

Mehanizmi tolerancije isušivanja u biljaka iz porodice Gesneriaceae

Vuković, Toni

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:217:365828>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**MEHANIZMI TOLERANCIJE ISUŠIVANJA U BILJAKA IZ
PORODICE GESNERIACEAE**

**MECHANISMS OF DRAUGHT TOLERANCE IN PLANTS
FROM GESNERIACEAE FAMILY**

SEMINARSKI RAD

Toni Vuković

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

Zagreb, 2020.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Mehanizmi tolerancije isušivanja.....	3
2.1 Učinak nedostatka vode na biljke	3
2.2 Modelne biljke u istraživanju učinka i tolerancije isušivanja.....	3
2.3 Morfološke promjene listova i strukturne promjene stanične stijenke	6
2.4 Zaštita fotosintetskog aparata.....	7
2.5 Obrambene molekule u uvjetima dehidracije	8
2.5.1 Šećeri.....	8
2.5.2 Obrambeni proteini	9
2.5.3 Antioksidansi i enzimi za uklanjanje ROS	11
2.6 Molekularni mehanizmi tolerancije isušivanja	12
3. Zaključak	14
4. Literatura	16
5. Sažetak.....	24
6. Summary.....	24

POPIS KRATICA

ABA – abscizinska kiselina

APX – askorbat peroksidaza

AsA – askorbat

DT – tolerancija isušivanja

EGTA – etilen glikol tetraoctena kiselina

GR – glutathion reduktaza

GSH – glutathion

HDT – homoioklorofilne biljke

HSP – proteini toplotnog šoka

LEA – proteini kasne embriogeneze

LHCII – kompleksi pigmenata i proteina (“antene”) vezani uz fotosistem II

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

PDT – poikiloklorofilne biljke

POD – peroksidaza

ROS – reaktivni oblici kisika

RWC – relativni sadržaj vode

SA – salicilna kiselina

SOD – superoksid dismutaza

sHsp – mali proteini toplotnog šoka

1. Uvod

Biljke su zbog široke rasprostranjenosti i sesilnog načina života često izložene uvjetima manjka vode koji mogu dovesti do smanjenog sadržaja vode u biljnim tkivima ili potpunog isušivanja. Voda ima puno bitnih i različitih uloga u biljci. Uključena je u metaboličke reakcije kao reaktant i produkt, ona je medij u kojem se odvijaju stanični procesi i reakcije te je zbog svojstva polarnosti zaslužna za oblikovanje makromolekula i membrana (Rodriguez-Iturbe et al., 2001). Uvjeti smanjenog sadržaja vode u biljnim tkivima posljedica su umjerenog gubitka vode koji dovodi do zatvaranja puči i ograničavanja izmjene plinova. Isušivanje tkiva posljedica je ekstremnijeg gubitka vode koji potencijalno dovodi do narušavanja metabolizma i stanične strukture te može dovesti do zaustavljanja enzimskih reakcija (Smirnoff, 1993). Za preživljavanje i prevladavanje takvih stresnih uvjeta biljke su tijekom evolucijskog razvoja stekle brojne prilagodbe koje umanjuju i sprječavaju štetne učinke. Većina biljaka može prevladati sušne uvjete kratki vremenski period pomoću fizioloških i morfoloških promjena koje dovode do smanjenja gubitka vode, ali ukoliko relativni sadržaj vode (RWC) padne ispod 40% doći će do izrazitog staničnog oštećenja te oporavak neće biti moguć (Mitra et al., 2013). Tolerancija isušivanja je rijetka pojava, samo mala grupa biljaka nazvana uskrsnule biljke (engl. resurrection plants) mogu podnijeti gubitak RWC od čak 90% te se brzo oporaviti nakon rehidracije (Dinakar et al., 2012; Moore et al., 2009).

Oko 300 biljnih vrsta može podnijeti ozbiljno isušivanje te su pretežno rasprostranjene na južnoj polutki dok jedine uskrsnule kritosjemenjače pronađene u Europi i Aziji pripadaju istoj porodici – Gesneriaceae (Alpert, 2006; Gaff i Oliver, 2013; Djilianov et al., 2013). Uskrsnule vrste porodice Gesneriaceae koje se nalaze u Europi su *Haberlea rhodopensis*, *Ramonda myconii* i *Ramonda serbica*, dok se u Aziji nalaze vrste *Boea hygrometrica*, *B. clarkeana*, *B. crassifolia* i *Paraboea rufescens*. Europske i azijske uskrsnule biljke porodice Gesneriaceae žive u sličnim uvjetima, na sjenovitim padinama u kamenitim područjima i u tlu bogatom kalcijem gdje dolazi do brze i snažne dehidracije (Rakić et al., 2015; Mitra et al., 2013; Wang et al., 2018; Liu et al., 2019). Oliver et al. (2000) je predložio da je tolerancija isušivanja ancestralno stanje koje je bilo prisutno u prvih kopnenih biljaka te se izgubilo relativno rano u evoluciji vaskularnih biljaka. Mehanizam tolerancije isušivanja prisutan u sjemenkama evoluirao je iz tolerancije isušivanja prvih kopnenih biljaka. Smatraju da je tolerancija isušivanja u današnjim kritosjemenjačama reevoluirala neovisno barem osam puta iz mehanizma tolerancije isušivanja sjemenki.

