

Uloga flavonoida u zaštiti biljnog organizma od okolišnog stresa

Kuštović, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:979708>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Iva Kuštović

**Uloga flavonoida u zaštiti biljnog organizma
od okolišnog stresa**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Iva Kuštović

**The role of flavonoids in protecting the plant
organism from environmental stress**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad izrađen je u sklopu studijskog programa Biologije na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sklopu projekta IP-2020-02-7585 “Indirektni utjecaj globalnog zagrijavanja na fiziološke parametre sisavaca prehranom biljkama uzgojenim pri visokoj temperaturi - TEMPHYS” financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ivane Šola.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Završni rad

Uloga flavonoida u zaštiti biljnog organizma od okolišnog stresa

Iva Kuštović

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Flavonoidi su specijalizirani metaboliti prisutni u biljkama poznati po ulozi u obrambenim odgovorima na stres. Zbog sve češćih ekstremnih uvjeta u okolišu poput suša, poplava, visokih i niskih temperatura, povećane koncentracije teških metala u tlu i pojačanog intenziteta UV zračenja, biljkama su potrebni efikasni mehanizmi zaštite. Ovakvi abiotički faktori stresa često paralelno biljke čine podložnijima i biotičkim stresorima, tj. patogenima. Flavonoidi doprinose zaštiti biljnog organizma prvenstveno svojom antioksidacijskom aktivnosti koja omogućuje neutralizaciju reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, *reactive oxygen species*), spojeva čija se koncentracija značajno povećava kao posljedica stresa. Flavonoidi su prisutni u različitim staničnim organelima, poput vakuole, jezgre i kloroplasta, gdje pomažu pri inhibiciji ROS-ova i stabilizaciji staničnih membrana. U ovome radu prikazana su odabrana istraživanja povezana s flavonoidima i njihovom ulogom u odgovoru na stres, pritom naglašavajući njihov značaj u stjecanju otpornosti biljaka uslijed promjenjivih okolišnih uvjeta.

Ključne riječi: abiotički stres, antioksidans, biotički stres, flavonoidi
(35 stranica, 12 slika, 148 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivana Šola

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science

Department of Biology

Bachelor thesis

The role of flavonoids in protecting the plant organism from environmental stress

Iva Kuštović

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Flavonoids are specialized metabolites present in plants known for their role in defense responses to stress. Due to increasingly frequent extreme conditions in the environment such as drought, flood, high and low temperatures, increased concentration of heavy metals in the soil and increased intensity of UV radiation, plants need efficient protection mechanisms. Such abiotic stress factors often simultaneously make plants more susceptible to biotic stressors, i.e. pathogens. Flavonoids contribute to the protection of the plant organism primarily through their antioxidant activity, which enables the neutralization of reactive oxygen species (ROS), compounds whose concentration increases significantly as a result of stress. Flavonoids are present in various cell organelles, such as the vacuole, nucleus and chloroplast, where they help inhibit ROS and stabilize cell membranes. This paper presents selected researches related to flavonoids and their role in the response to stress, emphasizing their importance in the acquisition of plant resistance due to changing environmental conditions.

Keywords: abiotic stress, antioxidant, biotic stress, flavonoids
(35 pages, 12 figures, 148 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Dr. Ivana Šola, Assoc. Prof.

Sadržaj

1	Uvod	1-1
2	Struktura i klasifikacija flavonoida	2
2.1	Flavonoli	3
2.2	Flavoni	3
2.3	Flavanoni	4
2.4	Izoflavoni	4
2.5	Antocijani	5
2.6	Flavanoli	5
2.7	Halkoni	6
3	Biosinteza flavonoida	6
4	Prijenos i sekvestracija flavonoida	8
5	Antioksidacijska sposobnost flavonoida	10
6	Uloga flavonoida u abiotičkom stresu	12
6.1	Suša i salinitet	13
6.2	Temperatura	14
6.3	Teški metali	16
6.4	Zagađivači atmosfere	16
6.5	Svjetlost	17
7	Uloga flavonoida u biotičkom stresu	19
7.1	Oblici	19
7.2	Gljivice	20
7.3	Bakterije	21
7.4	Herbivori	21
8	Zaključak	23
9	Literatura	24
10	Životopis	35

1 Uvod

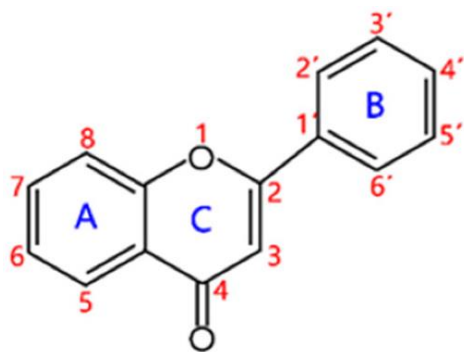
Darwinova teorija o postanku vrste nalaže da, kako su resursi u prirodi ograničeni, tako će one jedinice koje su uspješnije prilagođene imati veću vjerojatnost preživljavanja i razmnožavanja, čime prenose svoje gene na iduće generacije. Budući da su biljke sesilni organizmi, stalno su izložene abiotičkim i biotičkim stresovima poput UV-zračenja, povećane temperature i saliniteta tla te napada patogena i herbivora što naposljetku bitno utječe na biljni metabolizam. Jedan od načina kojim se odupiru navedenim stresovima, a time i povećavaju sposobnost preživljavanja, jest prilagodba sinteze, prijenosa i aktiviranja specijaliziranih metabolita (Ederva i sur., 2008). To su spojevi niske molekulske mase koji, za razliku od primarnih metabolita, nisu direktno uključeni u proces fotosinteze i staničnog disanja, već sudjeluju u signalizaciji između biljaka, zaštiti od herbivora, obrani od patogena te privlačenju oprašivača (Agosta, 1996). Biljke sintetiziraju specijalizirane metabolite pomoću prekursora koji pak nastaju sintezom primarnih metabolita iz osnovnih metaboličkih puteva poput glikolize, Krebsovog ciklusa i puta šikimata (War i Buhroo, 2020). Oni se akumuliraju u različitim dijelovima biljke, ovisno o tome koja im je glavna funkcija; tako će se spojevi koji sudjeluju u obrani od patogena često naći u listu biljke, a oni koji pridonose boji, mirisu i okusu mogu se pronaći u laticama biljke. Dosada je izolirano preko 200 000 različitih specijaliziranih metabolita što je mali broj usporedno s činjenicom da na Zemlji postoji preko 380 000 vrsta biljaka (Willis, 2017).

Flavonoidi predstavljaju jednu od najzastupljenijih skupina biljnih specijalizirane metabolita unutar kojih je identificirano preko 6 500 različitih struktura (Shomali i sur., 2022), što im omogućava višestruke uloge u stanicama. Ponajprije djeluju kao zaštitni spojevi pomoću kojih je biljka otpornija na okolišne izazove. Njihova uloga u odgovoru na abiotički stres vidljiva je pri zaštiti od previsoke svjetlosti i temperature, povišenog saliniteta i manjka vode, prilikom čega nastaju reaktivne kisikove vrste (ROS; *reactive oxygen species*). Budući da posjeduju i antioksidacijsku sposobnost, učinkoviti su pri zaštiti biljke od oksidacijskog stresa. Također, pružaju zaštitu biljke od biotičkog stresa sudjelujući u interakciji s bakterijama, gljivicama i herbivorima te reguliraju rast i razvoj u uvjetima infekcije. Određeni flavonoidi sudjeluju u pigmentaciji, doprinoseći u obojenju specifičnih nijansa latica i lišća, čime pomažu biljci pri privlačenju oprašivača.

Ključni ciljevi istraživanja funkcija flavonoida u stresnim uvjetima uključuju otkrivanje načina kako poboljšati otpornost biljnih vrsta koje se uzgajaju za prehrambene svrhe, s obzirom na izazove s kojima se poljoprivreda susreće uslijed klimatskih promjena. Ovaj rad daje uvid o metabolizmu i funkcijama flavonoida u adaptaciji biljaka na stresne uvjete.

2 Struktura i klasifikacija flavonoida

Osnovni flavonoidni kostur građen je od 15 ugljikovih atoma raspodijeljenih u tri fenolna prstena, pri čemu su dva krajnja prstena A i B povezana središnjim prstenom C. Krajnji su prsteni građeni od šest ugljikovih atoma, dok je središnji heterociklički prsten sastavljen od tri ugljikova atoma te atoma kisika (slika 1.). Ta se struktura prikazuje općom formulom: C₆-C₃-C₆ (Aherne i sur., 2002).

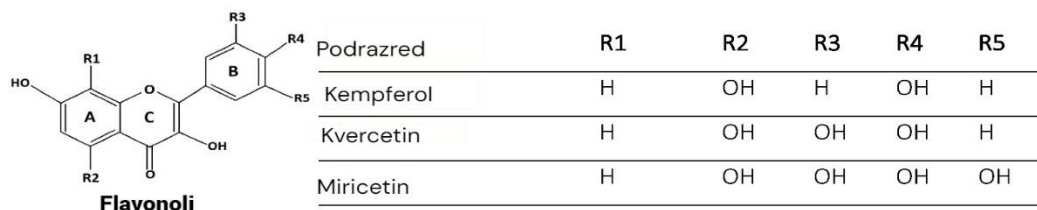


Slika 1. Osnovni flavonoidni kostur strukture C₆-C₃-C₆. Dva benzenska prstena (A i B) povezani su piranskim prstenom od tri atoma ugljika. Preuzeto iz Lou i sur. (2021).

Flavonoidi se mogu podijeliti na dvije veće kategorije ovisno o zasićenosti C₂-C₃ atoma. U prvu se kategoriju ubrajaju spojevi koji imaju nezasićenu vezu između C₂ i C₃ atoma poput antocijanidina, flavona, flavonola i izoflavona, dok flavanoni, dihidroksiflavonoli i flavan-3-oli spadaju u kategoriju koja obuhvaća spojeve sa zasićenom C₂-C₃ vezom (Saini i sur., 2017). Iako je ova podjela najčešća, flavonoidi se mogu dijeliti i na temelju molekularne mase, prisutnosti supstituenata na A i B prstenu te stupnja hidroksilacije.

2.1 Flavonoli

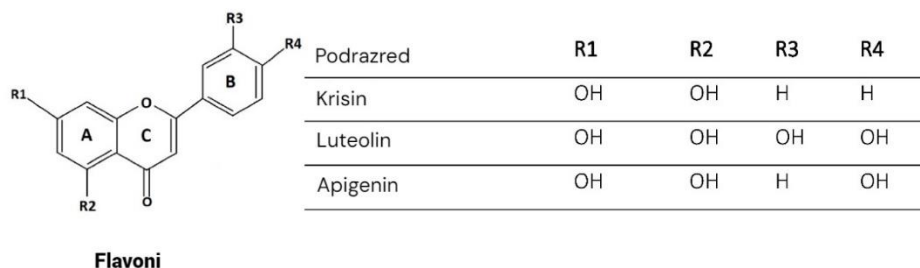
Flavonoli su najčešći flavonoidi prisutni u biljkama, a najpoznatiji flavonoli su kvercetin, kempferol i miricetin (slika 2.). Zahvaljujući njihovoj kemijskoj strukturi koja sadrži mnogo hidroksilnih skupina, djeluju kao snažni elektron donori čime uspješno reguliraju akumulaciju ROS-ova. Također utječu na inhibiciju transporta auksina u biljnom tkivu kako bi modulirali rast biljke kao odgovor na abiotički stres (Daryanavard i sur. 2023). Glavni izvori flavonola su povrće i voće, uključujući luk, jabuke, jagode, salate, zeleni i crni čaj (Jovanović i sur., 1994).



