

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**ULOGA TERPENOIDA U ODGOVORU BILJAKA NA
BIOTIČKI STRES**

THE ROLE OF TERPENOIDS IN PLANT RESPONSE TO
BIOTIC STRESS

Seminarski rad

Nikolina Mrakovčić
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentorica: izv. prof. dr. sc. Mirta Tkalec

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. TERPENOIDI	1
2. ULOGA TERPENOIDA U ODGOVORU BILJAKA NA BIOTIČKI STRES	4
2.1. ULOGA HLAPLJIVIH TERPENOIDA	4
2.2. ULOGA NEHLAPLJIVIH TERPENOIDA	10
3. ZAKLJUČAK.....	12
4. POPIS LITERATURE.....	13
5. SAŽETAK.....	17
6. SUMMARY.....	18

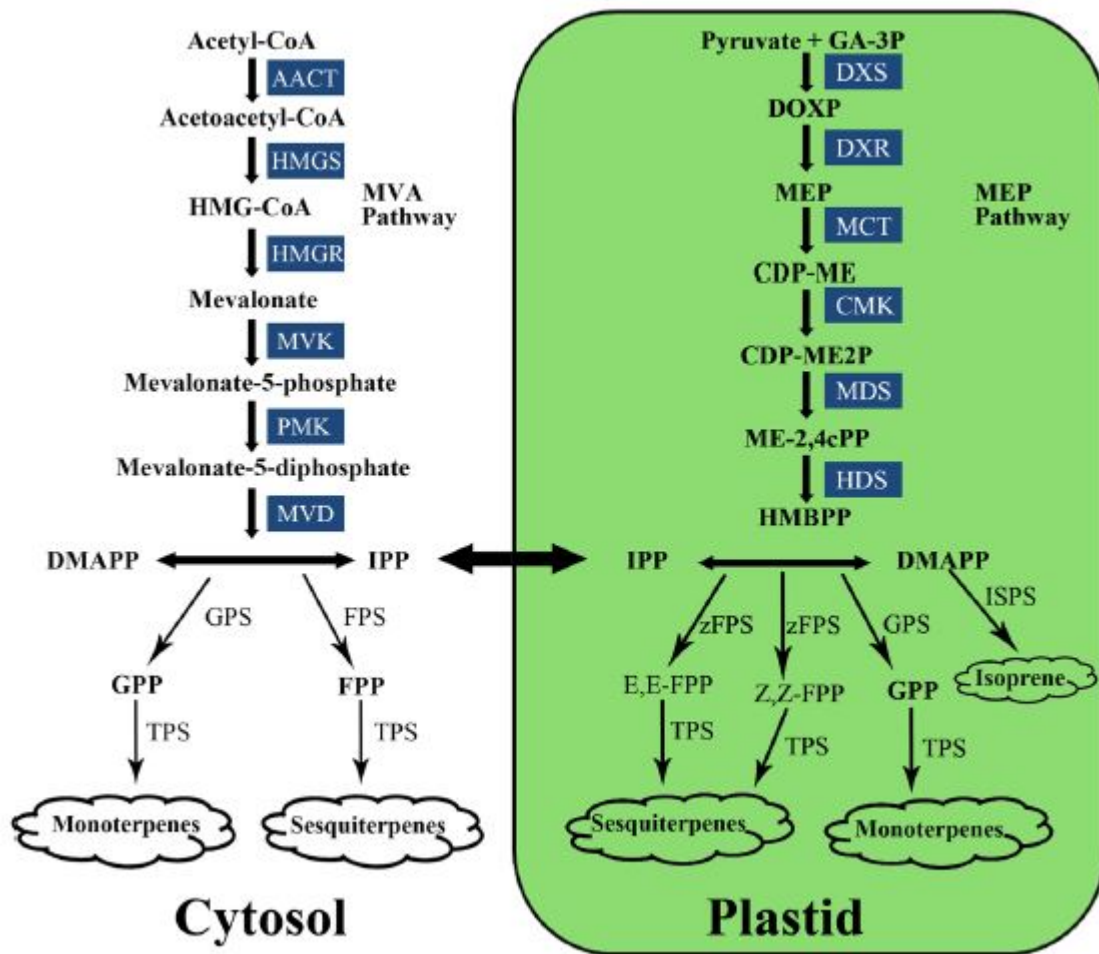
1. UVOD

Biljke su sesilni organizmi te su da bi se obranile od vanjskih utjecaja, bili to okolišni uvjeti koji uzrokuju abiotički stres ili ostali organizmi, tj. biotički stres, razvile brojne mehanizme obrane. Okolišni čimbenici koji uzrokuju abiotički stres kod biljaka su na primjer manjak nutrijenata, suša, manjak kisika, povišena ili snižena temperatura, onečišćenje i ultraljubičasto zračenje (Pevalek-Kozlina, 2003). Za razliku od abiotičkog, biotički stres uključuje organizme, npr. biljke koje mogu djelovati kao konkurencija, alelopatski i parazitski; zatim mikroorganizme – gljive, bakterije i viruse; predatore – biljojede i ostale organizme koji mogu mehanički oštetiti biljku, primjerice nagaziti na nju. Kako bi uspješno nadvladale biotički stres biljke koriste strukturne i kemijske prepreke čija je uloga spriječiti veća oštećenja prilikom napada organizama, a mogu biti konstitutivne ili inducirane njihovom prisutnošću. Konstitutivna, prva linija obrane uključuje stanične stijenke, kutikulu, epikutikularne voskove, koru, bodlje i trnje, te predstavlja strukturnu prepreku i daje biljci čvrstoću. Inducibilna obrana podrazumijeva proizvodnju toksičnih ili odbijajućih tvari, specifičnih enzima ili induciranu staničnu smrt (Freeman i Beattie, 2008). Toksične i odbijajuće tvari uključuju sekundarne metabolite kao što su terpenoidi, fenoli i alkaloidi. Terpenoidi imaju relativno dobro istražene, bitne i mnogobrojne uloge u odgovoru biljaka na stres, a dodatno su zanimljivi zbog njihove upotrebe u svakodnevnom životu ljudi u obliku esencijalnih ulja, lijekova, insekticida i dr. Saznanja o ulozi terpenoida, posebno onih hlapljivih, u obrani od biotičkog stresa u biljaka mogu doprinijeti napretku suzbijanja nametnika i predatora na biljkama u kulturi, primjerice korištenjem genetski modificiranih biljaka (Beale i sur., 2006).