Prilikom isušavanja dolazi do mehaničkog oštećenja stanice, narušavanja strukture membrana, oksidativnog stresa te prekida metabolizma što biljkama predstavlja dodatni problem prilikom preživljavanja isušivanja (Vicré et al., 2004). Zbog promjenjivih uvjeta i povremene nedostupnosti vode, biljke iz porodice Gesneriaceae su razvile niz mehanizama za toleranciju potpunog isušivanja. Mehanizmi tolerancije isušivanja u uskrsnulim biljkama porodice Gesneriaceae mogu biti zajednički za sve vrste ili specifični za pojedine vrste (Mitra et al., 2013; Liu et al., 2019). Tolerancija isušivanja je kompleksan proces koji uključuje kombinaciju metabolizma, promjene na razini genske ekspresije i antioksidacijskih sustava te procese koji su zaslužni za strukturnu i makromolekulsku stabilnost (Moore et al., 2009). Mehanizmi tolerancije isušivanja uključuju strukturne procese poput savijanja listova i povećanja gustoće dlačica, fiziološke poput nakupljanja raznih metabolita i genetske poput promjene genske ekspresije.

Tolerancija isušivanja svojstvena je relativno malom broju biljaka te je stoga izuzetno zanimljivo i važno istraživati koji mehanizmi omogućuju uskrsnulim biljkama tako uspješnu toleranciju isušivanja. Ta saznanja mogla bi se koristiti npr. u stvaranju novih sorti biljaka koje će biti otpornije na uvjete nedostatka vode.

2. Mehanizmi tolerancije isušivanja

2.1 Učinak nedostatka vode na biljke

Okolišni stresni čimbenici pogotovo nedostatak vode utječu na rasprostranjenost biljaka i poljoprivrednu proizvodnju. Uvjeti manjka vode podrazumijevaju umjereni gubitak vode dok se uvjeti nedostatka vode odnose na situaciju u kojoj dolazi do potpunog isušivanja biljaka. Uvjeti manjka vode obuhvaćaju smanjenje sadržaja vode te time i pad vrijednosti turgora i ukupnog vodenog potencijala, zatvaranje puči i smanjeni rast stanica. Uvjeti nedostatka vode koji dovode do potpunog isušivanja karakterizirani su zaustavljanjem procesa fotosinteze, poremećajem metabolizma i u konačnici rezultiraju uginućem biljke (Smirnoff et al, 1993; Shao et al., 2008). Biljke otporne na isušivanje su poikilohidrične što znači da nemaju mehanizme za sprječavanje isušivanja nego tijekom smanjenja RWC od 80 do 95% tijekom duljih ili kraćih vremenskih perioda se potpuno isuše, pređu u stanje mirovanja i kad voda postane dostupna se rehidriraju. Biljke koje imaju svojstvo tolerancije isušivanja (DT) mogu se podijeliti na homoioklorofilne (HDT) i poikiloklorofilne (PDT). One koriste različite strategije za preživljavanje uvjeta nedostatka vode. HDT biljke zadržavaju svoj klorofil i tilakoidne membrane tijekom isušivanja dok u PDT biljaka dolazi do oštećenja klorofila i tilakoidnog sustava ali imaju jedinstven tip kloroplasta, tzv. desikoplaste, koji se mogu razgraditi i ponovno rekonstruirati klorofil i tilakoidne membrane (Tuba i Lichtenthaler, 2011).

2.2 Modelne biljke u istraživanju učinka i tolerancije isušivanja

Razumijevanje mehanizama tolerancije uskrasnulih biljaka na isušivanje je važno za identifikaciju svojstava koja mogu pomoći u razvoju usjeva otpornih na sušne uvjete. Modelne biljke su biljne vrste koje su intenzivno proučavane zbog njihove jednostavnosti ili njihovog značaja u biotehnologiji ili poljoprivredi. Najpoznatija modelna biljka je uročnjak *Arabidopsis thaliana* koja je pogodna za istraživanja zbog male veličine genoma, kratkog životnog ciklusa, velike količine proizvedenih sjemenki i jednostavnog uzgoja u laboratorijskim uvjetima (Meinke et al., 1998). Najčešće korištene biljke u istraživanju tolerancije isušivanja su *Boea hygrometrica*, *Haberlea rhodopensis* i *Craterostigma plantagineum*. Otpornost na isušivanje je rasprostranjeno u carstvu mikroba, gljiva, biljaka i životinja (Alpert, 2006; Farrant et al., 2007). Mehanizmi tolerancije isušivanja u biljnom carstvu prisutni su od „nižih“ uskrasnulih biljaka

poput algi i mahovina do kritosjemenjača, ali tolerancija isušivanja nije uočena kod golosjemenjača (Gaff, 1971; Oliver 1996). Vrste *B. hygrometrica* i *H. rhodopensis* nalaze se na slici 1. Tablica 1. prikazuje popis različitih uskrsnulih biljaka koje su korištene u istraživanjima učinka i mehanizma tolerancije isušivanja. Izvanredna sposobnost vrste *B. hygrometrica* je da jedan odvojeni list posjeduje jednaku sposobnost tolerancije isušivanja kao i cijela biljka (Jiang et al., 2007). Odvojeni listovi su korisni za istraživanje tolerancije isušivanja jer predstavljaju pojednostavljeni sustav koji je lagan za uzgoj, odnosno nisu pod utjecajem razvojnih signala i signala iz drugih organa tijekom isušivanja i rehidracije (Jiang et al., 2007).

Biljke otporne na isušivanje nalaze se u ekološkim nišama s ograničenom dostupnošću vode i nejednolikom raspodjelom padalina tijekom sezone rasta te u tlu sa minimalnom sposobnošću zadržavanja vode. Nalaze se na svim kontinentima preferencijalno na kamenitim ležištima s visokom koncentracijom kalcija na umjerenim nadmorskim visinama u tropskim ili subtropskim zonama (Porembski i Barthlott, 2000).