Slika 2. Flavonoli: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.2 Flavoni

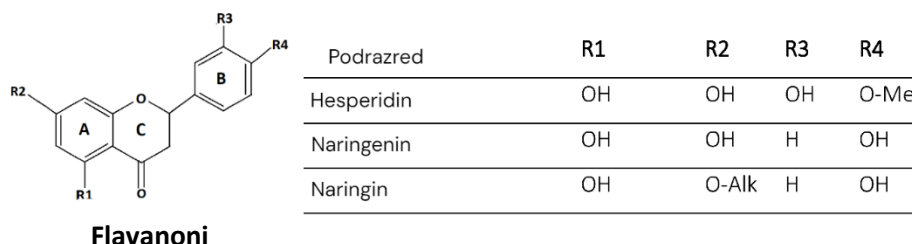
Flavoni su u biljkama prisutni u obliku O-glikozida i C-glikozida, a najpoznatiji flavoni su apigenin, krizin i luteolin (Heim i sur., 2014) (slika 3.). Njihova uloga u obrani biljnog organizma uključuje zaštitu od UV zračenja, interakciju s nitrogen-fiksirajućim bakterijama iz tla, a zajedno s antocijanima i flavonolima doprinose pigmentaciji latica. U većim koncentracijama nalazimo ih u mrkvi, peršinu, celeru i maslinovom ulju. (Singh i sur., 2014).



Slika 3. Flavoni: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.3 Flavanoni

Flavanoni se razlikuju od flavona po odsutnosti jednostruke veze između C2 i C3 veze na prstenu C. Najproučeniji flavanoni su naringenin, naringin i hesperetin (slika 4.), spojevi izolirani iz citrusa, poput limuna, naranče, grejpa (Singh i sur., 2014), koji djeluju kao intermedijeri u biosintezi ostalih podskupina flavonoida (Liu i sur., 2021).



Slika 4. Flavanoni: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.4 Izoflavoni

Izoflavoni se strukturno razlikuju od ostalih podskupina flavonoida jer je prsten B povezan s trećim ugljikovim atomom prstena C. Ovi spojevi imaju ključnu ulogu prilikom interakcije biljaka i mikroba, uključujući simbiozu mahunarki i rizobija, bakterija koje fiksiraju elementarni dušik. Naime, oni induciraju gene nodulacije čime je omogućen nastanak nodula, kvržica na korijenju biljaka koje će zatim ispuniti bakterije. Nadalje, sudjeluju u obrani organizma djelujući kao fitoaleksini čime štite biljku od napada patogena (Křížová i sur., 2019). Glavni izvori izoflavona su mahunarke, a najpoznatiji primjeri su daidzein i genistein (Panche i sur., 2016). (slika 5.)



Slika 5. Izoflavoni: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.5 Antocijani

Antocijani su široko raspostranjeni flavonoidni pigmenti odgovorni za obojenje mnogih vrsta voća i povrća, primjerice jabuke, grožđa i bobica. Njihova glavna uloga je da svojim obojenjem nastoje privući oprašivače i raspršiti plodove, no osim toga djeluju kao i zaštitni pigmenti prilikom fotoinhibicije (Lev-Yadun i Gould, 2009). Samo obojenje antocijana ovisi o prisutnosti teških metala, metilaciji i hidroksilaciji. Na slici 6. prikazane su odabrane podskupine antocijana. Za razliku od ostalih flavonoida, ovi spojevi nemaju keto skupinu na četvrtom ugljikovom atomu prstena C. Neki od poznatijih antocijanidina su cijanidin, delfinidin i pelargonidin (Panche i sur., 2016).



Slika 6. Antocijani: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.6 Flavanoli

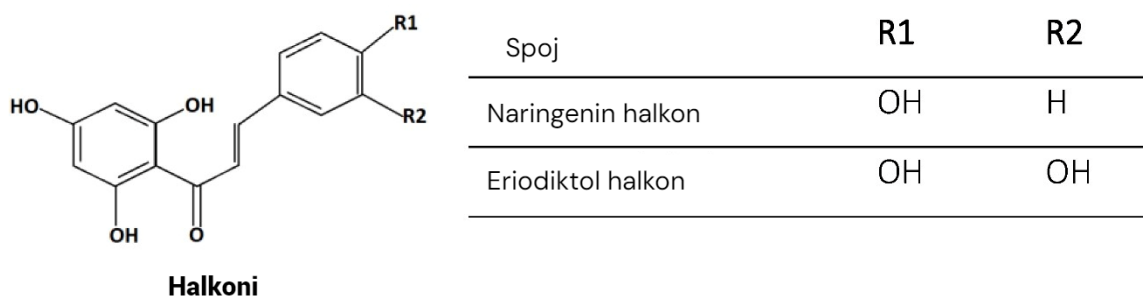
Flavanoli, kao i antocijani, nemaju keto skupinu na četvrtom ugljikovom atomu prstena C. Najpoznatiji primjeri flavanola su katehini, epikatehini i epigalokatehini (slika 7.), a u visokim koncentracijama može ih se pronaći u grožđu, vinu, čaju i kruški. Osim što djeluju kao antioksidansi inhibicijom enzima, keliranjem prijelaznih metala i uklanjanjem slobodnih radikala, oni utječu na regulaciju unutarstanične signalizacije i fluidnosti membrana (Hackman i sur., 2007).



Slika 7. Flavanoli: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

2.7 Halkoni

Halkoni predstavljaju jedinu skupinu flavonoida koja posjeduje otvoren prsten upravo zato što je ovaj spoj prekursor ostalih skupina flavonoida. Najistraženiji halkon je naringenin halkon (slika 8.), a može ga se pronaći u jabuci, rajčici, određenim žitaricama i pivu (Tsao i sur., 2010). Uključeni su u odgovor biljke kao rezultat napada patogenih gljivica, virusa i oblica te djeluju kao fitotoksični spojevi koji utječu na germinaciju korijena i izdanka drugih biljnih vrsta (Díaz-Tielas i sur., 2016).



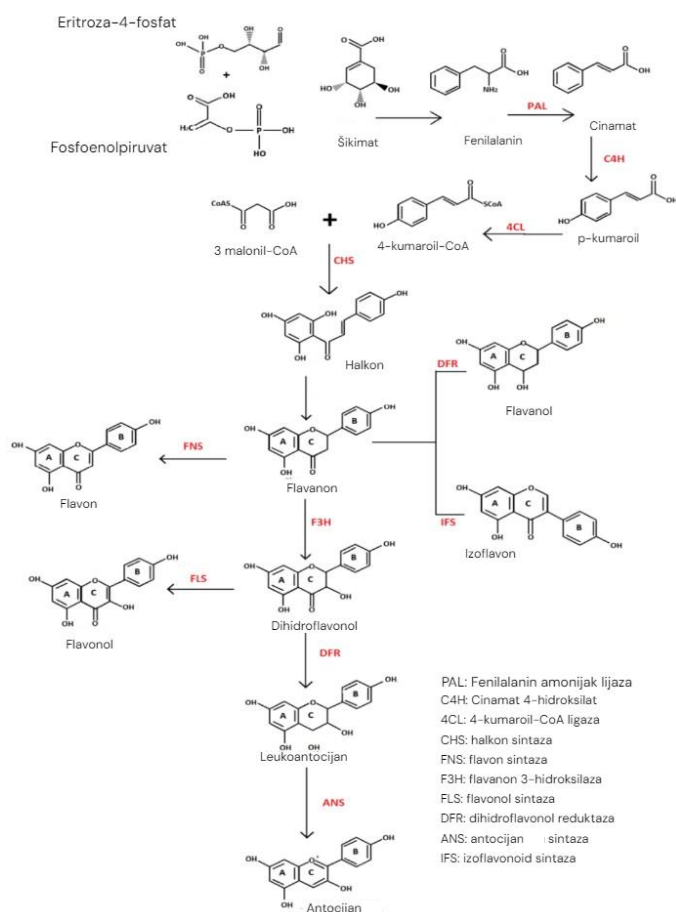
Slika 8. Halkoni: kemijska struktura i smještaj supstituenata na osnovnom kosturu. Preuzeto iz Shah (2020).

3 Biosinteza flavonoida

Flavonoidi se sintetiziraju u staničnom citosolu, a enzimi koji su uključeni u ovaj visoko koordinirani proces formiraju multiproteinski kompleks, metabolon, zahvaljujući interakcijama između proteina. Ova supramolekularna struktura, koja se sastoji od enzima i drugih proteina, omogućuje izravan prijenos supstrata s jednog enzima na drugi te kanaliziranje međuprodukata, što osigurava specifičnu biosintezu te eliminaciju metaboličkih interferencija. Konačni se produkti akumuliraju na različitim mjestima, poput hidrofilnih derivata koji će se nakupljati u vakuoli te lipofilnih spojeva koji će se nalaziti u epidermalnim stanicama ili biti izlučeni iz korijena. Enzimi odgovorni za biosintezu flavonoida dijele se u različite podskupine, poput citokroma P450, glikozil transferaza te 2-oksoglutarat-ovisnih dioksigenaza (OGD) (Dinelli i sur., 2006).

Glavni prekursori sinteze flavonoida su malonil-CoA, sintetiziran iz Krebsovog ciklusa, i fenilalanin, sintetiziran putem šikimata (Davies i sur., 2009). Fenilalanin se pretvara u cimetnu kiselinu enzimom fenilalanin-amonij lijazom (PAL), koja se zatim hidroksilira kako bi nastala *p*-

kumarinska kiselina, a ovaj proces zahtjeva hidroksilazu, molekularni kisik, NADPH i merkptoetanol (Dinelli i sur., 2006). *p*-kumarinska kiselina je supstrat halkon sintazi koja katalizira sintezu halkona, flavonoidnog kostura, kondenzacijom *p*-kumaroila CoA s tri malonil CoA prilikom čega se oslobađaju tri molekule ugljikova dioksida. Halkon se dalje izomerizira halkon izomerazom čime nastaju flavanoni, intermedijeri u biosintezi ostalih skupina flavonoida. Oni se raznim biosintetskim enzimima hidroksilacijom, oksidacijom, redukcijom, glikolizacijom, metilacijom i acilacijom pretvaraju u ostale flavonoidne molekule (Fowler i sur., 2010) (slika 9.).



Slika 9.: Biosinteza flavonoida: kondenzacija jedne molekule 4-kumaroila-CoA i tri molekule malonil-CoA, što provodi halkon sintetaza. Dva glavna prekursora potječu iz različitih puteva: Krebsov ciklus osigurava prsten A, a šikimatski put osigurava prsten B. Prsten A generira se iz malonil-CoA koji je sintetiziran karboksilacijom acetil-CoA Krebsovim ciklusom, a prsteni B i C se sintetiziraju se iz kumaroil-CoA šikimatskim putem. Kumaroil-CoA sintetiziran je iz

aminokiseline fenilalanina trima enzimatskim reakcijama fenilpropanoidnog puta. Preuzeto iz Dias (2021).