1.1. TERPENOIDI

Terpenoidi ili terpeni su velika skupina spojeva koji uključuju primarne i sekundarne metabolite, a svi potiču iz prekursora od pet ugljikovih atoma, izopentenil difosfata (IPP). Najzastupljeniji su sekundarni biljni metaboliti, s više od 25 000 poznatih spojeva (Buchanan i sur., 2000). Prema broju ugljikovih atoma koje sadrže, terpenoidi su podijeljeni na hemiterpene (C_5), monoterpene (C_{10}), seskviterpene (C_{15}), diterpene (C_{20}), triterpene (C_{30}), tetraterpene (C_{40}) i politerpene koji se sastoje od više od 40 ugljikovih atoma. Spojevi koji

djelomično potječu od terpenoida, a sadrže i druge skupine u svojoj strukturi nazivaju se meroterpeni. Uloge terpenoida u biljkama su različite kao i njihove strukture, a uključuju sastojke hlapljivih spojeva koji čine miris cvijeća, sastojke esencijalnih ulja ljekovitog bilja i začina, smole četinjača, epikutikularnih voskova, fitoaleksine, spojeve koji odbijaju biljojede, ali i biljne hormone kao što su apscizinska kiselina i giberelini, fitol koji je sastavni dio molekule klorofila i prijenosnike elektrona kao što su ubikvinon i plastokvinon koji sudjeluju u procesima staničnog disanja odnosno fotosinteze (Buchanan i sur., 2000). Fitoaleksini su tvari male molekularne mase i antimikrobnog učinka koje se u biljaka pod napadom patogena sintetiziraju *de novo*, a uključuju terpenoide, alkaloidne i glikosteroide. Iako raznolika skupina spojeva, terpenoidi dijele osnovne korake biosinteze iz primarnih metabolita. Prvi korak je sinteza prekursora IPP dvama različitim metaboličkim putevima – mevalonatnim u citosolu i alternativnim putem u plastidima, slijedi slaganje kostura strukture kondenzacijom IPP-a, zatim obrada specifičnim terpenoid sintazama do bazičnih terpenoidnih struktura i sekundarne enzimatske modifikacije bazičnih struktura (Buchanan i sur., 2000). Kako bi se biosinteza ovih spojeva odvojila od ostalih metaboličkih puteva i izbjeglo toksično djelovanje na njih, biljke sintetiziraju i skladište velike količine terpenoida u specifičnim strukturama kao što su: žljezdani trihomi, sekretorne šupljine lista, žljezdana epiderma latica, smolasti kanali i šupljine u četinjača itd. Osim na razini biljke, metabolizam terpenoida odijeljen je i u staničnim odjeljcima pa se tako seskviterpeni i triterpeni sintetiziraju u endoplazmatskom retikulumu i citosolu metaboličkim putem mevalonske kiseline (engl. mevalonic acid pathway, MVA) dok se monoterpeni, diterpeni i tetraterpeni proizvode gotovo isključivo u plastidima metileritrol fosfatnim putem (engl. methylerythritol phosphate pathway, MEP) (Slika 1.) (Pevalek-Kozlina, 2003; Abbas i sur., 2017).



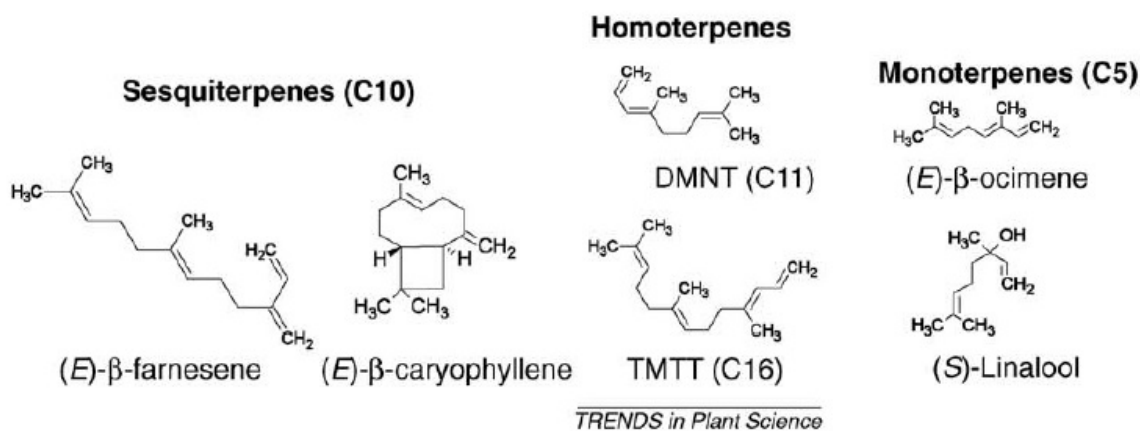
Slika 1. Shematski prikaz dva puta sinteze terpenoida koji se odvijaju u dvama različitim staničnim odjeljcima, u citosolu put mevalonske kiseline (MVA), a u plastidima metileritrol fosfatni put (MEP). Preuzeto iz Abbas i sur., 2017

2. ULOGA TERPENOIDA U ODGOVORU BILJAKA NA BIOTIČKI STRES

Raznolikost ove skupine spojeva dovela je do velike raznolikosti uloga terpenoida kod biljaka. Dio skupine čine hlapljivi terpenoidi koji imaju ulogu u komunikaciji biljaka s organizmima koji ih okružuju, a to mogu biti biljke iste ili različite vrste, kukci i ostale životinje te komunikaciji s vlastitim udaljenim dijelovima biljke putem zraka dok nehlapljivi terpenoidi obnašaju ulogu strukturne barijere i klopki za organizme koji napadaju biljku.