Slika 1. Biljke *Boea hygrometrica* i *Haberlea rhodopensis* u prirodnom staništu (Preuzeto s <http://www.bydsd.com/a/shengwuziyuan/zhiwuziyuan/20180807/537.html> i <https://www.edrom-nurseries.co.uk/shop/pc/Haberlea-rhodopensis-p7675.htm>)

Tablica 1. Popis najčešćih uskrsnulih vrsta korištenih u istraživanjima mehanizma tolerancije isušivanja (Preuzeto i prilagođeno prema Dinakar et al., 2012)

Naziv	Porodica	Klasa	Porijeklo	Homoiklorofilne (HDT) ili poiklorofilne (PDT)	Literatura
Craterostigma plantagineum	Scrophulariaceae	Dvosupnica	Južna Afrika	HDT	Rodriguez et al., 2010
Craterostigma wilmsii	Scrophulariaceae	Dvosupnica	Južna Afrika	HDT	Cooper i Farrant, 2002
Lindernia brevidens	Linderniaceae	Dvosupnica	Istočna Afrika	HDT	Phillips et al., 2008
Myrothanus flabellifolia	Myrothamnaceae	Dvosupnica	Južna Afrika	HDT	Kraner et al., 2002
Boea hygrometrica	Gesneriaceae	Dvosupnica	Kina	HDT	Jiang et al., 2007
Paraboea rufescens	Gesneriaceae	Dvosupnica	Kina	HDT	Gao et al., 2006
Haberlea rhodopensis	Gesneriaceae	Dvosupnica	Bugarska i Srbija	HDT	Georgieva et al., 2009
Ramonda serbica	Gesneriaceae	Dvosupnica	Srbija	HDT	Rakić et al., 2015
Ramonda myconii	Gesneriaceae	Dvosupnica	Španjolska	HDT	Picó i Riba, 2002
Xerophyta viscosa	Velloziaceae	Jednosupnica	Južna Afrika	PDT	Ingle et al., 2007
Xerophyta humilis	Velloziaceae	Jednosupnica	Južna Afrika	PDT	Collett et al., 2003
Sporobolus stapfianus	Poaceae	Jednosupnica	Južna Afrika	-	Martinelli, 2008
Eragrostis nindensis	Poaceae	Jednosupnica	Južna Afrika	PDT	Vander Willigen et al., 2003
Selaginella bryopteris	Selaginellaceae	Papratnjača	Indija	HDT	Pandey et al., 2010
Selaginella lepidophylla	Selaginellaceae	Papratnjača	Južna i Sjeverna Amerika	HDT	Brighigna et al., 2002
Tortula ruralis	Pottiaceae	Mahovina	Sjeverna Amerika	HDT	Oliver et al., 2004

2.3 Morfološke promjene listova i strukturne promjene stanične stijenke

Otkriveno je da u uvjetima nedostatka vode u biljaka porodice Gesneriaceae dolazi do adaptivnih promjena u strukturi lista i stanične stijenke (Mitra et al., 2013). U uskrsnulim biljkama tijekom perioda nedostatka vode dolazi do uvijanja lista te do povećanja broja epidermalnih dlačica na abaksijalnoj strani što se smatra obrambenom strategijom protiv djelovanja svjetlosti visokog intenziteta koja može uzrokovati fotoinhibiciju i povećanu stopu stvaranja reaktivnih kisikovih oblika (ROS) (Farrant i Moore, 2011). Normalna arhitektura lista uspostavlja se nakon rehidracije, a sam proces morfološke promjene lista povezan je sa strukturnim promjenama stanične stijenke, tj. nejednoliko savijanje stanične stijenke i skupljanje stanica omogućava reverzibilno savijanje listova (Jones i McQueen-Mason, 2004; Moore et al., 2006). Na slici 2. vidljiva je uskrsnula biljka *Myrothamnus flabellifolius* u uvjetima isušivanja i u normalnim uvjetima. Gubitak vode ima stresni učinak na arhitekturu biljne stanične stijenke što dovodi do promjena sastava polisaharida i proteina stanične stijenke (Vicre et al., 2004; Moore et al., 2008; Wang et al., 2009a). U uvjetima manjka vode stanična stijenka ostaje fleksibilna te se savija što pomaže u smanjenju stupnja plazmolize (Jones i McQueen-Mason, 2004; Moore et al., 2008). Također je potrebno naglasiti da je savijanjem stanične stijenke šteta na plazmatskoj membrani minimalizirana te je očuvan integritet staničnih struktura i komunikacija među stanicama putem plazmodezmija (Jones i McQueen-Mason, 2004). U vrsti *B. hygrometrica* razina proteina stanične stijenke i lignina je bila smanjena. Razlog tome je i dalje nepoznat (Wang et al., 2009a). Istraživanjem gena čiji se genski produkt nalazi u izvanstaničnom matriksu (BhGRP1) koji kodira za proteine bogate glicinom koji se nalaze u sastavu stanične stijenke, dokazano je da taj protein sudjeluje u sintezi lignina i održavanju redoks statusa stanične stijenke. Također, vjeruje se da taj protein ima ulogu u održavanju stanične stijenke tijekom dehidracije te pomaže pri popravku nakon rehidracije (Wang et al., 2009a; Ringli et al., 2001). Proteini, osim u održavanju stanične stijenke, imaju razne druge uloge u toleranciji isušivanja kod uskrsnulih biljaka što će biti objašnjeno u tekstu koji slijedi.