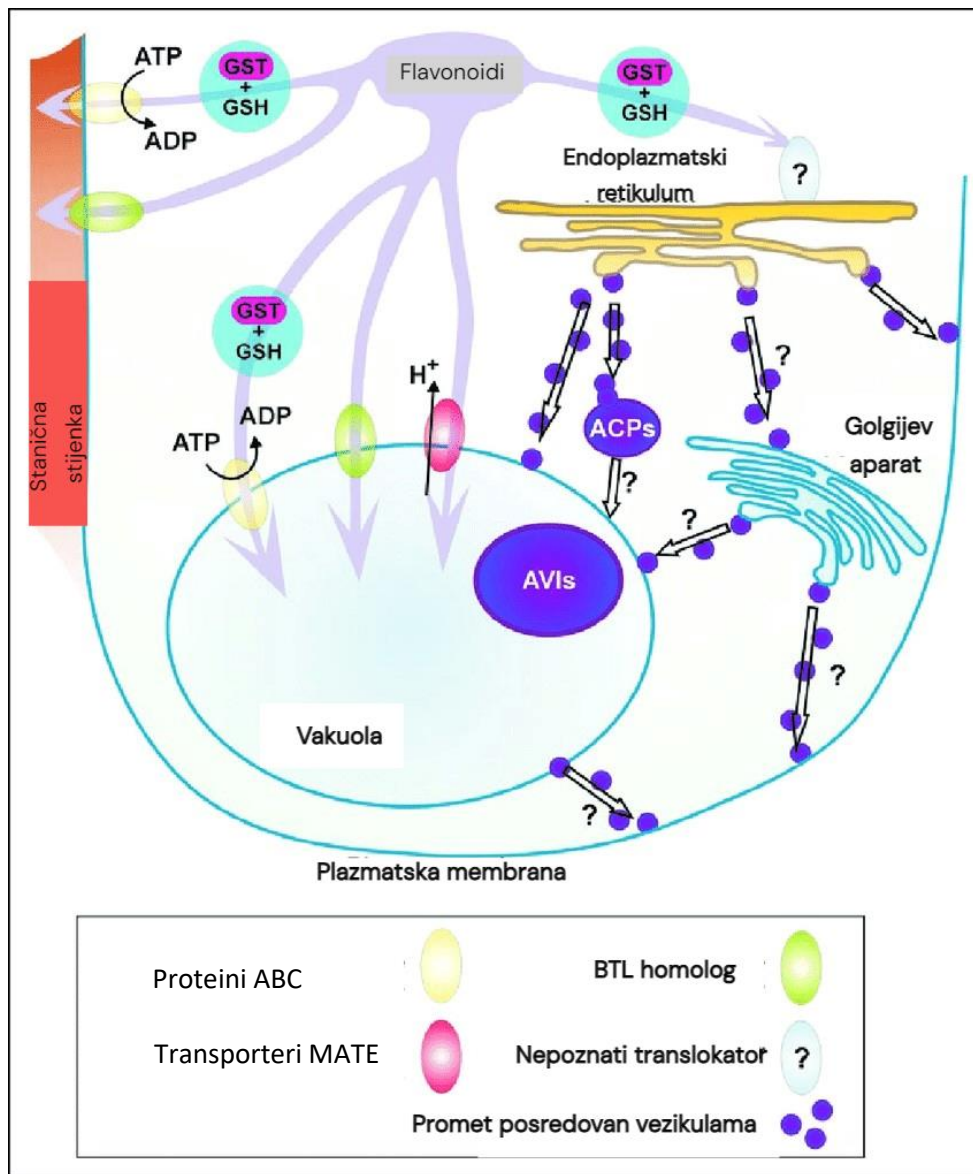
Osim toga, flavonoidi u biljkama mogu biti prisutni u obliku aglikona (bez šećerne komponente) ili mogu biti vezani za šećere, što je češći slučaj. Naime, glikolizacija povećava topljivost, metabolizam i distribuciju spojeva čime se olakšava prijenos kroz staničnu membranu (Jovanović i sur., 1994), stoga je jasno zašto su flavonoidi češće prisutni u obliku glikozida.

4 Prijenos i sekvestracija flavonoida

Budući da flavonoidi posjeduju mnogobrojne funkcionalne uloge koje su potrebne pri interakciji s okolišem, razumljivo je da su prisutni u različitim strukturama i stanicama. Primjerice, oni flavonoidi koji apsorbiraju UV zračenje akumuliraju se na vanjskim izraslinama, poput žljezdastih trihoma (Tattini i sur., 2000; Agati i Tattini, 2010), a oni koji sudjeluju u pigmentaciji, u stanicama latica (Grotewold, 2006). Također su pronađeni i u voskovima, izdancima (Ozimina, 1979) te epidermalnim i subepidermalnim stanicama lista (Moskowitz i Hrazdina, 1981). Flavonoidi se sintetiziraju na citoplazmatskoj površini endoplazmatskog retikuluma (Wagner i Hrazdina, 1984) te ih je potrebno prenijeti u vakuolu ili staničnu membranu, gdje će moći ostvariti svoje fiziološke učinke. Antocijani i flavonoli se prenose u vakuolu transporterima MATE (eng. *multidrug and toxic compound extrusion*) (Marinova i sur., 2007) i proteinima ABC (eng. *ATP-binding cassette*) (Yazaki, 2006), pri čemu su proteini ABC učinkovitiji jer su, za razliku od prijenosa transporterima MATE, proteini ABC neovisni su o pH gradijentu. Prijenos također može biti posredovan i GST-om (eng., *glutathione S-transferase*), koji se veže za antocijan ili flavonol te formira kompleks kojim je omogućen prijenos u vakuolu (Mueller i sur., 2000.). Posljednji način prijenosa antocijana unutar vakuole je putem vezikula; antocijani se prenose s površine endoplazmatskog retikuluma u njegov lumen, gdje se zatim kreću kroz vezikule koje se spajaju s vakuolarnom membranom. Na početku akumulacije, antocijani se nakupljaju u manje vezikule koje se naposljetku fuzioniraju u veću strukturu to jest antocijansku vakuolarnu inkluziju (AVI) (Zhang i sur., 2006) koja sudjeluje u uklanjanju vodikova peroksida nastalog nakon mehaničke ozlijede biljke (Gould i sur., 2002) (slika 10.). Unutar vakuole mezofilnih stanica akumuliraju se i dihidroksi flavonoidi, koji također mogu reducirati ROS-ove, što pokazuju istraživanja na vrstama *Phillyrea latifolia* (L.) i *Ligustrum*

vulgare (L.). Ipak, Hernandez i sur. zaključili su da količina vodikova peroksida koji dopijeva u vakuolu nije značajna. No, vodikov peroksid može se ponašati kao glasnik koji dovodi stanicu do programirane stanične smrti (Breusegem i sur., 2006), stoga redukcija i male količine vodikova peroksida može pomoći stanici da održava količinu ROS-ova na normalnoj razini.

Osim što se mogu prenositi u vakuolu, flavonoidi se mogu lokalizirati unutar citosola, kloroplasta, jezgre i manjih vezikula te se mogu prenositi i na velike udaljenosti, primjerice flavonoli iz korijena do izdanka (Buer i sur., 2007) ili flavonoidi koji putuju iz korijena do rizosfere, gdje sudjeluju u interakciji s bakterijama (Cesco i sur., 2009).



Slika 10. Prijenos flavonoida u biljnoj stanici. Flavonoidi se mogu transportirati proteinima ABC i transporterima MATE, mogu se konjugirati s glutationom (GSH) ili njihov transport može biti posredovan vezikulama. Preuzeto iz Braidot i sur. (2008).

Istraživanja provedena na *Arabidopsis thaliana* (L.) (uročnjak) (Sheahan, 1996), *Brassica napus* (L.) (Kuras i sur., 1998) i *Flaveria chloraefolia* (Grandmaison i Ibrahim, 1996) opisala su akumulaciju flavonoida unutar jezgre. Jedna od mogućih uloga je zaštita DNA od UV zračenja što je dokazano kvercetin-3-sulfatom koji se specifično veže za proteine jezgre te tako sudjeluje u zaštiti DNA, te kompleksom antocijana i DNA koji osigurava zaštitu od oksidacijskog stresa. Nadalje, pokazano je i da oligomerni flavanoli imaju mogućnost vezanja za proteine jezgre te tako mogu inaktivirati enzime (Hagerman i Butler, 1981) i utjecati na transkripciju gena odgovornih za rast i razvoj.

Budući da kloroplast predstavlja jedno od glavnih mjesta sinteze ROS-ova, očigledno je da će i lokalizacija flavonoida koji smanjuju utjecaj ROS-ova biti u njegovoj proksimalnoj blizini. Oni mogu biti povezani s vanjskom membranom kloroplasta te tako ograničavati izlazak singletnog kisika nastalog nakon izlaganja višku plave svjetlosti, pritom štiteći fotosintetski aparat (Hideg i sur., 1994). Mogu se nalaziti i unutar samog kloroplasta gdje sudjeluju u očuvanju membranskog sustava. Naime, što je flavonoid nepolarnijeg karaktera (flavoni i flavanoni), više se koncentrira u hidrofobnu srž membrane. Posljedica ovakve interakcije uzrokuje promjenu fizikalnih svojstava membrana čime je omogućena inhibicija lipidne oksidacije. Ukoliko je flavonoid hidrofilnog karaktera (npr. flavanol), tada će se vezati vodikovim vezama s polarnim skupinama lipida što će osigurati zaštitu membranskog dvosloja od vanjskih i unutarnjih oksidansa (Erlejman i sur. 2004). Na vrsti *Phillyrea latifolia* (L.) pokazano je da derivati kvercetina i kempferola štite kloroplast od singletnog kisika koji se tamo sintetizira.

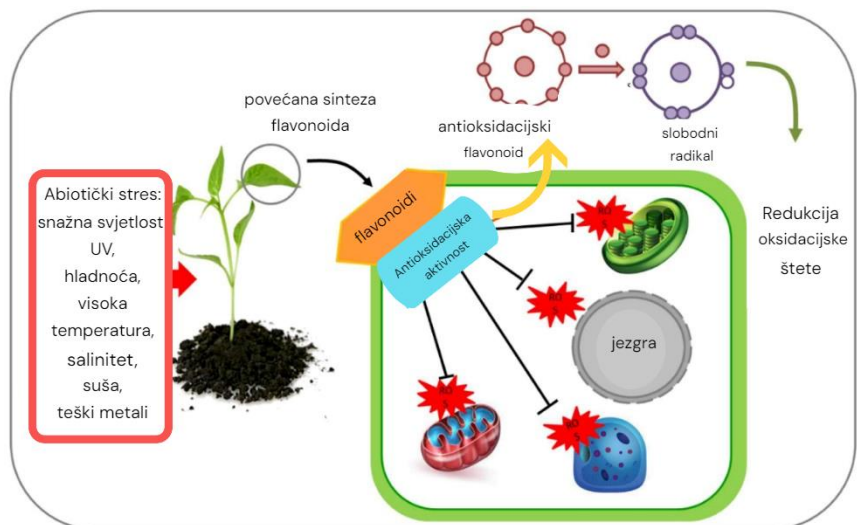
5 Antioksidacijska sposobnost flavonoida

Biotički i abiotički stres utječu na biljnu stanicu uzrokujući oksidacijski stres koji oštećuje stanične komponente, a izazvan je prekomjernom količinom ROS-ova (Qu i sur., 2013). ROS-ovi predstavljaju izrazito štetne molekule koje uključuju singletni kisik (O_2), vodikov peroksid (H_2O_2), hidroksilni radikal ($\bullet OH$) i superoksidni anionski radikal ($O_2^{\bullet -}$) (Kumar i Wani 2020). Osim što je

singletni kisik kratkoživuća molekula koja može reagirati s različitim molekulama i time dovesti do stanične smrti (op den Camp i sur., 2003), ona ima i ulogu u signalizaciji i aktivaciji ekspresije gena (Ramel i sur., 2012). Tijekom stresa ove molekule djeluju kao oksidansi DNA, proteina i lipida što naposljetku uzrokuje oštećenje stanične strukture (Demidchik i sur. 2015). Kako bi biljke premostile naneseu štetu, u njihovim stanicama započinje sinteza antioksidacijskih enzima (npr. glutathion reduktaze, glutathion peroksidaze, askorbat peroksidaze itd.) koji pretvaraju radikale u manje štetne molekule. Međutim, postoje uvjeti kada je brzina sinteze ROS-ova veća od sinteze antioksidacijskih enzima što dovodi do povećane koncentracije ROS-ova u stanici. Tijekom takvog ekstremnog okolišnog stresa, pojačava se sinteza flavonoida u vakuoli, jezgri, mitohondrijima i kloroplastima (Bienert i sur., 2006) (slika 11). Oni tada pružaju biljkama zaštitu svojim antioksidacijskim učinkom, tj. sposobnošću prijenosa jednog elektrona ili davanjem atoma vodika kako bi stabilizirali i spriječili nastanak slobodnih radikala (Malešev i sur., 2007). Time se uravnotežuje prekomjerna sinteza ROS-ova čime se onemogućuje stanična peroksidacija (Hatier i Gould, 2009). Inaktivacija ROS-ova flavonoidima moguća je četirima načinima: inhibicijom enzima koji sintetiziraju ROS-ove (monooksigenaze, ciklooksigenaze i lipoksigenaze), kelacijom prijelaznih metala, uklanjanjem singletnog kisika i recikliranjem ostalih antioksidansa (Melidou i sur., 2005).

