизам флавоноида, Завршни рад, Природословно-математички факултет, Универзитет у Загребу.

Спасојевић, Б. (1984): Посебно ратарство. Пољопривредни факултет у Новом Саду, Нови Сад.

доц. др Вера Стојшин, доц. др Ференц Баги, проф. др Ференц Балаж (2008): Практикум из фитопатологије – микозе и псеудомикозе ратарских и повртарских биљака. Пољопривредни факултет Нови Сад.

Шућур, Ј. (2015): Биопестицидна активност екстраката одабраних биљних врста фамилије *Lamiaceae*. Докторска дисертација, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду.

<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/rod-fusarium>

Технологија хране (датум приступа 01.09.2024.)

<https://www.tehnologijahrane.com/?s=ASPERGILLUS>

Технологија хране (датум приступа 01.09.2024.)

<https://www.vecernji.hr/biznis/pet-tisuca-kuna-po-hektaru-proizvodacima-sjemenskog-kukuruzza-za-sanaciju-pretrpljenih-gubitaka-zbog-rata-u-ukrajini-1576824>

Пет тисућа куна по хектару произвођачима сјеменског кукуруза за санацију претрпљених губитака због рата у Украјини (датум приступа 01.09.2024.)

<http://www.pisvojevodina.com/RegionVS/Lists/Posts/Post.aspx?ID=154>

*Fusarium* spp., kukuruz (датум приступа 01.09.2024.)

<https://www.agroklub.rs/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/suncokret-84/>

Сунцокрет (датум приступа 01.09.2024.)

<https://seljak.me/savjetuje/sta-je-aflatoksin-i-zasto-nam-zadaje-toliko-problema/>

Шта је афлатоксин и зашто нам задаје толико проблема? (датум приступа 01.09.2024.)

<https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/fusarium-spp>

*Fusarium* spp. (датум приступа 01.09.2024.)

<https://www.drivotrgovinamiksa.eu/sibirski-aris-podnica-ograda/>

Сибирски ариш (датум приступа 01.09.2024.)

<http://www.pisvojvodina.com/RegionNG/Lists/Photos/Forms/DispForm.aspx?ID=333&RootFolder=%2FRegionNG%2FLists%2FPhotos%2FKukuruz%2F2020> Симптом болести на клипу кукуруза (датум приступа 01.09.2024.)