Slika 2. Uskrsnula biljka *Myrothamnus flabellifolius* u uvjetima nedostatka vode (A) i u uvjetima dovoljne količine vode (B). Slika je preuzeta iz Moore et al. (2006).

2.4 Zaštita fotosintetskog aparata

Fotosinteza je vrlo važan i složen proces u biljkama, u kojem se svjetlosna energija koristi za sintezu organskih spojeva. Proces fotosinteze ozbiljno je poremećen uvjetima manjka vode (Massacci et al., 1996). U uvjetima nedostatka vode fotosinteza je potpuno inhibirana kod uskrsnulih biljaka porodice Gesneriaceae, ali u odnosu na biljke koje nemaju sposobnost tolerancije isušivanja, proces fotosinteze se ponovno uspostavlja ubrzo nakon rehidracije (Dinakar et al., 2012). U homoioklorofilnim vrstama (HDT) *B. hygrometrica* i *H. rhodopensis* (Slika 1.) otkriveno je da tijekom isušivanja mogu održati strukturu fotosintetskog aparata, održati komplekse pigmenata i proteina u tilakoidima stabilnim te sačuvati glavnu količinu klorofila (Deng et al., 2003; Georgieva et al., 2009). Nadalje, istraživanja transkriptoma i proteina tijekom isušivanja pokazala su da je značajno smanjena ekspresija gena koji kodiraju podjedinice fotosustava I i II, kompleksa antena vezanih uz fotosustav I i II te citokroma *b₆f* dok je ekspresija brojnih gena važnih za proces fotosinteze, poput gena za feredoksin i NADPH-plastokinon oksidoreduktazu, povećana kako bi se fotosintetski sustav zaštitio od isušivanja (Jiang et al., 2007; Xiao et al., 2015; Liu et al., 2018). U biljaka porodice Gesneriaceae dokazano je da je povećana ekspresija ranih gena induciranih svjetlom (ELIPs) kao odgovor na isušivanje. Produkti tih gena omogućavaju obranu fotosintetskog aparata od oksidativnog oštećenja sprječavajući akumulaciju slobodnog klorofila odnosno održavajući komplekse klorofila i proteina (Gechev et al., 2013; Xiao et al., 2015). Očuvani klorofili, struktura tilakoidnih membrana i fotosistema pridonose brzom ponovnom uspostavljanju fotosinteze nakon rehidracije, ali naravno potrebni su i drugi mehanizmi za stabilizaciju navedenih

makromolekula i za obranu od stresa uzrokovanog nakupljanjem reaktivnih oblika kisika (ROS) koji mogu prouzročiti daljnja oštećenja (Farrant i Moore, 2011). U vrsti *B. hygrometrica* tijekom isušivanja izmjerena je povišena razina karotenoida koji imaju obrambenu ulogu u uvjetima visokog intenziteta svjetlosti, a pomažu i u održavanju stope fotosinteze (Deng et al., 2003). Također je otkriveno da dva proteina LEA koji su lokalizirani u kloroplastima i inducirani isušivanjem sudjeluju u toleranciji isušivanja tako da stabiliziraju proteine koji sudjeluju u fotosintezi (Liu et al., 2009). Bitnu ulogu u toleranciji isušivanja u biljaka iz porodice Gesneriaceae imaju i drugi proteini.

2.5 Obrambene molekule u uvjetima dehidracije

Brojni enzimi, osmoliti i druge obrambene makromolekule nakupljaju se u visokoj koncentraciji tijekom dehidracije kod biljaka otpornih na isušivanje. Nakupljanje ovih molekula je bitan mehanizam u stjecanju tolerancije isušivanja zbog toga što sprječavaju nastajanje prevelike količine ROS i štite membranu i proteine formirajući tzv. „glassy stanje“ u kojem je stopa metabolizma smanjena (Martinelli, 2008; Oliver et al., 2000; Bartels i Hussain, 2011). Pri prelasku citoplazme u „glassy stanje“ tijekom uvjeta manjka vode dolazi do povećanja njezine viskoznosti zbog nakupljanja proteina i šećera koji stupaju u interakciju s komponentama citoplazme poput soli, orgnaskih kiselina i aminokiselina (Buitink i Leprince, 2004). Naime nakupljeni proteini, nereducirajući šećeri poput trehaloze i ostali kompatibilni osmoliti formiraju vodikove veze s makromolekulama te tako na neki način nadomještaju vodu i stabiliziraju takve strukture. Prema drugoj teoriji hidrofilne molekule prelaze u „glassy stanje“ tijekom isušivanja i tako imobiliziraju makromolekule, sprječavajući njihovu denaturaciju (Klok, 2010).