Antioksidacijska sposobnost ovisi o tome je li flavonoid vezan za šećernu komponentu ili nije, a ukoliko je vezan, značajan je broj veza i mjesto vezanja za šećere te je utvrđeno da oni flavonoidi prisutni u obliku aglikona (cijanidini) posjeduju jače antioksidacijske sposobnosti, no njihova je dostupnost u biljkama manja (Dias i sur., 2021). Također je predloženo da broj hidroksilnih skupina na prstenu B utječe na mogućnost flavonoida da učinkovito reducira ROS-ove, tj. što je veći broj hidroksilnih skupina, to će flavonoid učinkovitije djelovati. Tako će miricetin, kvercetin i morin učinkovitije reducirati naspram naringenina, apigenina i katehina jer sadrže veći broj hidroksilnih skupina (Husain i sur., 1987).

Brojni abiotski čimbenici, a ponajviše svjetlost, pokreću visoko hidroksilirane flavonoide koji u stresnim slučajevima aktiviraju dodatni slobodni hidroksilni radikal na tridesetom ugljiku prstena B. Stoga kvercetin i luteolin, spojevi koji posjeduju kateholni supstituent na prstenu B, pokazuju visoke antioksidacijske mogućnosti (Tattini i sur., 2004) te se nakupljaju u mezofilu lista u uvjetima visokog osvjetljenja kako bi zaštitili stanice od oksidacijskog oštećenja (Agati i sur., 2009).



Slika 11. Antioksidacijski učinci flavonoida kao odgovor na abiotički stres u različitim biljnim organelima. Preuzeto iz Shomali (2022).

Posebna pozornost pridodaje se vodikovom peroksidu, molekuli slabije toksičnosti naspram drugih tipova ROS-ova. No, u prisutnosti $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 može reagirati s njime i tvoriti reaktivne hidroksilne radikale putem Haber-Weissove reakcije katalizirane metalom (Yamasaki i sur., 1997). H_2O_2 ima sposobnost prolaska kroz membrane, stoga pod utjecajem jakog osvjetljenja može „pobjeći“ iz kloroplasta i ući u vakuolu akvaporinima (Agati i sur., 2013). Kako bi spriječili nastanak štete, vakuolarni dihidroksi flavonoidi služe kao supstrati vakuolarne peroksidaze te time tvore kompleks za detoksifikaciju H_2O_2 (Agati i sur., 2012).

6 Uloga flavonoida u abiotičkom stresu

Abiotički stres je odgovor biljke na vanjski uvjet koji je izvan optimalnog raspona. Ovi stresori uključuju vrlo visoke ili niske temperature, sušu, salinitet, utjecaj teških metala, nedostatak hranjivih tvari i UV zračenje. Biljke razvijaju različite mehanizme prilagodbe kao odgovor na ove stresove, međutim, dugotrajna izloženost biljke stresnim čimbenicima ima za posljedicu narušavanje osnovnih fizioloških procesa kao što su cvjetanje, stvaranje plodova i sjemenaka, a potiče starenje biljke i smrt (Fraire-Velázquez i Balderas-Hernández, 2013).

6.1 Suša i salinitet

Biljke pate od stresa od suše kada ne mogu primiti odgovarajući volumen vode kako bi uspostavile ravnotežu između unosa i gubitka vode (Akıncı i Lösel, 2012). Nedostatak vode jedan je od ograničavajućih faktora koji biljci smanjuje rast, dovodi do promjene anatomskih i fizioloških procesa (Kefei i sur., 1997) te uzrokuje nakupljanje ROS-ova (de Carvalho, 2008; Kavas i sur., 2013). U takvim slučajevima biljke koriste razne strategije kako bi preživjele; biljke mogu izbjegavati sušu ili postati otporne na nju (Farooq i sur., 2009). Koju će strategiju biljke odabrati ovisi o intenzitetu i duljini stresa od suše i sposobnosti biljke da se fiziološki i biokemijski prilagodi (Xoconostle-Cázares i sur., 2010). Metaboličke modifikacije, promjene u ekspresiji gena, osmotska prilagodba, regulacija otvorenosti puči neke su od prilagodbi koje biljka može primijeniti (Shomali i sur., 2022). Dio biokemijskih prilagodbi uključuje promjenu vrste i količine flavonoidnih spojeva (Hernández i sur., 2004) kao i njihovu distribuciju u ostala tkiva (Braidot i sur., 2008) kako bi spriječili štetu uzrokovanu ROS-ovima. Na primjer, pod različitim uvjetima suše, zabilježena je povećana proizvodnja flavonoida u suspenziji stanica *Glycyrrhiza inflata* Batalin (Yang i sur., 2007), povećana je koncentracija epikatehina, epikatehin galata i epigalokatehin galata u listovima vrste *Cistus clusii* Dulin (Hernández i sur., 2004), nakupljanje kempferola u *Brassica oleracea* (L.) (Khan i sur., 2011) te povećana akumulacija ukupnih flavonoida u vrsti *Melissa officinalis* (L.) (Omidi i sur., 2018). Mehanizam djelovanja flavonoida tijekom stresa od suše temelji se na nekoliko međusobno povezanih puteva uključujući signalizaciju komponenata, njihovu antioksidacijsku sposobnost, osmotsko prilagođavanje te stomatalno kretanje i regulaciju fotosinteze (Shomali i sur., 2022.). Na primjer, istraživanja na uročnjaku dokazala su da kvercetin i kempferol imaju veći antioksidacijski potencijal naspram ostalih flavonoida (Amić i sur., 2003) zahvaljujući hidroksilnom supstituentu koji djeluje kao elektron donor (Han i sur., 2012).

Flavonoidi također utječu na regulaciju zatvaranja puči, čime mogu sudjelovati u odgovoru na stres izazvan sušom. Kada biljke dožive stres radi suše, poraste količina abscizinske kiseline koja pokreće niz signalnih kaskada unutar stanice što uzrokuje pad turgora te zatvaranje puči. No, prilikom pokretanja signalnih puteva također dolazi i do aktivacije enzima koji proizvode štetni vodikov peroksid, a kako bi se biljka zaštitila od oštećenja, akumuliraju se flavanoli koji tada neutraliziraju višak vodikova peroksida (Shomali i sur., 2022).

Salinitet ograničava razvoj biljaka prekidajući njihove fiziološke i biokemijske puteve (Kumari i Parida, 2018). Osmotski, ionski i oksidacijski stres zajedno su odgovorni za štete nanosene biljnoj stanici uslijed previsoke koncentracije soli (Parvin i sur., 2020). Kada se poveća salinitet, poveća se i koncentracija otopljenih tvari u vodi koja se nalazi u tlu, što naposljetku uzrokuje niži vodni potencijal tla. Kako bi voda prešla iz tla u biljku, vodni potencijal tla mora biti viši od vodnog potencijala biljke, no ako se vodni potencijal tla snizi zbog povećanja saliniteta, tada voda neće moći ulaziti u biljne stanice zbog nedostatka gradijenta. Stres uzrokovan salinitetom povećava ulazak natrijevih te izbacivanje kalijevih iona, što rezultira povećanim omjerom natrija naspram kalija u stanici (Rahman i sur., 2016). Osmotski i ionski stres smanjuju površinu lista i uzrokuju prerano starenje lišća, što opet dovodi do smanjene stope fotosinteze te potiče sintezu ROS-ova (Parvin i sur., 2020). Istraživanja na kukuruzu, rajčici i zelenom čaju pokazala su povećanu biosintezu rutina uslijed stresa izazvanog višom koncentracijom soli. Kod uročnjaka transkripcijski faktor MYB111 regulira odgovor na solni stres te je povećana sinteza flavonoida povezana s ekspresijom MYB111, sugerirajući kako flavonoidi sudjeluju u odgovoru na solni stres kojeg regulira MYB111 (Li i sur., 2019). Također, kod halofitskih biljaka poput vrste *Atriplex canescens* (L.), flavonoidi su povezani s povećanjem otpornosti na slani okoliš. Ove biljke koriste flavonoide kako bi održale ravnotežu između iona te smanjile štetu uzrokovanu oksidacijskim stresom, što im omogućuje preživljavanje u ekstremnim uvjetima (Ikram i sur., 2020).

Flavonoidi stoga povećavaju otpornost biljaka na sušu i stres uzrokovan salinitetom sprječavanjem oksidacijskih procesa, održavanjem homeostaze između oksidacije i redukcije i regulacijom osmoze. Shodno tomu, nakupljanje flavonoida u biljkama izloženim solnom stresu poboljšava njihovu otpornost na sušu i salinitet, kako na molekularnoj, tako i na fiziološkoj razini.

6.2 Temperatura

Za normalan rast biljke potrebna je optimalna temperatura, koja može varirati ovisno o vrsti biljke i fazi njenog razvoja. Temperaturni stres nastaje kada okolišna temperatura značajno odstupa od optimalne, pri čemu se razlikuje stres uzrokovan visokim i stres uzrokovan niskim temperaturama. Stres uzrokovan niskim temperaturama uzrokuje složene promjene na genetskoj, biokemijskoj i fiziološkoj razini u biljkama. Na uročnjaku i mnogim drugim vrstama, uključujući jagodu i jabuku, glavni faktor koji doprinosi zaštiti od stresa niskim temperaturama je CBF (eng. *C-repeat binding*

factor) (Cook i sur., 2004; Song i sur., 2017). Nakon aktivacije CBF, biljke prolaze kroz molekularne promjene kako bi prevladale stres niskim temperaturama (Wu i sur., 2016). Osim ekspresije krioprotektivnih proteina, biljke će modificirati metabolizam kako bi se prilagodile temperaturnim varijacijama (Goh i sur., 2016). Modifikacija metabolizma niskom temperaturom podrazumijeva i povećanje ekspresije gena za biosintezu flavonoida koji su odgovorni za zaštitu biljaka od oštećenja koja su nastala radi povećane koncentracije ROS-ova te je zabilježeno da sintetizirani flavonoidi sudjeluju u zaštiti staničnih membrana i proteina (Bilger i sur., 2007). U uvjetima smrzavanja, velika količina vode izlazi iz stanice i tvori međustanične kristale. Tijekom takvih okolnosti, flavonoidi se još intenzivnije koncentriraju u lipidnu fazu staničnih membrana i tako ih stabiliziraju (Hoekstra i Golovina, 2002). Eksperimenti provedeni na grožđu, kukuruzu, crvenoj naranči, uročnjaku i jabuci pokazuju veći stupanj biosinteze antocijana nakon izlaganja hladnoći, a na vrstama *B. oleracea* (L.) i *Arnica montana* (L.) zabilježen je veći omjer između kvercetina i kampferola tijekom stresa niskim temperaturama.

Toplinski stres uzrokovan je porastom temperature iznad optimalne razine tijekom dovoljno dugog vremena da prouzroči nepovratno oštećenje razvoja biljaka (Wahid i sur., 2007.). Ono negativno djeluje na fotosintezu, uzrokuje brz gubitak vode pa posljedično i dehidraciju te na kraju stvara i oksidacijski stres (Qu i sur., 2013.). Dokazana je negativna korelacija između povišene temperature i koncentracije antocijana na vrstama jabuke i grožđa (Mori i sur., 2007), kao i na patlidžanu, što je moguće objasniti djelovanjem povećane temperature na aktivnost enzima. Naime, povišena temperatura smanjuje aktivnost enzima uključenih u biosintezu flavonoida poput UDP-glukoza:flavonoid-3-*O*-glukoziltransferaze (UGFT), enzima odgovornog za posljednji korak u sintezi antocijana (Mori i sur., 2007; Movahed i sur., 2016). Nadalje, Chebrolu i sur. (2016) proveli su istraživanje na temperaturno-osjetljivom i temperaturno-otpornom genotipu soje. Temperaturno-otporni genotip soje sadržavao je više flavonoida, prekursora askorbata i tokoferola koji su odgovorni za ublažavanje posljedica uzrokovanih ROS-ovima, čija se koncentracija značajno povećava tijekom temperaturnog stresa, što potvrđuje antioksidacijsku ulogu flavonoida. Sukladno tomu, može se zaključiti da biljka metabolički specifično odgovara na stres uzrokovan niskim i visokim temperaturama. Tijekom stresa izazvanog hladnoćom, u biljci se povećava količina flavonoida, što nije primarna strategija biljaka prilikom stresa izazvanog visokom temperaturom jer tip i koncentracija flavonoida variraju između vrsta.