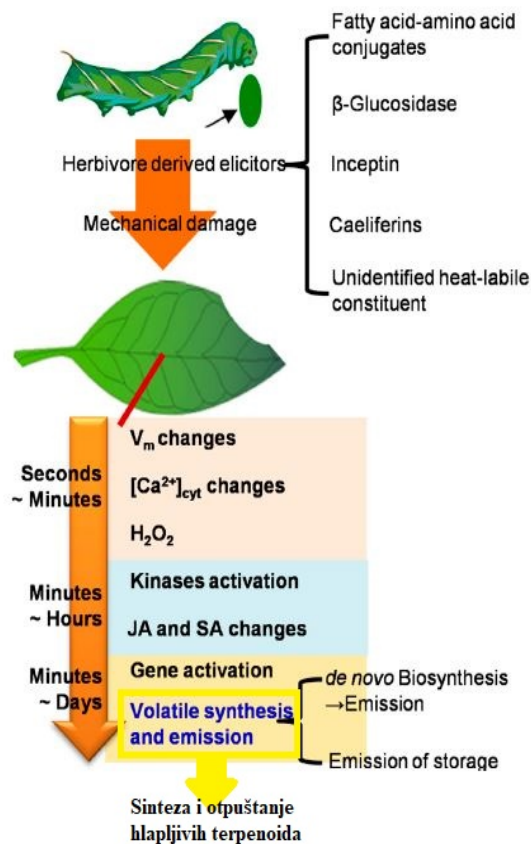
2.1. ULOGA HLAPLJIVIH TERPENOIDA

U hlapljive terpenoide spadaju monoterpeni, seskviterpeni te homoterpeni 4,8-dimetilnon-1,3,7-trien (engl. 4,8-dimethylnona-1,3,7-triene, DMNT) i 4,8,12-trimetiltideka-1,3,7,11-tetraen (engl. 4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene, TMTT) čije su strukture prikazane na Slici 2. Oni su važni sastojci biljnih hlapljivih tvari koji se otpuštaju prilikom napada biljojeda (Mumm i sur., 2008). Žljezdane dlake su strukture u kojima se najčešće sintetiziraju i skladište hlapljivi terpenoidi u biljaka te je njihova brojnost direktno povezana s koncentracijom terpenoida u mnogim biljkama (Sharma i sur., 2017). Terpenoidi koje biljka otpusti mogu biti toksični ili odbojni biljojedima, mogu privlačiti prirodne neprijatelje biljojeda koji napada biljku te služiti signalizaciji unutar napadnute jedinke ili ostalim biljkama u blizini (Holopainen i Gershenson, 2010).



Slika 2. Kemijske strukture nekih hlapljivih homoterpenoida, monoterpenoida i seskviterpenoida. Preuzeto i prilagođeno iz Holopainen i Gershenson, 2010

Direktna obrana od biljojeda podrazumijeva toksično djelovanje terpenoida na biljojeda i njihovu odbojnost. Prilikom napada biljojeda u biljci se pokreće niz odgovora pa tako i otpuštanje hlapljivih signala, kao odgovor na mehaničko oštećenje, ali i na pobuđujuće molekule koje biljojed otpušta (Slika 3.). Primjeri pobuđujućih molekula su konjugati masnih kiselina, inceptin i β -glikozidaza kod insekata s aparatom za grizenje. Niz reakcija na napad biljojeda počinje s onim bržim, promjenom membranskog potencijala u roku sekundi do minuta, zatim promjenom u koncentraciji biljnih hormona, tj. jasmonske (JA) i salicilne kiseline (SA) i aktivacijom kaskade kinaza koje povećavaju transkripciju gena za biosintezu JA, SA i etilena, a povećana koncentracija ovih hormona utječe na posljednje u nizu odgovora, tj. otpuštanje hlapljivih spojeva, uključujući terpenoide, nakon nekoliko minuta do nekoliko dana (Dong i sur., 2016). Hlapljive tvari otpuštene nakon napada biljojeda sastoje se od "hlapljivih tvari zelenog lista" (engl. green leaf volatiles, GLV) i hlapljivih terpenoida. Pošto se terpenoidi, bili oni *de novo* sintetizirani ili skladišteni, otpuštaju s vremenskim odmakom i s cijele biljke, a ne samo oštećenih dijelova, moguće je da je njihova uloga privlačenje prirodnih neprijatelja biljojeda na većim udaljenostima.