2.5.1 Šećeri

Jedan od glavnih osmolita koji se u uvjetima manjka vode nakuplja u visokoj koncentraciji u biljkama koje imaju sposobnost DT je saharoza. Ona ima ulogu osmoprotektanta odnosno stabilizira i štiti biološke membrane. Također, smatra se da saharoza ima ulogu signalne molekule u regulaciji koncentracije ugljikohidrata, metabolizma i procesa rasta i (Martinelli, 2008). Tijekom duljih razdoblja dehidracije, kad je proces fotosinteze prekinut, škrob se koristi kao izvor za dobivanje saharoze (Noorwood et al., 2000). Osim saharoze, rafinoza i trehaloza

se nakupljaju u visokim koncentracijama u biljkama porodice Gesneriaceae tijekom isušivanja, stvaraju vodikove veze s makromolekulama te tako služe kao zamjenske molekule za vodu. (Ghasempour et al., 1998; Farrant et al., 2007). Rafinoza kod vrsta *Ramonda nathaliae*, *Ramonda myconi* i *Haberlea rhodopensis* može spriječiti kristalizaciju saharoze (Müller et al., 1997) dok rafinoza sintetizirana iz galaktinola i saharoze pomoću rafinoza sintaze štiti od štete uzrokovane ROS (Nishizawa et al., 2008). U uskrsnulim biljkama poput *Boea hygrometrica* koncentracija galaktinola i rafinoze se povećala na najvišu razinu odmah na početku dehidracije te je ostala na toj razini dok se kod vrste *Arabidopsis thaliana* u uvjetima nedostatka vode galaktinol nakupljao do visoke koncentracije postepeno, tijekom 14 dana (Peters et al., 2007). Ova opažanja upućuju na to da galaktinol ne pridonosi obrani od osmotskog stresa u potpuno isušanim listovima. U DT biljci *Haberlea rhodopensis* rafinoza i saharoza se nakupljaju tek kad se RWC lista smanji na 25% ili nižu vrijednost (Djilianov et al., 2011). Predloženo je da je visoka koncentracija rafinoze i saharoze kod vrste *H. rhodopensis* bitna za uspostavljanje fenotipa tipičnog za uskrsnule biljke (Djilianov et al., 2011). Prema tome vidljivo je da dinamika nakupljanja rafinoze varira u vrstama porodice Gesneriaceae, ali visoka koncentracija rafinoze u ranim fazama dehidracije je zajednička vrstama *B. hygrometrica* i *H. rhodopensis*. Također, održavanje stalne visoke koncentracije saharoze i rafinoze je jedna od prilagodbi ovih vrsta koja im omogućava preživljavanje nagle dehidracije.

2.5.2 Obrambeni proteini

Uvjeti isušivanja utječu na funkciju i vijabilnost stanice narušavajući makromolekularne strukture, preciznije narušavajući membrane i proteine. Dvije glavne vrste obrambenih proteina su proteini kasne embriogeneze (late embryogenesis abundant - LEA) i proteini toplotnog šoka (heat shock proteins - HSP). Obje spomenute vrste proteina su izrazito hidrofilne pa prema tome pripadaju skupini koja se naziva hidrofili (Battaglia et al., 2008). Hidrofili imaju sposobnost obrane makromolekula i proteina od dehidracije stvarajući hidratacijski plašt oko ciljnih molekula (Mitra et al., 2013). Proteini LEA se nakupljaju kao odgovor na manjak vode, visoke koncentracije soli i niske temperature (Shao et al., 2008; Tunnacliffe et al., 2010), a proizvode se u vegetativnom tkivu i otpornih i osjetljivih biljaka na isušivanje te u sjemenkama (Battaglia et al., 2008). Sudjeluju u stabilizaciji proteina, nukleinskih kiselina i staničnih membrana, pomažu u smanjenju razine ROS te zajedno sa šećerima pridonose uspostavljanju glassy stanja (Tunnacliffe et al., 2010). U mnogim uskrsnulim vrstama porodice Gesneriaceae dokazano je da

su geni koji kodiraju proteine LEA inducirani tijekom isušivanja (Liu et al., 2009; Rodriguez et al., 2010; Liu et al., 2018). Brojni proteini poput citrat sintaze (CS) i laktat dehidrogenaze (LDH) stvaraju agregate u uvjetima nedostatka vode, ali agregacija navedenih proteina je znatno smanjena u prisutnosti proteina LEA (Goyal et al., 2005). Proteini LEA također sudjeluju u obrani membrana kako bi se očuvao integritet stanice i organela u uvjetima nedostatka vode. Vjeruje se da proteini LEA sudjeluju u obrani membrana slično kao i šećeri, odnosno da tvore vodikove veze s polarnim glavama fosfolipida te tako sprječavaju prijelaz u gel-fazu (Tunnacliffe et al., 2010). Na osnovi homologije aminokiselinskih sekvenci i specifičnih strukturnih karakteristika, proteini LEA podijeljeni su u nekoliko grupa, ali za sad samo su dva gena grupe 4 LEA proteina klonirana iz vrste *B. hygrometrica* (Liu et al., 2009). Povećana ekspresija kloniranih gena BhLEA1 i BhLEA2 u transgeničnom duhanu rezultirala je izrazitom otpornošću duhana na uvjete nedostatka vode. Transgenični duhan u uvjetima nedostatka vode ima veću stopu fotosinteze i povećani integritet membrane te je povećana koncentracija enzima za uklanjanje ROS poput superoksid dismutaze (SOD) i peroksidaze (POD) (Liu et al., 2009). Također, kod transgeničnih biljaka s povećanom ekspresijom gena BhLEA1 u uvjetima nedostatka vode proteini u membranama kloroplasta, poput LHCII, su bili stabilni (Liu et al., 2009).