6.3 Teški metali

Flavonoidi također sudjeluju u odgovoru biljaka na stres izazvan teškim metalima. Teški metali predstavljaju skupinu elemenata čija je gustoća iznad 5 g/cm^3 . Neki od njih, poput željeza, kobalta, mangana, bakra, cinka i nikla, esencijalni su mikroelementi koji potrebni za rast i razvoj biljaka u optimalnim koncentracijama. Ukoliko koncentracija esencijalnih elemenata prelazi granicu optimuma, ona može predstavljati potencijalni izvor stresa biljkama (Michalak, 2006). Teški metali mogu inhibirati disanje, fotosintezu i rast stanica. Dietz i sur. (1999) i Sahw i sur. (2004) pokazali su da teški metali induciraju oksidacijski stres na razne načine; oni narušavaju metaboličke puteve u tilakoidnim membranama uzrokujući stvaranje slobodnih radikala te inaktiviraju antioksidacijske enzime. Povećanjem koncentracije teških metala u biljnom tkivu povećava se i koncentracija flavonoida što potvrđuje antioksidacijsku ulogu flavonoida u ublažavanju stresa (Lushchak, 2012). Ovu tvrdnju dokazuju eksperimenti provedeni na vrsti *Lupinus luteus* (L.); predinkubacija *L. luteus* flavonoidima ublažila je učinke stresa olovom pojačanim rastom korijena i smanjenim nakupljanjem ROS-ova (Izbiańska, 2014). Osim toga, u vrsti *Matricaria chamomilla* (L.), kao odgovor na visoku koncentraciju nikla zabilježena je povećana koncentracija flavonoida (Kováčik i sur., 2009), a u kulturi korijena vrste *Lemna gibba* (L.) također je pokazana povećana koncentracija flavonoida koju je uzrokovala povećana koncentracija bakra (Babu i sur., 2003). Flavonoidi u ovim slučajevima djeluju tako da se vežu za teške metale, stvarajući manje toksične spojeve (Goncharuk, 2023).

6.4 Zagađivači atmosfere

Zagađivači atmosfere imaju složene fizikalne i kemijske značajke koje ovise o izvoru zagađivanja. Oni mogu potjecati od ljudskih aktivnosti, kao što su cestovni i zračni promet, industrijske emisije, požarne nesreće i poljoprivredne djelatnosti, ili izvor mogu biti prirodne nepogode poput potresa, vulkanskih erupcija i ekstremnih temperatura (Curtis i sur., 2006). Kemijski gledano, ovi spojevi dolaze u plinovitom obliku te su neki od predstavnika ozon, ugljikov monoksid, dušikov dioksid, sumporov dioksid, benzen i ksilen (Li i sur., 2016). Kako bi provjerili sudjeluju li flavonoidi u zaštiti od zagađivača atmosfere, Giampaoli i sur. (2020) upotrijebili su fluorescentnu emisiju određenih kloroplastnih metabolita, poput flavonoida, karotenoida i feofitina kao biomarker zagađivača zraka te je njome dokazano kako je toksičnost dušikova dioksida modificirala emisiju

fluorescencije karotenoida i flavonoida, što ukazuje na zaštitnu ulogu flavonoida u borbi biljaka protiv stresa izazvanog onečišćivačima zraka. Mnogi su primjeri koji također potvrđuju poveznicu između flavonoida i zagađivača; HPLC analizom peludi biljaka koje su rasle na zagađenom području dokazano je kako su takve biljke imale veću koncentraciju flavonoida naspram biljaka iz nezagađenog područja. Razlog tome leži u činjenici da povećana koncentracija flavonoida dovodi do smanjene akumulacije ROS-ova u u peludi, što omogućuje razvitak polenove mješine i germinaciju. Također je primijećeno da je vrsta *Passiflora quadrangularis* L. uzgojena u maglovitoj atmosferi sintetizirala više antocijana kako bi podnijela izazvani stres (Ramaiya i sur., 2021).

Zagađivači atmosfere ulaze u biljne stanice preko puči te remete njihov rad. Kako bi zaštitili biljku, kutikula i vosak sadrže flavonoide (Baskar i sur., 2018) koji štite stanice od zagađivača uklanjanjem ROS-ova i sudjelovanjem u signalizaciji između stanica puči kako bi se blokirao prijenos signala koji dovodi do prestanka pravilnog rada puči.

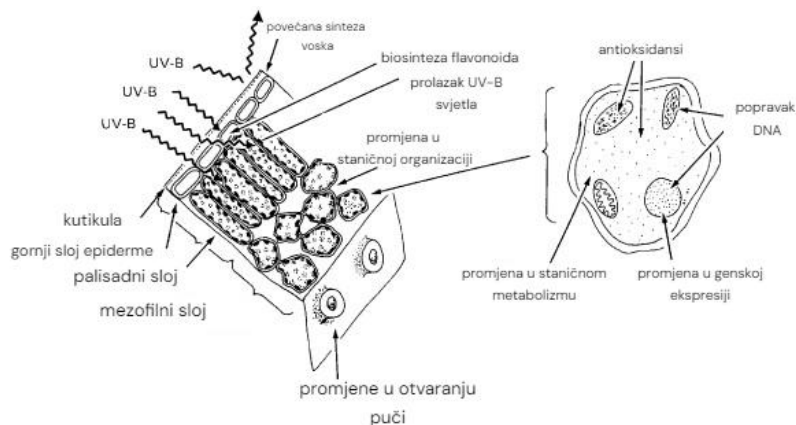
6.5 Svjetlost

Svjetlost je čimbenik potreban za fotosintezu, proces tijekom kojeg biljka koristi svjetlosnu energiju za sintezu organskih spojeva iz anorganskih. Kvaliteta, intenzitet i duljina izlaganja svjetlosti utječu na rast, morfologiju i prilagodbu okolišnim uvjetima te akumulaciju određenih tipova flavonoida (Hosseinzadeh i sur., 2021). Kako bi biljka mogla odgovoriti na svjetlost, potrebni su joj pigmenti, molekule koje će apsorbirati svjetlost. U uvjetima visokog intenziteta svjetlosti, pigmenti apsorbiraju više energije nego što je moguće iskoristiti u procesu fotosinteze te se ta energija tada prenosi na kisik, stvarajući singletni kisik koji može umanjiti učinkovitost fotosinteze. Tijekom stresa izazvanog svjetlošću, favorizirana je biosinteza dihidroksiflavonoida naspram monohidroksi flavonoida (Markham i sur., 2005) te će dihidroksiflavonoidi (npr. luteolin i kvercetin) koji reagiraju na svjetlost inhibirati sintezu ROS-ova, a dogodi li se sinteza, pokušat će ih deaktivirati (Van Acker i sur., 1996). Osim što je u takvim slučajevima moguća sinteza flavonoida koji imaju antioksidacijsku ulogu, moguća je i sinteza flavonoida koji će djelovati kao filteri svjetlosti. Istraživanja na vrstama *Vaccinium myrtillus* (L.) (Jaakola i sur., 2004) i *Fagopyrum esculentum* (L.) (Zandi i sur. 2011) pokazala su kako se količina flavonoida (koji će

biti lokalizirani na epidermi i kutikuli) povećava s povišenjem intenziteta svjetlosti kako bi filtrirali višak svjetlosti i time spriječili fotoinhibiciju (Caldwell i sur., 1983).

Stres također može stvarati i UV svjetlo koje dopire do Zemljine površine. Ono se može podijeliti na tri vrste: niskoenergentno UV-A svjetlo (320 nm – 400 nm), visokoenergentno UV-B svjetlo (280 nm -320 nm) te UV-C svjetlo (254 nm -280 nm). Najveću štetu nanosi UV-B svjetlo koje narušava proces fotosinteze i transpiraciju te strukturu stanice (Tevini i sur., 1989). Flavonoidi apsorbiraju UV-B svjetlo i štite stanice od oštećenja (Vergas i sur., 2003) (slika 12.). UV-B svjetlo potiče sintezu karotenoida, sprječava diobu stanica i povećava mogućnost sinteze ROS-ova (Apel i Hirt, 2004) Osim toga, oslabljuje biljni obrambeni mehanizam čime povećava mogućnost napada patogenima. Povećani omjer vrlo efektivnih antioksidanasa (kvercetina i luteolina) naspram slabih antioksidanasa (kempferola i apigenina) zabilježen je kod biljaka koje su bile izložene UV-B svjetlosti (Markham i sur., 2005). Tijekom izlaganja UV-B svjetlu u vrsti *Ginkgo biloba* (L.) zabilježena je veća koncentracija flavonola (Zhao i sur., 2020), a u vrsti *Asparagus officinalis* (L.) nađena je veća koncentracija kvercetina (Eichholz i sur., 2012). Antocijani također imaju ulogu pri obrani od UV-B svjetla; oni kontroliraju količinu ROS-ova, reguliraju rast i cvjetanje. Razlike u akumulaciji antocijana zabilježene su između dva ekotipa *Ler* i *Col* uročnjaka, pokazujući kako se dva kultivara mogu razlikovati po osjetljivosti na UV-B svjetlo. Istraživanja na zelenim i crvenim listovima *Elatostema rugosum* (L.) pokazala su kako je crveno lišće imalo veću koncentraciju antioksidanasa (Neill i sur., 2002), a ti su antioksidansi uključivali antocijane, katalaze i hidroksicimetnu kiselinu. Između ovih spojeva, antocijani su najviše doprinijeli antioksidacijskom odgovoru. UV-B svjetlost potiče sintezu antocijana, no njihova se koncentracija smanjuje kako biljka stari, kao i njihov antioksidacijski potencijal.

Pretpostavlja se kako promjene izazvane svjetlošću rezultiraju sintezom flavonoida koji mogu obavljati više funkcija (filtracija svjetlosti i antioksidacijski potencijal), no te biokemijske prilagodbe prvenstveno imaju antioksidacijsku ulogu (Landry i sur., 1995; Winkel-Shirley, 2002). Ovu hipotezu potvrđuje istraživanje kojim je pokazano da tijekom izlaganja UV-B svjetlosti dolazi do većeg nakupljanja kvercetina, efektivnog antioksidansa, od kempferola, molekule koja je učinkovitija pri apsorpciji UV-A svjetla (Ferreya i sur., 2021).



Slika 12. Uloga i mehanizam djelovanja flavonoida na prerezu mezofila lista pri uvjetima visokog UV-B zračenja. Preuzeto iz Jordan (1996).

7 Uloga flavonoida u biotičkom stresu

Kako su biljke sesilni organizmi, nisu u mogućnosti fizički se udaljiti i obraniti od napada uzročnika biotičkog stresa. One su u prirodi svakodnevno izložene nepoželjnim bakterijama, patogenim gljivicama, nematodama i herbivorima te su stoga morale razviti strategije kojima bi se obranile od njihove invazije. Na napad patogena biljke odgovaraju hipersenzitivnim odgovorom, to jest brzom lokaliziranom staničnom smrću koja se odvija na mjestu napada patogena (Mur i sur., 2008). One predstavljaju glavnu strategiju pri otpornosti biljaka na bolesti, a uključuje indukciju litičkih enzima, jačanje stanične stijenke te sintezu, akumulaciju i sekreciju fitoaleksina (Singh i Upadhyay, 2013). Fitoaleksini obuhvaćaju heterogenu skupinu fenolnih spojeva koji se nakupljaju nakon bakterijske ili gljivične infekcije kako bi se ograničilo širenje patogena (Shah i Smith, 2020) te oni mogu djelovati ciljano na točno specifične patogene ili pak mogu imati šire djelovanje. Određeni flavonoidi djeluju kao snažni fitoaleksini koji suzbijaju djelovanje patogenih bakterija, gljivica i nematoda, što dokazuju istraživanja provedena na mahunarkama, krastavcima i lotosu.