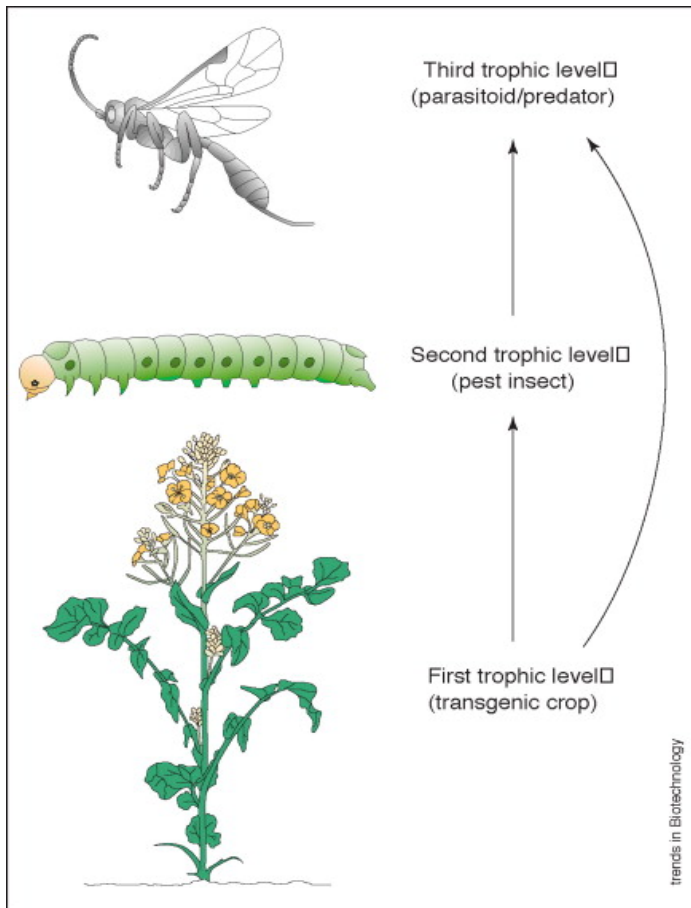


Slika 3. Shematski prikaz odgovora biljke na napad biljojeda. Preuzeto i prilagođeno iz Dong i sur., 2016

Kao primjeri terpenoida koji sudjeluju u direktnoj obrani od biljojeda u literaturi se navode monoterpen linalool i seskviterpen (E)- β -farnesen kao tvari koje odbijaju kukce (Sharma i sur., 2017). Otpuštanje mješavine monoterpena i seskviterpena odvraća ženke lepidoptera od polijeganja jajašca na biljku *Chrysanthemum morifolium* (Wang i sur., 2008). Dok gore navedeni terpenoidi imaju odbijajuću ulogu, zanimljivo je da biljke sintetiziraju i one s ozbiljnijim djelovanjem, toksičnim za biljojede. Poznato je da terpenoidi α -pinen i β -pinen inhibiraju acetilkolin esterazu te tako remete normalno funkcioniranje živčanog sustava kukaca kao i piretrini, monoterpenoidni esteri iz biljaka roda *Chrysanthemum* koji biljkama služe za obranu od biljojednih kukaca neurotoksičnim djelovanjem, a u širokoj su upotrebi kao prirodni insekticidi (Yeom i sur., 2012; Mahmoud i Croteau, 2002). Biljka *Mentha aquatica* kao odgovor na napad biljojeda *Chrysolina herbacea* sintetizira i otpušta mentofuran (Atsbaha Zebelo i sur., 2011). Mentofuran je monoterpenoid koji sintetizira i paprena metvica, a njegovo toksično djelovanje pogađa i biljojedne kukce i ljude. Kako bi smanjili količinu mentoferola u esencijalnom ulju paprene metvice, Mahmoud i Croteau (2001), smanjili su ekspresiju enzima mentoferol sintaze koristeći antisense RNA. Smanjenje količine enzima rezultiralo je biljkama normalnog izgleda i prinosa esencijalnog ulja, ali sa značajno manje mentoferola. Zanimljivo je da se smanjenjem količine enzima mentoferol sintaze njegov supstrat pulgenon, također toksičan monoterpenoid, neočekivano nije nagomilao u transgeničnim biljkama paprene metvice. Upravljanje količinom terpenoida u biljkama metodama metaboličkog inženjerstva trenutno je vrlo aktivno područje istraživanja jer ima potencijala za napredak u poljoprivredi, npr. poboljšanje otpornosti biljaka u kulturi na nametnike povećanom sintezom fitoaleksina kao i za proizvodnju terpenoida za farmaceutsku industriju nadekspresijom gena uključenih u biosintetski put terpenoida i supresijom kompetirajućih puteva (Slika 1.). Nedavna otkrića gena i enzima uključenih u biosintezu terpenoida omogućili su napredak u ovome području, ali još uvijek ima izazova, npr. produkcija seskviterpena u genetski modificiranim biljkama pokazala se izazovnijom i manje uspješnom od proizvodnje monoterpena (Abbas i sur., 2017). Također, konstitutivna ekspresija seskviterpena (E)- β -kariofilena u kukuruzu, iako povećava otpornost na predatora, ugrožava klijanje, rast biljaka i smanjuje prinos (Tholl, 2015). Mnogo sekundarnih metabolita koje biljke koriste za obranu od biljojeda i patogena pokazali su se toksičnim i za biljke, pogotovo u slučaju njihovog nagomilavanja kao što je slučaj s transgeničnim biljkama. Iako se sintetiziraju u odvojenim strukturama, npr. žljezdanim trihomima, transgenične biljke ne uspijevaju zaobići toksično djelovanje svojih metabolita što istraživačima postavlja izazov, a potencijalno rješenje krije se u nagomilavanju neškodljivih prekursora terpenoida te

indukcijom odgovarajućih enzima tek prilikom napada na biljku (Balconi i sur., 2012). Nadalje, manipuliranje genima omogućuje uvid u funkciju i biosintezu terpenoida te će mnoga pitanja u ovome zanimljivom i široko primjenjivom području tek biti odgovorena.