HSP su obitelj proteina koji se eksprimiraju u visokoj koncentraciji tijekom stresnih uvjeta poput hladnoće, UV svjetlosti, povišene temperature ili nedostatka vode (Matz et al., 1995). Raspoređeni su u skupine prema molekularnoj masi. U veće proteine ubrajaju se Hsp70 i Hsp90, a u manje sHsp koji se sastoje od oko 80 aminokiselina. Velik broj proteina ove skupine uključujući sHsp se ponašaju kao šaperoni što znači da stabiliziraju novosintetizirane proteine kako bi poprimili pravilnu trodimenzionalnu strukturu ili pomažu ponovnom smatanju proteina koji su se oštetili tijekom stresnih uvjeta (De Maio, 1999; Garrido et al., 2012). Šest kloniranih gena iz *B. hygrometrica* koji kodiraju za sHsp koji stabiliziraju proteine citosola, su inducirani tijekom uvjeta nedostatka vode te su ostali eksprimirani nakon rehidracije (Zhang et al., 2013). Utvrđeno je da uvjeti nedostatka vode negativno utječu na smatanje proteina pa je bitna uloga sHsp stabilizacija proteina citosola.

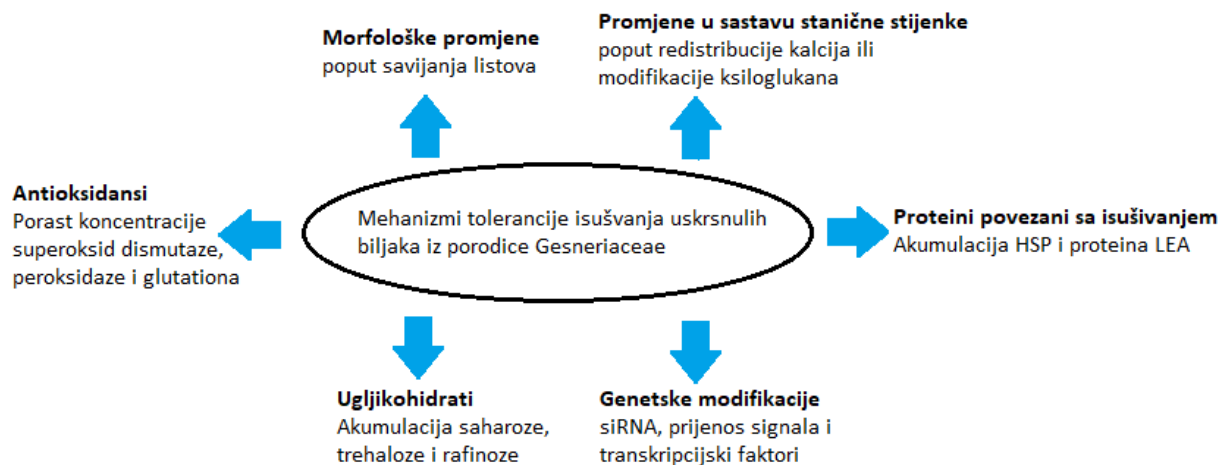
2.5.3 Antioksidansi i enzimi za uklanjanje ROS

Većina stresnih čimbenika poput visoke koncentracije soli, nedostatka vode, visokog intenziteta svjetlosti ili napada patogena uzrokuje povećano stvaranje ROS (Mittler et al., 2011). Obrambeni sustav koji uklanja ROS u biljkama sastoji se od neenzimskih i enzimskih komponenti koje se nalaze u različitim organelima poput kloroplasta, mitohondrija i peroksisoma (Pang i Wang, 2008). Neenzimske komponente uključuju stanične molekule poput askorbata (AsA) i glutationa (GSH) te tokoferol (vitamin E), karotenoide i fenolne spojeve (Mittler, 2002). Ovi spojevi zajedno s dodatnim staničnim komponentama utječu na razne procese, od mitoze i elongacije stanica do senescencije i stanične smrti (De Pinto i De Gara, 2004). Fenolni spojevi zajedno s flavonoidima su vrlo bitni kod uskrsnulih biljaka tijekom uvjeta nedostatka vode jer se ponašaju kao “krema za sunčanje“ pomoću koje se štiti fotosintetski aparat, osobito ako je prisutan i previsoki intenzitet svjetlosti, i sprječava stvaranje ROS (Moyankova et al., 2014; Kranner et al., 2002). Enzimatske komponente sastoje se od nekoliko antioksidacijskih enzima kao što su superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), guaiakol peroksidaza (GPX), askorbat peroksidaza (APX) i glutation reduktaza (GR) (Das i Roychoudhury, 2014). U vegetativnom tkivu vrsta *Craterostigma wilmsii* i *Xerophyta viscosa* je u uvjetima nedostatka vode i rehidracije izmjerena povećana ekspresija gena koji kodiraju enzimske antioksidanse, poput APX, GR i SOD (Ingram i Bartels, 1996; Sherwin i Farrant, 1998). U uskrsnuloj biljci *X. viscosa* otkriven je novi antioksidacijski enzim koji se inducira u stresnim uvjetima - XvPer1. Smatra se da ima ulogu u obrani nukleinskih kiselina u jezgri tijekom stresnih uvjeta (Mowla et al., 2002). U vrsti *B. hygrometrica* je u uvjetima nedostatka vode povećana količina GSH i aktivnost enzima za uklanjanje ROS poput polifenol oksidaze (Jiang et al., 2007). U biljci *H. rhodopensis* je u uvjetima nedostatka vode izmjerena nekoliko puta veća koncentracija ukupnih fenola, saharoze i nekih drugih spojeva (Moyankova et al., 2014). Otkriveno je da polifenoli štite membrane kloroplasta u uvjetima nedostatka vode i rehidracije tako da ublažavaju štetu uzrokovanu od strane ROS i pomažu u ponovnom uspostavljanju fotosinteze kada se biljka oporavi od stresnih uvjeta (Georgieva et al., 2010).