7.1 Oblici

Oblici (Nematoda) koji napadaju biljke svojim usnim aparatom oštećuju epidermu, sišu staničnu tekućinu, stvaraju ranu na njihovom tkivu čime mogu omogućiti daljnju infekciju

(Molinari 2011) te uzrokuju stvaranje cista, mrlja, otečenost tkiva i truljenje (Kimenju i sur., 2004). Flavonoidi i njihovi derivati, čija je sinteza potaknuta napadom oblića, imaju ulogu u interakciji između biljke i spomenutih organizama. Oblići će se susresti s flavonoidima već u zemlji, gdje flavonoidi mogu inhibirati njihovo izlijevanje iz jajašaca (Wuyts i sur., 2006). Ukoliko se oblići izlegnu, flavonoidi mogu usporiti njihovo kretanje, odbiti migraciju prema korijenu te ih ubiti. Primjerice, kvercetin, kempferol i miricetin su uzrokovali usporavanje i odbijanje ličinki *Meloidogyne incognita* (Wuyts i sur., 2006), a rutin, kvercetin i patuletin su izazvali smrt ličinke *Heterodera zea* (Faizi i sur., 2011). Učinak flavonoida na obliće ovisi o kaskadi stanične signalizacije pojedine vrste, propusnosti kutikule za otopljene tvari, afinitetu vezanja flavonoida za receptore, stoga djelovanje flavonoida nije jednako za svaku pojedinu vrstu. Kada oblič napadne biljku, u biljci se pojačava stupanj sinteze obrambenih flavonoida, posebice izoflavonoida i flavonola (Chin i sur., 2018). Oni se sintetiziraju iz korijena biljke onog trenutka kada je oblič oštetio izdanak, akumuliraju se na mjestu gdje će se oblič hraniti te tada mogu smanjiti fertilitet jedinki umanjujući produkciju jajašaca ili čak promijeniti udio ženskih jedinki naspram muških jedinki (Grundler i sur. 1991).

7.2 Gljivice

Fitopatogene gljivice predstavljaju problem u agronomiji jer napadom stvaraju ogromne gubitke u prinosu usjeva (González-Fernández i sur., 2010). Da bi se biljke zaštitile od utjecaja patogenih gljivica, razvile su učinkovite metode kojima se mogu obraniti, a sinteza fitoaleksina najučinkovitija je strategija. Utjecaj fitopatogenih gljivica istražen je na vrstama porodice Cucurbitaceae koje su prilikom napada gljivice *Erysiphe cichoracearum* razvile bolest pepelnicu. Ona uzrokuje pojavu žutih mrlja, a kako bolest napreduje, tako dolazi do savijanja lišća i nekroze (Cunfer, 2002). Fawe i sur. (1998) pokazali su kako silicij utječe na otpornost krastavaca na pepelnicu pojačavajući sintezu antifungalnih metabolita u zaraženom lišću, a jedan od antifungalnih metabolita jest upravo flavonol ramnetin. Nadalje, na vrstama roda *Citrus* zabilježeni su flavanoni i flavoni, uključujući naringin, hesperidin i nobiltein, koji su sintetizirani u biljkama i prije same zaraze fitopatogenima kako bi biljka bila otpornija na zarazu (Ortuño i sur., 2011). Još jedno istraživanje pratilo je utjecaj četiri vrste fitopatogene gljivice roda *Aspergillus* na kotiledone

soje te je dokazano kako se količina kumesterola i gliceolina (derivat daidzeina) povećao uslijed napada (Boué i sur., 2000).

7.3 Bakterije

Istraživanja prirodnih obrambenih mehanizama biljaka povezanih sa sintezom antimikrobnih fitoaleksina kao odgovora na biotički stres pokazala su da se razina fitoaleksina povećala kao odgovor na napad fitopatogenih bakterija. Flavonoidi mogu izravno narušiti strukturu bakterije i ublažiti bakterijsku patogenost (Cushnie i sur., 2011). Antibakterijski učinak flavonoida ovisi o njegovoj strukturi, posebice o supstituciji na aromatskim prstenima te se pokazalo da oni flavonoidi koji imaju hidrofobne supstituente posjeduju jača antibakterijska djelovanja (Xie i sur., 2015). Osim izravnih aktivnosti, flavonoidi inhibiraju *quorum-sensing* signale, neutraliziraju toksičnost i inhibiraju vezanje bakterija za ligande domaćina (Cushnie i sur., 2011). Tako katehini narušavaju bakterijsku membranu vezanjem za lipidni dvosloj i inaktivacijom intracelularnih i ekstracelularnih bakterijskih enzima (Reygaert 2014), a acetin, apigenin i morin dezorijentiraju bakterijske membranske lipide (Ollila i sur., 2002). Nadalje, Sanver i sur. (2016) pokazali su da kvercetin, rutin i tilirozid uzrokuju stanjivanje dvosloja, a istraživanje na bakteriji *Escherichia coli* potvrdilo je da kvercetin i apigenin inhibiraju bakterijsku DNA girazu, enzim potreban za replikaciju DNA (Ohemeng i sur., 1993). Također, Lee i sur. (2012) pokazali su da genistein, apigenin, daidzein i krizin posjeduju inhibitorni učinak na *E. coli* pri stvaranju biofilma, a Vikram i sur. (2010) ukazali su na blokiranje bakterijskih staničnih signala apigeninom, kempferolom i kvercetinom. Usto, kumesterol se akumulirao kao odgovor na napad graha bakterijama *Pseudomonas spp.* te je dodatno inhibirao rast dviju patogenih bakterija: *P. mars-prunorum* i *P. phaseolicola* (Lyon i sur., 1975).

7.4 Herbivori

Kako bi se zaštitile od napada biljojeda, biljke razvijaju specijalizirane morfološke strukture (trihome i emergencije) te proizvode specijalizirane metabolite koji djeluju toksično, odbojno ili antinutritivno na biljojede. Biljke različito reagiraju na svaku vrstu napadača te se obrambeni odgovor pokreće putem signala koji uključuju fitohormone jasmonsku kiselinu, etilen i salicilnu kiselinu (Diezel i sur., 2009). Fitohormoni mogu direktno djelovati na biljojede modificirajući

njihovu preferenciju prema biljci domaćinu, stopu preživljavanja i reproduktivni uspjeh ili indirektno putem interakcije s drugim organizmima koji su prirodni neprijatelji štetnika (War i sur., 2012). Tako je dokazano da su flavoni izolirani iz vrsta *Tephrosia villosa* (L.), *T. purpurea* (L.) i *T. vogelii* Hook inhibirali hranjenje vrste *Spodoptera exempta* bez izravnog ubijanja. Nadalje, Quiroz i sur. (2017) istražili su učinak vrste *Hylastinus obscurus*, jednog od najozbiljnijeg napadača crvene djeteline (*Trifolium pratense* L.), te su pokazali kako genistein i formononetin, flavonoidi koji se nalaze u korijenu crvene djeteline, uzrokuju gubitak mase i smanjenu aktivnost *H. obscurus*. Osim toga, Lathinen i sur. (2004) dokazali su kako povišena koncentracija aglikona 5-hidroksi-4', 7-dimetoksiflavanona usporava brzinu rasta ličinki *Epirrita autumnata*, a Goławska i Łukasik (2012) potvrdili su da genistein, koji djeluje na lisnu uš graška, potpuno zaustavlja proizvodnju slina i gutanje lisne uši (*Acyrtosiphon pisum*). Također je pokazano da su genistein i rutin, izolirani iz kikirikija, smanjili stopu preživljavanja ličinke *Spodoptera litura* (Mallikarjuna i sur., 2003). Ovim je istraživanjima dokazano kako flavonoidi putem raznih mehanizama doprinose otpornosti biljaka tijekom napada insekata, čime joj omogućuju veću stopu preživljavanja.

8 Zaključak

Biosinteza, prijenos i aktivacija flavonoida jedna je od učinkovitih strategija kojima se biljka bori protiv stresa uzrokovanog nepovoljnim okolišnim uvjetima. Skupina flavonoida dijeli se na antocijane, flavone, flavonole, flavane, flavanone i halkone koji su različito zastupljeni ovisno o vrsti biljke. Biološka aktivnost flavonoida ovisi o supstituentima koji se nalaze na flavonoidnom kosturu te oni određuju kakvog će karaktera biti flavonoid. Zaključeno je da oni flavonoidi koji imaju više hidroksilnih skupina djeluju kao antioksidansi, a oni koji su hidrofobniji kao zaštitnici membrana. Shodno tomu, određeni flavonoidi efektivno reduciraju ROS-ove nastale zbog stresa izazvanog temperaturom, sušom, teškim metalima i zagađivačima zraka. Nadalje, djeluju kao signalne molekule između patogena s ciljem spašavanja od daljnje infekcije te tako podupiru biljni obrambeni mehanizam. Daljnja istraživanja trebala bi se usmjeriti na identifikaciju flavonoida koji su efikasniji u specifičnim stresnim uvjetima kako bi se mogli upotrijebiti u poljoprivredi i proizvodnji hrane.

9 Literatura

- Agati, G., & Tattini, M. (2010). Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytologist*, 186(4), 786–793. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03269.x>
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012b). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>
- Agati, G., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F., Pollastri, S., & Tattini, M. (2013). Functional roles of flavonoids in photoprotection: new evidence, lessons from the past. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.03.014>
- Agati, G., Stefano, G., Biricolti, S., & Tattini, M. (2009). Mesophyll distribution of ‘antioxidant’ flavonoid glycosides in *Ligustrum vulgare* leaves under contrasting sunlight irradiance. *Annals of Botany*, 104(5), 853–861. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp177>
- Aherne, S., & O’Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18(1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00695-5](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00695-5)
- Akinci, Ş., & Lösel, D. M. (2012). Plant water-stress response mechanisms. *Water Stress*, 15, 42. <https://doi.org/10.5772/29578>
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., & Trinajstić, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55-61. <https://hrcak.srce.hr/103057>
- Andersen ØM., Markham KR. (1998): Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton, CRC Press.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55(1), 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Babu, T. S., Akhtar, T. A., Lampi, M. A., Tripuranthakam, S., Dixon, D. G., & Greenberg, B. M. (2003). Similar stress responses are elicited by copper and ultraviolet radiation in the aquatic plant *Lemna gibba*: implication of reactive oxygen species as common Signals. *Plant and Cell Physiology*, 44(12), 1320–1329. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcg160>
- Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S. K., & Arora, S. (2012b). Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 216–232. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9272-x>
- Baskar, V., Venkatesh, R., & Ramalingam, S. (2018). Flavonoids (antioxidants systems) in higher plants and their response to stresses. U: Gupta, D., Palma, J., Corpas, F. (ur.) *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Berlin, Springer International Publishing, 253-268. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75088-0_12

- Bhat, M. A., Kumar, V., Bhat, M. A., Wani, I. A., Dar, F. L., Farooq, I., Bhatti, F., Koser, R., Rahman, S., & Jan, A. T. (2020). Mechanistic insights of the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with plant roots toward enhancing plant productivity by alleviating salinity stress. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 1952. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01952>
- Bilger, W., Rolland, M., & Nybakken, L. (2007). UV screening in higher plants induced by low temperature in the absence of UV-B radiation. *Photochemical & Photobiological Sciences*, *6*(2), 190–195. <https://doi.org/10.1039/b609820g>
- Boué, S. M., Carter, C. H., Ehrlich, K. C., & Cleveland, T. E. (2000). Induction of the soybean phytoalexins coumestrol and glyceollin by *Aspergillus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(6), 2167–2172. <https://doi.org/10.1021/jf9912809>
- Braidot, E., Zancani, M., Petrusa, E., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., Macri, F., & Vianello, A. (2008b). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signaling & Behavior*, *3*(9), 626–632. <https://doi.org/10.4161/psb.3.9.6686>
- Buer, C. S., Muday, G. K., & Djordjevic, M. A. (2007). Flavonoids are differentially taken up and transported long distances in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, *145*(2), 478–490. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101824>
- Caldwell, M. M., Robberecht, R., & Flint, S. D. (1983). Internal filters: prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiologia Plantarum*, *58*(3), 445–450. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04206.x>
- Camp, R. G. L. O. D., Przybyla, D., Ochsenbein, C., Laloi, C., Kim, C., Danon, A., Wagner, D., Hideg, E., Göbel, C., Feussner, I., Nater, M., & Apel, K. (2003). Rapid induction of distinct stress responses after the release of singlet oxygen in *Arabidopsis*[W]. *The Plant Cell*, *15*(10), 2320–2332. <https://doi.org/10.1105/tpc.014662>
- Cesco, S., Neumann, G., Tomasi, N., Pinton, R., & Weisskopf, L. (2010). Release of plant-borne flavonoids into the rhizosphere and their role in plant nutrition. *Plant and Soil*, *329*(1–2), 1–25. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0266-9>
- Chebrolu, K. K., Fritschi, F. B., Ye, S., Krishnan, H. B., Smith, J. R., & Gillman, J. D. (2016). Impact of heat stress during seed development on soybean seed metabolome. *Metabolomics*, *12*(2). <https://doi.org/10.1007/s11306-015-0941-1>
- Chin, S., Behm, C., & Mathesius, U. (2018). Functions of flavonoids in plant–nematode interactions. *Plants*, *7*(4), 85. <https://doi.org/10.3390/plants7040085>
- Cook, D., Fowler, S., Fiehn, O., & Thomashow, M. F. (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(42), 15243–15248. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406069101>
- Cunfer, B. M. (2002). Powdery mildew. *Bread Wheat: Improvement and Production*, *30*, 317–330.