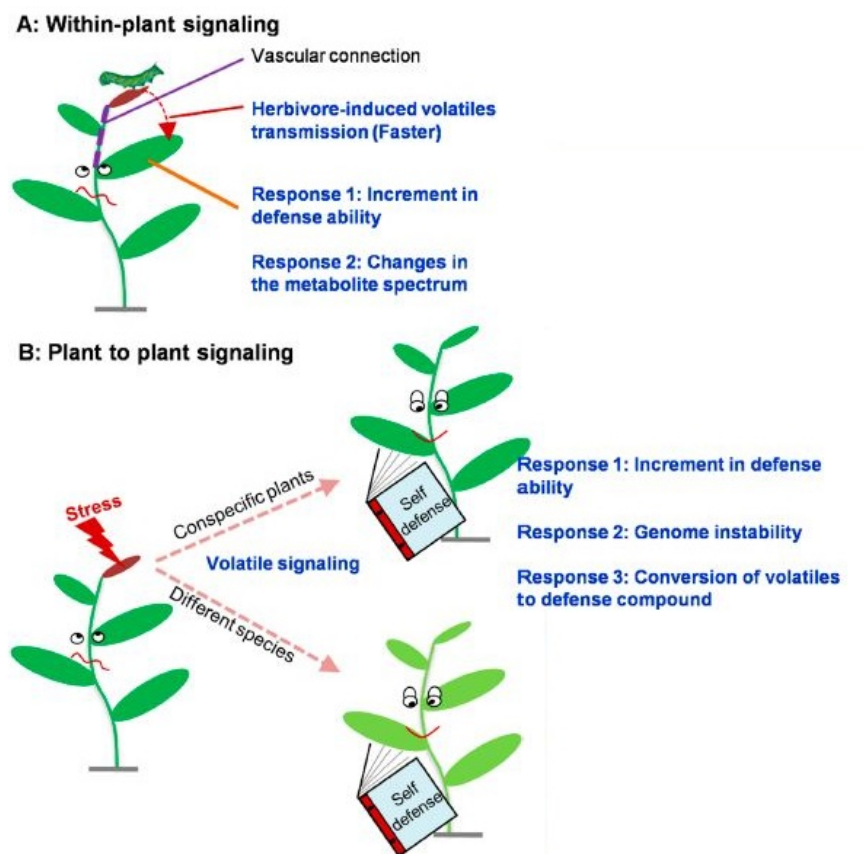
Zanimljivo je sudjelovanje terpenoida u tritrofičkim interakcijama, odnosno interakcijama koje opisuju međusobno djelovanje biljaka, biljojeda i prirodnih neprijatelja biljojeda kao što je prikazano na Slici 4. Terpenoidi sudjeluju u privlačenju predatora ili parazita biljojeda ili njihovih jajašaca i dionici su indirektnih interakcija biljaka s biljojedima. Osim obrane kada je biljno tkivo već ranjeno, biljke su razvile specifičan odgovor na polaganje jajašaca biljojeda koji uključuje posebnu mješavinu hlapljivih terpenoida. Pokazano je da velike količine metil salicilata i homoterpena TMTT koje otpuštaju biljke zaražene biljojedima vrste *Tetranychus urticae* privlače predatore *Phytoseiulus persimilis* i ključne su da bi predator raspoznao odgovarajućeg biljojeda (De Boer i sur., 2004). Na privlačenje prirodnih neprijatelja biljojeda može se utjecati i genetskim modifikacijama biljaka pa je tako u radu Shiojiri i sur.(2006) pokazano da su genetski modificirane biljke *Arabidopsis thaliana* s povećanom sintezom hlapljivih spojeva koji uključuju terpenoide induciranom prisustvom ličinki *Pieris rapae* bile privlačnije parazitskim kukcima *Cotesia glomerata* te dovele do smanjenja broja biljojednih ličinki. Također, nadekspresija enzima odgovornog za sintezu seskviterpena, te analogno i povećana količina molekula seskviterpena u *A.thaliana* dovodi do veće privlačnosti *A.thaliana* predatorima *Phytoseiulus persimilis* (Kappers, 2005).



Slika 4. Shematski prikaz tritrofičke interakcije: biljka, nametnik i njegov prirodni neprijatelj. Preuzeto iz Schuler i sur., 1999.

Hlapljivi terpenoidi služe i kao signalne molekule za napad, koje primaju nezahvaćeni dijelovi iste biljke, ali i susjedne biljke. Signali poslani putem zraka u obliku hlapljivih molekula za nezahvaćene dijelove iste biljke značajni su kada je vaskularna komunikacija onemogućena ili spora, kao što je prikazano na Slici 5., te se kao odgovor na hlapljive signale ekspimiraju potrebni geni i sintetiziraju sekundarni metaboliti što ih čini bržima i učinkovitijima u obrani od potencijalnog napadača (Heil i Ton, 2008; Dong i sur. 2016). Komunikacija susjednih biljaka putem zraka svodi se na odgovor biljaka na hlapljive spojeve koje je otpustila biljka prilikom napada biljojeda u nekoliko oblika: poremećaj u stabilnosti genoma, preinaka hlapljivih spojeva u obrambene tvari i pojačani intenzitet odgovora na napad kao što je prikazano na Slici 5. Sugimoto i sur.(2014) pokazali su kako biljke rajčice koriste hlapljive signale susjednih biljaka iste vrste kako bi učvrstile i ojačale obrambene odgovore. Susjedne biljke napadnute rajčice prevele su primljeni signalni spoj u onaj toksičan za biljojeda koji napada biljku pošiljatelja signala i tako se pripremile za obranu. U literaturi

je pokazano kako biljke pripremljene za napad biljojeda najmanje pet dana nakon primljenog hlapljivog signala pohranjuju i pri napadu aktiviraju odgovore koristeći se epigenetičkom regulacijom. Tako je kod biljke kukuruza nakon tretmana hlapljivim spojevima koje inducira napad biljojeda došlo do demetilacije i aktivacije promotora gena inhibitora tripsina odgovornog za pokretanje daljnjeg odgovora biljke na napad (Ali i sur., 2013). Hlapljivi terpenoidi otpušteni nakon napada biljojeda, linalool, DMNT, TMTT i β -ocimen u vrste *Phaseolus lunatus* pokreću ekspresiju gena potrebnih za obranu biljke, a to su geni koji imaju različite funkcije i uključeni su u procese kao što su biosinteza etilena, biosinteza flavonoida, transkripcijske i posttranskripcijske modifikacije, translacija, šaperoni, sekundarni glasnici, prijenos preko membrane, razgradnja proteina i fotosinteza (Arimura i sur., 2000). Takav odgovor na hlapljive terpenoide ukazuje da imaju sveobuhvatan utjecaj na metabolizam biljaka.