2.6 Molekularni mehanizmi tolerancije isušivanja

Molekularni mehanizmi DT u uskrsnulih biljaka istražuju se od 1990-tih (Bartels et al., 1990) te su klonirani brojni geni koji se induciraju tijekom isušivanja (Ingram i Bartels, 1996; Farrant et al., 2007; Farrant i Moore, 2011; Gechev et al., 2013; Gaff i Oliver, 2013). Istraživanja su razotkrila opći regulacijski modul u kojemu transkripcijski faktori kontroliraju ekspresiju gena induciranih isušivanjem. Biljke na uvjete nedostatka vode odgovaraju odmah različitim fiziološkim mehanizmima poput naglog povećanja koncentracije ABA koja je bitna u ABA-ovisnim signalnim putevima. Otkriveni su i ABA-ovisni i ABA-neovisni signalni putevi u aktivaciji ekspresije gena za toleranciju isušivanja. Za gene koji kodiraju obrambene proteine poput aldehid dehidrogenaza, HSP i proteina LEA se smatra da su regulirani ABA-ovisnim signalnim putevima (Wu et al., 2011). U vrsti *B. hygrometrica* geni za sintezu galaktinola (BhGoLS1) i rafinoze (BhRFS) su inducirani pomoću ABA što znači da se aktiviraju ABA-ovisnim signalnim putevima. Aktivacija BhGoLS1 je postignuta regulacijom ABA-ovisnih WRKY transkripcijskih faktora koji se vežu za W-kutiju u promotorskoj regiji BhGoLS1 i potiču ekspresiju gena (Wang et al., 2009b). Istraživanje na drugoj DT vrsti iz porodice Gesneriaceae, *H. rhodopensis* otkrilo je sudjelovanje jasmonske (JA) i salicilne kiseline (SA) te auksina i citokinina u odgovoru na isušivanje (Djilianov et al., 2013). Istraživanja na vrsti *H. rhodopensis* su pokazala da su JA i ABA zajedno zaslužne za stvaranje okidajućeg signala za odgovor na isušivanje. (Georgieva et al., 2012; Djilianov et al., 2013). Također, visoka koncentracija SA, nakupljanje etilena te dinamičke promjene u koncentraciji auksin i citokinina aktivno sudjeluju u odgovoru na isušivanje (Liu et al., 2018). U vrsti *B. hygrometrica* dokazano je međudjelovanje ABA i kalcija u regulaciji ekspresije gena induciranih isušivanjem, točnije kalcij regulira ekspresiju gena BhC2DP1 induciranog isušivanjem (Zhang et al., 2012). Gen BhC2DP1 kodira mali protein s jednom C2-domenom koja je sposobna vezati Ca^{2+} . Konstitutivna ekspresija tog gena u biljci *A. thaliana* rezultirala je ABA-hiperosjetljivim fenotipom koji se mogao „spasiti“ dodatkom helatora Ca^{2+} poput EGTA. Transkripcija gena BhC2DP1 je inhibirana s ABA i EGTA, ali je potaknuta kada se ABA i EGTA primijene zajedno. Ovi rezultati upućuju na to da je transkripcijska regulacija gena BhC2DP1 pomoću ABA ovisna o Ca^{2+} (Mitra et al., 2013). Kalcij je esencijalni makronutrijent koji ima ključne strukturne i signalne uloge te se u velikoj količini nalazi u tlu na kojima žive uskrsnule biljke (Ji et al., 2009). U uskrsnuloj vrsti *C. plantagineum* otkriven je novi regulator u mehanizmu tolerancije od isušivanja pod nazivom retroelement. Nekoliko istraživanja otkrilo je da gen CDT-1 koji je ABA-inducibilni retroelement usmjerava sintezu dvolančane 21pb male

interferirajuće RNA (siRNA) koja utječe na aktivaciju i represiju gena za obranu od isušivanja (Hilbricht et al., 2008). Još jedan tip regulacije mehanizama isušivanja zasniva se na modifikacija kromatina, točnije histonskim modifikacijama povezanim s tolerancijom isušivanja (Kim et al., 2010). Povećanje H3K4 trimetilacije i H3K9 acetilacije u vrsti *A. thaliana* povezana je s ekspresijom gena odgovornih za obranu od stresa u uvjetima nedostatka vode (Chinnusamy i Zhu, 2009). H3K4me3 modifikacija histona posreduje u brznoj indukciji gena u ponovljenoj dehidraciji što je znak memorije stresa u biljaka (Ding et al., 2012). Mehanizmi tolerancije isušivanja mogli bi se dublje proučiti, ali trenutna genetička istraživanja su ograničena nemogućnošću transformacije određenih uskrsnulih vrsta poput *B. hygrometrica* i nedostatku informacija o sekvencama genoma tih vrsta (Zhang et al., 2011). Pregled mehanizama tolerancije isušivanja kod uskrsnulih biljaka prikazan je na slici 3.