- Curtis, L., Rea, W., Smith-Willis, P., Fenyves, E., & Pan, Y. (2006). Adverse health effects of outdoor air pollutants. *Environment International*, 32(6), 815–830. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.03.012>
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Davies, K. M. (2009). Modifying anthocyanin production in flowers. U: Gould, K., Davies., K.M., & Winefield, C. (ur.) *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*. New York, Springer Science & Business Media, 49-80. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_3
- De Carvalho, M. H. C. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior*, 3(3), 156–165. <https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5536>
- Daryanavard, H., Postiglione, A. E., Mühlemann, J. K., & Muday, G. K. (2023). Flavonols modulate plant development, signaling, and stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 72, 102350. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2023.102350>
- Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>
- Devi, P. S. V., Prasad, Y. G., Chowdary, D. A., Rao, L. M., & Balakrishnan, K. (2003). Identification of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea Rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa Armigera* and *Spodoptera Litura*. *Mycopathologia*, 156(4), 365–373. <https://doi.org/10.1023/b:myco.0000003578.38483.34>
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021b). Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Diezel, C., Von Dahl, C. C., Gaquerel, E., & Baldwin, I. T. (2009). Different lepidopteran elicitors account for Cross-Talk in Herbivory-Induced phytohormone signaling. *Plant physiology*, 150(3), 1576–1586. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139550>
- Dinelli, G., Bonetti, A., Elementi, S., Antuono, L., & Catiozone, P. (2019). Biosynthesis of polyphenol phytoestrogens in plants. U: Dinelli, G., Bonetti, A., Elementi, S., Antuono, L.F.D., & Catiozone, P. (ur.) *Biosynthesis of Polyphenol Phytoestrogens in Plants*. Boca Raton, CRC Press, 19-80. <https://doi.org/10.1201/9780429113802-2>
- Eichholz, I., Rohn, S., Gamm, A., Beesk, N., Herppich, W. B., Kroh, L. W., Ulrichs, C., & Huyskens-Keil, S. (2012). UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Food Research International*, 48(1), 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.008>

- Erlejman, A., Verstraeten, S., Fraga, C., & Oteiza, P. (2004). The interaction of flavonoids with membranes: potential determinant of flavonoid antioxidant effects. *Free Radical Research*, 38(12), 1311–1320. <https://doi.org/10.1080/10715760400016105>
- Faizi, S., Fayyaz, S., Bano, S., Iqbal, E. Y., Siddiqi, H., & Naz, A. (2011). Isolation of nematicidal compounds from *Tagetes patula* L. yellow flowers: structure–activity relationship studies against cyst nematode *Heterodera zeae* infective stage larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9080–9093. <https://doi.org/10.1021/jf201611b>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. S. M. A., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. U: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (ur.) *Sustainable Agriculture*. Dordrecht, Springer, 153–188. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_12
- Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J. G., & Bélanger, R. R. (1998). Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology*, 88(5), 396–401. <https://doi.org/10.1094/phyto.1998.88.5.396>
- Ferreira, M. L. F., Serra, P., & Casati, P. (2021). Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. *Physiologia Plantarum*, 173(3), 736–749. <https://doi.org/10.1111/ppl.13543>
- Fraire-Velázquez, S., & Balderas-Hernández, V. E. (2013). Abiotic stress in plants and metabolic responses. U: Vahdati, K., & Leslie, C. (ur.) *Abiotic stress-plant responses and applications in agriculture*, Norderstedt, BoD - Books on Demand GmbH, 25–48. <https://doi.org/10.5772/54859>
- Giampaoli, P., Fernandes, F. F., Tavares, A. R., Domingos, M., & Cardoso-Gustavson, P. (2020). Fluorescence emission spectra of target chloroplast metabolites (flavonoids, carotenoids, lipofuscins, pheophytins) as biomarkers of air pollutants and seasonal tropical climate. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(20), 25363–25373. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08646-y>
- Goławska, S., & Łukasik, I. (2012). Antifeedant activity of luteolin and genistein against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Pest Science*, 85(4), 443–450. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0452-z>
- Goncharuk, E. A., & Zagoskina, N. V. (2023). Heavy metals, their phytotoxicity, and the role of phenolic antioxidants in plant stress responses with focus on cadmium: review. *Molecules*, 28(9), 3921. <https://doi.org/10.3390/molecules28093921>
- González-Fernández, R., Prats, E., & Jorrín-Novo, J. V. (2010). Proteomics of plant pathogenic fungi. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 1–36. <https://doi.org/10.1155/2010/932527>
- Gould, K. S., Mckelvie, J., & Markham, K. R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant Cell & Environment*, 25(10), 1261–1269. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00905.x>

- Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Huang, X. D., Duxbury, C. L., Gerhardt, K. E., & Gensemer, R. W. (1997). The effects of ultraviolet-B radiation on higher plants. *Plants for environmental studies*, 2, 1-35.
- Grundler, F., Betka, M., & Wyss, U. (1991). Influence of changes in the nurse cell system (syncytium) on sex determination and development of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: total amounts of proteins and amino acids. *Phytopathology*, 81(1), 70-74.
- Hackman, R. M., Polagruto, J. A., Zhu, Q. Y., Sun, B., Fujii, H., & Keen, C. L. (2007). Flavanols: digestion, absorption and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 195–208. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9070-4>
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1981). The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Journal of Biological Chemistry*, 256(9), 4494-4497. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)69462-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)69462-7)
- Han, R., Zhang, J., & Skibsted, L. H. (2012). Reaction dynamics of flavonoids and carotenoids as antioxidants. *Molecules*, 17(2), 2140–2160. <https://doi.org/10.3390/molecules17022140>
- Hatier, J. H. B., & Gould, K. S. (2009). Anthocyanin function in vegetative organs. U: Gould, K., Davies., K.M., & Winefield, C. (ur.) *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*. New York, Springer Science & Business Media, 1-19. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77335-3_1
- Hernandez, I., Alegre, L., & Munne-Bosch, S. (2004). Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. *Tree Physiology*, 24(11), 1303–1311. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.11.1303>
- Hideg, É., Juhász, M., Bornman, J. F., & Asada, K. (2002). The distribution and possible origin of blue—green fluorescence in control and stressed barley leaves. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 1(12), 934–941. <https://doi.org/10.1039/b201916g>
- Hoekstra, F. A., & Golovina, E. A. (2002). The role of amphiphiles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part a Molecular & Integrative Physiology*, 131(3), 527–533. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(01\)00504-9](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(01)00504-9)
- Hohtola, A., Jaakola, L., Maata-Riihinen, K., & Karenlampi, S. (2004). Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Leaves. *Planta*, 218(5), 721–728. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1161-x>
- Hosseinzadeh, M., Aliniaefard, S., Shomali, A., & Didaran, F. (2021). Interaction of light intensity and CO2 concentration alters biomass partitioning in chrysanthemum. *Journal of Horticultural Research*, 29(2), 45–56. <https://doi.org/10.2478/johr-2021-0015>
- Husain, S. R., Cillard, J., & Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, 26(9), 2489–2491. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)83860-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)83860-1)
- Ikram, K., Abdelhakim, R. Y. H., Topcuoglu, B., Badiaa, O., & Houria, T. (2020). Accumulation of polyphenols and flavonoids in *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt stressed by heavy metals (zinc, lead and cadmium). *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 16, 334-337.

Izbiańska, K., Arasimowicz-Jelonek, M., & Deckert, J. (2014). Phenylpropanoid pathway metabolites promote tolerance response of lupine roots to lead stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.014>

Jamal Omid, F., Mohajjel Shoja, H., & Sariri, R. (2018). Effect of water-deficit stress on secondary metabolites of *Melissa officinalis* L.: role of exogenous salicylic acid. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 16(2), 121-134. <https://aquadocs.org/handle/1834/13522>

Jovanović, S. V., Steenken, S., Tosić, M., Marjanović, B., & Simić, M. G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846–4851. <https://doi.org/10.1021/ja00090a032>

Khan, M. A. M., Ulrichs, C., & Mewis, I. (2011). Effect of water stress and aphid herbivory on flavonoids in broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica* Plenck). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84, 178-182.

Kimenju, J., Sibanda, Z., Talwana, H., & Wanjohi, W. (2004). Nematology training manual. *Nematology initiative for Eastern and Southern Africa*.

Kováčik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., & Bačkor, M. (2009). Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology*, 18(5), 544–554. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0312-7>

Křížová, L., Dadáková, K., Kašparovská, J., & Kašparovský, T. (2019). Isoflavones. *Molecules*, 24(6), 1076. <https://doi.org/10.3390/molecules24061076>

Kumari, A., & Parida, A. K. (2018). Metabolomics and network analysis reveal the potential metabolites and biological pathways involved in salinity tolerance of the halophyte *Salvadora persica*. *Environmental and Experimental Botany*, 148, 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.021>

Lahtinen, M., Salminen, J., Kapari, L., Lempa, K., Ossipov, V., Sinkkonen, J., Valkama, E., Haukioja, E., & Pihlaja, K. (2004). Defensive effect of surface flavonoid aglycones of *Betula pubescens* leaves against first instar *Epirrita autumnata* larvae. *Journal of Chemical Ecology*, 30(11), 2257–2268. <https://doi.org/10.1023/b:joec.0000048787.34388.dd>

Landry, L. G., Chapple, C., & Last, R. L. (1995). Arabidopsis mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced Ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant physiology*, 109(4), 1159–1166. <https://doi.org/10.1104/pp.109.4.1159>

Lee, H., Lee, J., Park, K., Sangurdekar, D., & Chang, W. (2012). Effect of soybean coumestrol on *Bradyrhizobium japonicum* nodulation ability, biofilm formation, and transcriptional profile. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2896–2903. <https://doi.org/10.1128/aem.07336-11>

Lev-Yadun, S., & Gould, K. S. (2009). Role of anthocyanins in plant defence. U: Gould, K., Davies., K.M., & Winefield, C. (ur.) *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*. New York, Springer Science & Business Media, 22-28.