Slika 5. Shematski prikaz uloge hlapljivih spojeva u komunikaciji unutar biljke i susjednih biljaka i njihovih odgovora. Preuzeto iz Dong i sur., 2016.

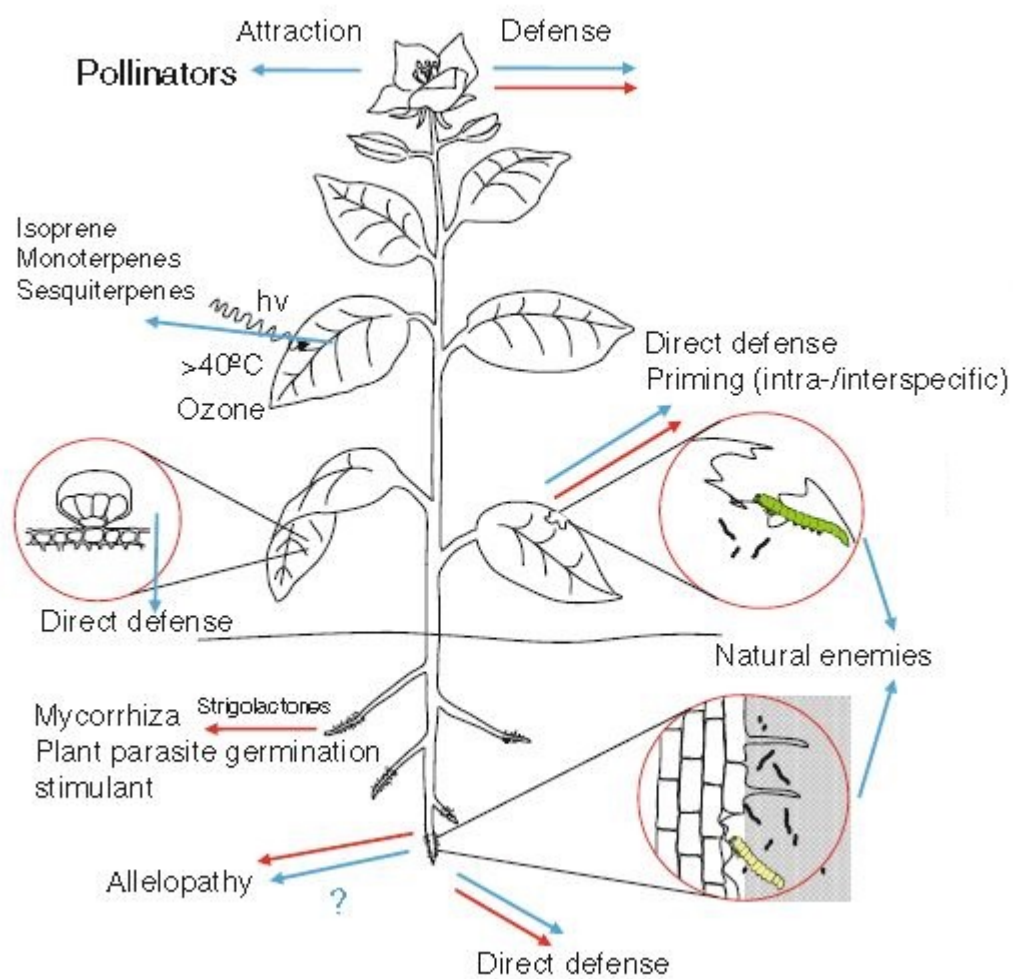
2.2. ULOGA NEHLAPLJIVIH TERPENOIDA

Uloge nehlapljivih terpenoida nadopunjavaju se s ulogama hlapljivih terpenoida te tako usklađeni pružaju biljkama efikasnu zaštitu od biotičkog stresa (Slika 6.). Na primjer, viskozne i mirisne mješavine esencijalnih ulja i smole (engl. oleoresin) čija je proizvodnja inducirana na mjestu ozljede tkiva sastoji se od raznih terpenoida; hlapljivih monoterpenoida i seskviterpenoida i nehlapljivih diterpenoida, a smjesa se skrutnjava prilikom isparavanja hlapljivih komponenti. Biljkama služe kao direktna obrana od kukaca i mikroorganizama uklopljavanjem u masu i zatvaranjem tkiva na mjestu ozljede (Keeling i Bohlmann, 2006). Prije nego što dođe do napada na biljno tkivo, kao prva linija obrane djeluju epikutikularni voskovi, u čijem sastavu triterpenoidi imaju značajan udio, te su bitna stavka obrane biljaka od invazije bakterija i gljivica (Racovita i Jetter, 2016). Biljke proizvode i molekule koje im pružaju zaštitu od napada patogena, kao što je monoterpen geraniol koji u biljci može inducirati staničnu smrt nalik na apoptozu kao odgovor na bakterijsku infekciju (Dong i sur., 2016).

Nehlapljivi terpenoidi djeluju i pod zemljom gdje mogu djelovati na razne načine pa tako avenacini, triterpenoidni saponini koje izlučuje korijen hrasta djeluju kao moćni fitoaleksini i inhibiraju rast patogenih organizama (Tholl, 2015). Terpenoidni fitoaleksini antimikrobnog djelovanja karakteristični za porodicu *Solanaceae* sintetiziraju se i nakupljaju u biljkama nakon infekcije mikroorganizmima (Jadhav i sur., 1991; Mace i sur., 1985). Osim antimikrobne aktivnosti, pokazano je da terpenoidni fitoaleksini djeluju odbojno biljojednim kukcima (Schmelz i sur., 2014).