- Li, B., Fan, R., Guo, S., Wang, P., Zhu, X., Fan, Y., Chen, Y., He, K., Kumar, A., Shi, J., Wang, Y., Li, L., Hu, Z., & Song, C. (2019). The Arabidopsis MYB transcription factor, MYB111 modulates salt responses by regulating flavonoid biosynthesis. *Environmental and Experimental Botany*, 166, 103807. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103807>
- Li, J., Sun, S., Tang, R., Qiu, H., Huang, Q., Mason, T. G., & Tian, L. (2016). Major air pollutants and risk of COPD exacerbations: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of COPD*, 11, 3079–3091. <https://doi.org/10.2147/copd.s122282>
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12824. <https://doi.org/10.3390/ijms222312824>
- Lushchak, V. I., & Semchuk, N. M. (2012). Tocopherol biosynthesis: chemistry, regulation and effects of environmental factors. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5), 1607–1628. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0988-9>
- Lyon, F. M., & Wood, R. (1975). Production of phaseollin, coumestrol and related compounds in bean leaves inoculated with *Pseudomonas* spp. *Physiological Plant Pathology*, 6(2), 117–124. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(75\)90039-9](https://doi.org/10.1016/0048-4059(75)90039-9)
- Malešev, D., & Kuntić, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921–939. <https://doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0352-51390710921M>
- Marinova, K., Pourcel, L., Weder, B., Schwarz, M., Barron, D., Routaboul, J., Debeaujon, I., & Klein, M. (2007). The Arabidopsis mate Transporter TT12 acts as a vacuolar Flavonoid/H⁺-Antiporter active in Proanthocyanidin-Accumulating cells of the seed coat. *The Plant Cell*, 19(6), 2023–2038. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046029>
- Markham, K. R., Ryan, K. G., Bloor, S. J., & Mitchell, K. A. (1998). An increase in the luteolin : apigenin ratio in *Marchantia polymorpha* on UV-B enhancement. *Phytochemistry*, 48(5), 791–794. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(97\)00875-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(97)00875-3)
- Melidou, M., Riganakos, K., & Galaris, D. (2005). Protection against nuclear DNA damage offered by flavonoids in cells exposed to hydrogen peroxide: The role of iron chelation. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(12), 1591–1600. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.009>
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish journal of environmental studies*, 15(4), 523-530.
- Molinari, S. (2010). Natural genetic and induced plant resistance, as a control strategy to plant-parasitic nematodes alternative to pesticides. *Plant Cell Reports*, 30(3), 311–323. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0972-z>
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., & Hashizume, K. (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*, 58(8), 1935–1945. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm055>

- Movahed, N., Pastore, C., Cellini, A., Allegro, G., Valentini, G., Zenoni, S., Cavallini, E., D'Inca, E., Tornielli, G. B., & Filippetti, I. (2016). The grapevine vviprx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature. *Journal of Plant Research*, 129(3), 513–526. <https://doi.org/10.1007/s10265-016-0786-3>
- Mueller, L. A., Goodman, C. D., Silady, R. A., & Walbot, V. (2000). AN9, a petunia glutathione S-transferase required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein. *Plant physiology*, 123(4), 1561–1570. <https://doi.org/10.1104/pp.123.4.1561>
- Mur, L. A. J., Simpson, C., Kumari, A., Gupta, A. K., & Gupta, K. J. (2017). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*, 119(5), 703–709. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw179>
- Neill, S. O., Gould, K. S., Kilmartin, P. A., Mitchell, K. A., & Markham, K. R. (2002). Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. *Plant Cell & Environment*, 25(4), 539–547. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00837.x>
- Ohemeng, K., Schwender, C., Fu, K., & Barrett, J. (1993). DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones(1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(2), 225–230. [https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(01\)80881-7](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(01)80881-7)
- Ollila, F., Halling, K., Vuorela, P., Vuorela, H., & Slotte, J. (2002). Characterization of Flavonoid–Biomembrane interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 399(1), 103–108. <https://doi.org/10.1006/abbi.2001.2759>
- Ortuño, A., Díaz, L., Alvarez, N., Porras, I., García-Lidón, A., & Del Río, J. (2011). Comparative study of flavonoid and scoparone accumulation in different Citrus species and their susceptibility to *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 125(1), 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.012>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Parvin, K., Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Mohsin, S. M., & Fujita, M. (2020). Exogenous vanillic acid enhances salt tolerance of tomato: Insight into plant antioxidant defense and glyoxalase systems. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 109–120. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.030>
- Qu, K., Shen, N., Xu, X., Su, H., Wei, J., Tai, M., Meng, F., Zhou, L., Zhang, Y., & Liu, C. (2013). Emodin induces human T cell apoptosis in vitro by ROS-mediated endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34(9), 1217–1228. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.58>
- Quiroz, A., Mendez, L., Mutis, A., Hormazabal, E., Ortega, F., Birkett, M. A., & Parra, L. (2017). Antifeedant activity of red clover root isoflavonoids on *Hylastinus obscurus*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162017005000018>

- Rahardiyan, D. (2019). Antibacterial potential of catechin of tea (*Camellia sinensis*) and its applications. *Food Research*, 3(1), 1-6. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(1\).097](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(1).097)
- Rahman, M. M., Habib, M. A., Sikdar, M. S. I., Shamsuzzoha, M., & Islam, M. S. (2016). Evaluation of mungbean genotypes for salt tolerance at seedling stage and alleviation of saline stress by gypsum. *Fundamental and Applied Agriculture*, 1(1), 39–43. <https://www.f2ffoundation.org/faa/index.php/home/article/view/55>
- Ramaiya, S. D., Lee, H. H., Xiao, Y. J., Shahbani, N. S., Zakaria, M. H., & Bujang, J. S. (2021). Organic cultivation practices enhanced antioxidant activities and secondary metabolites in giant granadilla (*Passiflora quadrangularis* L.). *Plos One*, 16(7) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255059>
- Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology*, 5, 434. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00434>
- Saini, N., Gahlawat, S. K., & Lather, V. (2017). Flavonoids: A nutraceutical and its role as anti-inflammatory and anticancer agent. U: Gahlawat, S., Salar, R., Siwach, P., Duhan, J., Kumar, S., Kaur, P. (ur.) *Plant Biotechnology: Recent Advancements and Developments*. Singapore, Springer, 255-270. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4732-9_13
- Sanver, D., Murray, B. S., Sadeghpour, A., Rappolt, M., & Nelson, A. L. (2016). Experimental modeling of flavonoid–biomembrane interactions. *Langmuir*, 32(49), 13234–13243. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02219>
- Shah, A., & Smith, D. L. (2020b). Flavonoids in agriculture: chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations. *Agronomy*, 10(8), 1209. <https://doi.org/10.3390/agronomy10081209>
- Sheahan, J. J. (1996). Sinapate esters provide greater UV-B attenuation than flavonoids in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 83(6), 679–686. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1996.tb12757.x>
- Shomali, A., Das, S., Arif, N., Sarraf, M., Zahra, N., Yadav, V., Aliniaiefard, S., Chauhan, D. K., & Hasanuzzaman, M. (2022). Diverse physiological roles of flavonoids in plant environmental stress responses and tolerance. *Plants*, 11(22), 3158. <https://doi.org/10.3390/plants11223158>
- Singh, M., Kaur, M., & Silakari, O. (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 206–239. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.013>
- Singh, V. K., & Upadhyay, R. S. (2013). The hypersensitive response: a case of cell death induction in plants. *International Journal of Engineering Research and Technology*, 2, 1828-1832.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D., & Agati, G. (2004). Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist*, 163(3), 547–561. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01126.x>

- Tattini, M., Gravano, E., Pinelli, P., Mulinacci, N., & Romani, A. (2000). Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. *New Phytologist*, 148(1), 69–77. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00743.x>
- Tevini, M., & Teramura, A. H. (1989). Uv-b effects on terrestrial plants. *Photochemistry and Photobiology*, 50(4), 479–487. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1989.tb05552.x>
- Tsao, R., & McCallum, J. (2010). Chemistry of flavonoids. *Fruit and Vegetable Phytochemicals*, 131, 151-153.
- Upadhyaya, H., & Panda, S. K. (2004). Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. *Biologia Plantarum*, 48(4), 597–600. <https://doi.org/10.1023/b:biop.0000047158.53482.37>
- Van Acker, S. A., Van Den Berg, D., Tromp, M. N., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331–342. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0)
- Vikram, A., Jayaprakasha, G., Jesudhasan, P., Pillai, S., & Patil, B. (2010). Suppression of bacterial cell–cell signalling, biofilm formation and type III secretion system by citrus flavonoids. *Journal of Applied Microbiology*, 109(2), 515–527. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04677.x>
- Wagner, G. J., & Hrazdina, G. (1984). Endoplasmic reticulum as a site of phenylpropanoid and flavonoid metabolism in *hippeastrum*. *Plant physiology*, 74(4), 901–906. <https://doi.org/10.1104/pp.74.4.901>
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>
- War, A. R., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ahmad, T., Nair, R. M., & Sharma, H. C. (2020). Plant defense and insect adaptation with reference to secondary metabolites. U: Mérillon, JM., Ramawat, K. (ur.) *Co-evolution of secondary metabolites*. Cham, Springer, 795-822. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96397-6_60
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*, 7(10), 1306–1320. <https://doi.org/10.4161/psb.21663>
- Willis, K. (2017). State of the World's Plants 2017. <https://library.oapen.org/handle/20.500.12657/49594>
- Winkel-Shirley, B. (2002). Molecular genetics and control of anthocyanin expression. *Advances in botanical research*, 37, 75–94. [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(02\)37044-7](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(02)37044-7)
- Wu, Z., Jiang, W., Chen, S., Mantri, N., Tao, Z., & Jiang, C. (2016). Insights from the cold transcriptome and metabolome of *Dendrobium officinale*: global reprogramming of metabolic and gene regulation networks during cold acclimation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1653. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01653>

- Wuyts, N. (2006). Nematode infection and reproduction in transgenic and mutant Arabidopsis and tobacco with an altered phenylpropanoid metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2825–2835. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl044>
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- Xoconostle-Cazares, B., Ramirez-Ortega, F. A., Flores-Elenes, L., & Ruiz-Medrano, R. (2010). Drought tolerance in crop plants. *American Journal of Plant Physiology*, 5(5), 241-256. <https://doi.org/10.3923/AJPP.2010.241.256>
- Yamasaki, H., Sakihama, Y., & Ikehara, N. (1997b). Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant physiology*, 115(4), 1405–1412. <https://doi.org/10.1104/pp.115.4.1405>
- Yang, Y., He, F., Yu, L., Chen, X., Lei, J., & Ji, J. (2007). Influence of drought on oxidative stress and flavonoid production in cell suspension culture of Glycyrrhiza inflata Batal. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 62(5–6), 410–416. <https://doi.org/10.1515/znc-2007-5-615>
- Yazaki, K. (2005). ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites. *FEBS Letters*, 580(4), 1183–1191. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.12.009>
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M. H., & Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034>
- Zhang kefei, Z. K., Ma Qing, M. Q., & Zhang huanliang, Z. H. (1997). Effect of water deficit on physiological activities of paddy rice and upland rice seedlings. *Journal of Agricultural Science*, 42(2), 381-392. <https://doi.org/10.5555/19980703940>.
- Zhang, H., Wang, L., Deroles, S., Bennett, R., & Davies, K. (2006). New insight into the structures and formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. *BMC Plant Biology*, 6(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-29>
- Zhang, H., Wang, L., Deroles, S., Bennett, R., & Davies, K. (2006b). New insight into the structures and formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. *BMC Plant Biology*, 6(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-29>
- Zhao, B., Wang, L., Pang, S., Jia, Z., Wang, L., Li, W., & Jin, B. (2020). UV-B promotes flavonoid synthesis in Ginkgo biloba leaves. *Industrial Crops and Products*, 151, 112483. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112483>

10 Životopis

Rođena sam 19. studenog 2002. godine u Zagrebu, a osnovnu školu Šestine završavam 2017. godine. Nakon što sam 2021. godine maturirala u Gimnaziji Tituša Brezovačkog, upisujem preddiplomski studij Biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. U travnju 2022. godine učlanjujem se u Udrugu studenata Biologije – BIUS unutar koje postajem urednica studentskog časopisa *In Vivo*. Od prosinca iste godine obnašam dužnost studentskog predstavnika u Vijeću Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu te sudjelujem na događaju *Dan i noć na PMF-u* gdje predstavljam časopis *In Vivo*. Osim toga, sudjelujem na Velikim terenima u Istri, Hrvatskom zagorju i Karinu koje organizira Udruga studenata Biologije te odlazim na radionicu *Molekularna filogenija i evolucija* koja je bila provedena kao rezultat projekta između Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu i Johannes Gutenberg fakulteta u Mainzu. Sredinom 2024. godine započinjem obavljanje laboratorijske stručne prakse u sklopu HRZZ projekta TEMPHYS na Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.