Za podzemnu komunikaciju susjednih biljaka korisnom se pokazala endotrofna mikoriza, simbiotski odnos gljiva i korijena biljaka. Biljkama mikoriza omogućava dijeljenje mineralnih tvari i vode, ali i prijenos terpenoida i ostalih obrambenih signala susjednim biljkama za napada biljojeda. Osim toga, endotrofna mikoriza utječe na sastav terpenoida koje biljka izlučuje čime se mijenja privlačnost biljke kukcima (Babikova i sur., 2014).

Za obranu od biljojednih kralježnjaka biljke su opremljene toksičnim tvarima kao što su triterpenoidi, srčani glikozidi koji su prisutni u npr. oleandru (Freeman i Beattie 2008). Iako toksični terpenoidi imaju primarnu ulogu zaštite biljaka, mnogi, uključujući diterpenoide taksol iz biljke *Taxus brevifolia* koji djeluje antikancerogeno i ginkgolide iz biljke *Ginkgo biloba* važni su za farmaceutsku industriju i razvoj lijekova.



Slika 6. Biološke funkcije terpenoida u biljkama. Plave strelice označavaju funkcije hlapljivih, a crvene strelice funkcije nehlapljivih terpenoida u njihovoj interakciji s okolišem. Preuzeto iz Tholl, 2015

3. ZAKLJUČAK

Uloge terpenoida u biljkama raznolike su i mnogobrojne, a one u obrani biljaka od biljojeda i patogena značajne su za poljoprivrednu industriju, posebice za razvoj biljaka otpornih na napade patogena i biljojeda, kao i razvoj insekticida i herbicida. Hlapljivi terpenoidi na kojima su provedena brojna istraživanja mogu biti toksični ili odbojni biljojedima i patogenima, mogu privlačiti prirodne neprijatelje biljojeda koji napada biljku te služiti signalizaciji unutar napadnute jedinke ili ostalim biljkama u blizini. Uloge nehlapljivih terpenoida usko su povezane s ulogama hlapljivih terpenoida pa tako oni mogu predstavljati strukturne barijere za obranu od napada biljojeda i patogena ili djelovati toksično i odbojno. Iako su uloge brojnih biljnih terpenoida istražene, ostaju otvorena pitanja kako oni djeluju na samu biljku ukoliko su prisutni u neuobičajenim količinama, kako djeluju na organizme koji ih okružuju i na koji način u njima izazivaju odgovor. Napredak u genetičkom i metaboličkom inženjerstvu, posebice od otkrića enzima ključnih za sintezu terpenoida, omogućava dublji uvid kako biljke odgovaraju na prisustvo, tj. napad biljojeda i patogena, njihov mehanizam djelovanje te omogućava primjenu za proizvodnju industrijski važnih terpenoida, ali i postavlja mnoga pitanja i izazove. Jedan od zanimljivijih izazova postavljenih pred znanstvenike je kako skladištiti velike količine neškodljivih prekursora u biljci i inducirati sintezu toksičnih terpenoida iz njih tek prilikom napada biljojeda ili patogena na biljku.

4. POPIS LITERATURE

- Abbas, F., Ke, Y., Yu, R., Yue, Y., Amanullah, S., Jahangir, M., Fan, Y. (2017). Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. *Planta*, 246(5), 803-816.
- Ali, M., Sugimoto, K., Ramadan, A., Arimura, G. (2013). Memory of plant communications for priming anti-herbivore responses. *Scientific Reports*, 3(1), 1-4
- Arimura, G., Tashiro, K., Kuhara, S., Nishioka, T., Ozawa, R., Takabayashi, J. (2000). Gene responses in bean leaves induced by herbivory and by herbivore-induced volatiles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 277(2), 305-310.
- Atsbaha Zebelo, S., Berteza, C., Bossi, S., Occhipinti, A., Gnani, G., Maffei, M. (2011). *Chrysolina herbacea* modulates terpenoid biosynthesis of *Mentha aquatica* L. *PLoS ONE*, 6(3), 17195.
- Babikova, Z., Gilbert, L., Randall, K., Bruce, T., Pickett, J., Johnson, D. (2014). Increasing phosphorus supply is not the mechanism by which arbuscular mycorrhiza increase attractiveness of bean (*Vicia faba*) to aphids. *Journal of Experimental Botany*, 65(18), 5231-5241.
- Beale, M., Birkett, M., Bruce, T., Chamberlain, K., Field, L., Huttly, A., Martin, J., Parker, R., Phillips, A., Pickett, J., Prosser, I., Shewry, P., Smart, L., Wadhams, L., Woodcock, C., Zhang, Y. (2006). Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(27), 10509-10513.
- Bleeker, P., Diergaarde, P., Ament, K., Guerra, J., Weidner, M., Schutz, S., de Both, M., Haring, M., Schuurink, R. (2009). The role of specific tomato volatiles in tomato-whitefly interaction. *Plant Physiology*, 151(2), 925-935.
- Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (2000) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, SAD, 1250-1268.

- De Boer, J., Posthumus, M., Dicke, M. (2004). Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or non-prey herbivores by a predatory mite. *Journal of Chemical Ecology*, 30(11), 2215-2230.
- Dong, F., Fu, X., Watanabe, N., Su, X., Yang, Z. (2016). Recent advances in the emission and functions of plant vegetative volatiles. *Molecules*, 21(2), 124.
- Freeman, B.C., Beattie, G.A. (2008). An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor*.
- Heil, M., Ton, J. (2008). Long-distance signalling in plant defence. *Trends in Plant Science*, 13(6), 264-272.
- Holopainen, J., Gershenzon, J. (2010). Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3), 176-184.
- Jadhav, S., Mazza, G., Salunkhe, D. (1991). Terpenoid phytoalexins in potatoes: A review. *Food Chemistry*, 41(2), 195-217.
- Kappers, I. (2005). Genetic engineering of terpenoid metabolism attracts bodyguards to *Arabidopsis*. *Science*, 309(5743), 2070-2072.
- Keeling, C., Bohlmann, J. (2006). Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. *New Phytologist*, 170(4), 657-675.
- Mace, M., Stipanovic, R., Bell, A. (1985). Toxicity and role of terpenoid phytoalexins in verticillium wilt resistance in cotton. *Physiological Plant Pathology*, 26(2), 209-218.
- Mahmoud, S., Croteau, R. (2001). Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(15), 8915-8920.
- Mithöfer, A., Boland, W. (2012). Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 431-450.

- Mumm, R., Posthumus, M., Dicke, M. (2008). Significance of terpenoids in induced indirect plant defence against herbivorous arthropods. *Plant, Cell & Environment*, 31(4), 575-585.
- Pevalek-Kozlina, B. (2003). *Fiziologija bilja*. Zagreb: Profil international, 468-478; 497-530.
- Racovita, R., Jetter, R. (2016). Composition of the epicuticular waxes coating the adaxial side of *Phyllostachys aurea* leaves: Identification of very-long-chain primary amides. *Phytochemistry*, 130, 252-261.
- Schmelz, E., Huffaker, A., Sims, J., Christensen, S., Lu, X., Okada, K., Peters, R. (2014). Biosynthesis, elicitation and roles of monocot terpenoid phytoalexins. *The Plant Journal*, 79(4), 659-678.
- Schuler, T., Poppy, G., Kerry, B., Denholm, I. (1999). Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *Trends in Biotechnology*, 17(5), 210-216.
- Sharma, E., Anand, G., Kapoor, R. (2017). Terpenoids in plant and arbuscular mycorrhiza-reinforced defence against herbivorous insects. *Annals of Botany*, 263, 791-801.
- Shiojiri, K., Kishimoto, K., Ozawa, R., Kugimiya, S., Urashimo, S., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., Matsui, K., Takabayashi, J. (2006). Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(45), 16672-16676.
- Sugimoto, K., Matsui, K., Iijima, Y., Akakabe, Y., Muramoto, S., Ozawa, R., Uefune, M., Sasaki, R., Alamgir, K., Akitake, S., Nobuke, T., Galis, I., Aoki, K., Shibata, D., Takabayashi, J. (2014). Intake and transformation to a glycoside of (Z)-3-hexenol from infested neighbors reveals a mode of plant odor reception and defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(19), 7144-7149.
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. *Biotechnology of Isoprenoids, Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, 148, 63-106.

Wang, H., Guo, W., Zhang, P., Wu, Z., Liu, S. (2008). Experience-induced habituation and preference towards non-host plant odors in ovipositing females of a moth. *Journal of Chemical Ecology*, 34(3), 330-338.

Yeom, H., Kang, J., Kim, G., Park, I. (2012). Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of *Apiaceae* plant essential oils and their constituents against adults of german cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(29), 7194-7203.

5. SAŽETAK

Biljke su neprestano izložene različitim negativnim utjecajima iz okoliša koji mogu dovesti od razvitka abiotičkog odnosno biotičkog stresa u biljkama. Biotički stres u biljkama razvija se djelovanjem organizama koji ih okružuju, a to su najčešće biljojedni kukci, bakterije, virusi, gljivice i okružujuće biljke. Kao odgovor na biotički stres, biljke su razvile brojne mehanizme obrane, u kojima uz ostale stanične komponente, ulogu imaju i sekundarni biljni metaboliti. Najbrojniji biljni sekundarni metaboliti su terpenoidi. Njihova brojnost i strukturna različitost omogućava im da obnašaju različite uloge. Brojne uloge hlapljivih i nehlapljivih terpenoida uključuju direktnu i indirektnu obranu od biljojeda i patogena, privlačenje prirodnih neprijatelja biljojeda, signalizaciju susjednim biljkama ili ostalim dijelovima iste biljke o napadu na biljku te obranu mehaničkim preprekama. Navedene uloge govore o djelovanju biljnih terpenoida, ali ne razjašnjavaju mehanizme kako molekule terpenoida djeluju na organizme kojima su njihovi signali namijenjeni i kako pojačati ili smanjiti te signale da djeluju na način koji odgovara primjeni u poljoprivrednoj ili farmaceutskoj industriji. Moguće je da će ta i mnoga druga pitanja biti odgovorena genetičkim i metaboličkim inženjerstvom iako danas još uvijek postoje nedostaci u korištenim metodama.

6. SUMMARY

Plants are organisms that are constantly exposed to different environmental factors which can lead to abiotic and biotic stress in plants. Biotic stress in plants is caused by organisms such as herbivores, bacteria, viruses, fungus and plants that live in their surroundings and affect their wellbeing. To eliminate or lower biotic stress, plants have developed multiple defense strategies in which secondary metabolites take part. The most abundant secondary metabolites are terpenoids, and their structural diversity enables them to have different roles in plants. Roles of volatile and non-volatile terpenoids in plants include direct and indirect defense from herbivores and pathogens, attraction of herbivores natural enemies, signalization to nearby plants or within the plant itself and first line of defense by structural barriers. The roles of terpenoids introduce questions about how do terpenoids act upon organisms that the signals are aimed for and how to make the signals stronger or weaker to make use of them in agriculture or pharmaceutical industry. It is possible that this and many other questions will be answered by genetic and metabolic engineering, however the methods are still imperfect and need to be fine-tuned.