Slika 3. Pojednostavljeni prikaz mehanizama tolerancije isušivanja uskrsnulih biljaka iz porodice Gesneriaceae. (Preuzeto i prilagođeno prema Dinakar et al., 2012)

3. Zaključak

Zahvaljujući velikom broju, morfoloških, fizioloških te genetičkih obrambenih mehanizama uskrsnule vrste porodice Gesneriaceae mogu prevladati ekstremne uvjete nedostatka vode. Tijekom isušivanja dolazi do savijanja listova kako bi se biljka obranila od svjetlosti visokog intenziteta koja bi mogla uzrokovati stvaranje ROS u stanicama. Također, tijekom isušivanja dolazi do promjene sastava stanične stijenke kako bi se zaštitila stanična membrana i očuvala komunikacija među stanicama. U uvjetima nedostatka vode fotosinteza je kod uskrsnulih biljaka porodice Gesneriaceae inhibirana, ali proces fotosinteze se ponovno pokreće nakon rehidracije, za razliku od većine biljaka koje nemaju takvu prilagodbu. Tijekom perioda isušivanja uskrsnule biljke imaju dvije strategije za uspostavu fotosinteze nakon rehidracije. HDT biljke zadržavaju svoj klorofil i tilakoidne membrane tijekom perioda nedostatka vode dok PDT biljke mogu ponovno rekonstruirati klorofil i tilakoidne membrane kad nastupe povoljni uvjeti. Bitan mehanizam u stjecanju tolerancije isušivanja je nakupljanje saharoze u visokim koncentracijama koja stabilizira i štiti biološke membrane, a također ima ulogu signalne molekule. U toleranciji isušivanja dvije glavne vrste obrambenih proteina kod uskrsnulih biljaka porodice Gesneriaceae su proteini LEA i HSP. Proteini LEA tijekom isušivanja sudjeluju u stabilizaciji proteina, nukleinskih kiselina i staničnih membrana, pomažu u smanjenju razine ROS te sprječavaju agregaciju proteina dok HSP imaju ulogu šaperona odnosno stabiliziraju novosintetizirane proteine kako bi poprimili pravilnu trodimenzionalnu strukturu ili pomažu ponovnom smatanju proteina koji su se oštetili tijekom uvjeta nedostatka vode. Obrambeni sustav od ROS u uskrsnulim biljkama sastoji se od neenzimskih (AsA, GSH, tokoferol) i enzimskih (SOD, CAT, APX) komponenti koje se nalaze u različitim staničnim organelima. Biljke na uvjete nedostatka vode odgovaraju naglim povećanjem koncentracije ABA koja je bitna u ABA-ovisnim signalnim putevima u kojima transkripcijski faktori kontroliraju ekspresiju gena induciranih isušivanjem. Mehanizam tolerancije isušivanja je kompleksan proces koji obuhvaća kombinaciju strukturnih promjena, metabolizma, promjene na razini genske ekspresije i antioksidacijskih sustava u svrhu preživljavanja uvjeta nedostatka vode.

Iako su do sada provedena brojna istraživanja mehanizama tolerancije isušivanja u uskrsnulim biljkama koje se ubrajaju u različite porodice, brojna pitanja i dalje nisu u cijelosti odgovorena. Novi mehanizmi tolerancije isušivanja i dalje se otkrivaju, a neki od ranije poznatih se preispituju. U svakom slučaju potrebno je nastaviti istraživanja kako bi se u potpunosti

razjasnili mehanizmi tolerancije isušivanja. Saznanja o mehanizmima tolerancije nedostatka vode mogla bi se primijeniti u dobivanju poboljšanih sorti poljoprivrednih biljaka. Te sorte bile bi tolerantnije na uvjete nedostatka vode pa bi uzgoj bio moguć u područjima s periodičnom ili malom količinom padalina te bi se tako pridonijelo rješavanju problema nedostatka hrane u svijetu.

4. Literatura

- Alpert, P. (2006). Constraints of tolerance: why are desiccation-tolerant organisms so small or rare?. *Journal of Experimental Biology*, 209(9), 1575-1584.
- Bartels, D., & Hussain, S. S. (2011). Resurrection plants: physiology and molecular biology. U: Lüttge, U., Beck, E., & Bartels, D. (ur.) *Plant Desiccation Tolerance* Springer, Berlin, Heidelberg, str. 339-364.
- Bartels, D., Schneider, K., Terstappen, G., Piatkowski, D., & Salamini, F. (1990). Molecular cloning of abscisic acid-modulated genes which are induced during desiccation of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Planta*, 181(1), 27-34.
- Battaglia, M., Olvera-Carrillo, Y., Garcíarrubio, A., Campos, F., & Covarrubias, A. A. (2008). The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiology*, 148(1), 6-24.
- Brighigna, L., Bennici, A., Tani, C., & Tani, G. (2002). Structural and ultrastructural characterization of *Selaginella lepidophylla*, a desiccation-tolerant plant, during the rehydration process. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 197(2), 81-91.
- Buitink, J., & Leprince, O. (2004). Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. *Cryobiology*, 48(3), 215-228.
- Chinnusamy, V., & Zhu, J. K. (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(2), 133-139.
- Collett, H., Butowt, R., Smith, J., Farrant, J., & Illing, N. (2003). Photosynthetic genes are differentially transcribed during the dehydration-rehydration cycle in the resurrection plant, *Xerophyta humilis*. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2593-2595.
- Cooper, K., & Farrant, J. M. (2002). Recovery of the resurrection plant *Craterostigma wilmsii* from desiccation: protection versus repair. *Journal of Experimental Botany*, 53(375), 1805-1813.
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Deng, X., Hu, Z. A., Wang, H. X., Wen, X. G., & Kuang, T. Y. (2003). A comparison of photosynthetic apparatus of the detached leaves of the resurrection plant *Boea hygrometrica* with its non-tolerant relative *Chirita heterotrichia* in response to dehydration and rehydration. *Plant Science*, 165(4), 851-861.
- De Maio, A. (1999). Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock*, 11(1), 1-12.

- De Pinto, M. C., & De Gara, L. (2004). Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2559-2569.
- Dinakar, C., Djilianov, D., & Bartels, D. (2012). Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. *Plant Science*, 182, 29-41.
- Ding, Y., Fromm, M., & Avramova, Z. (2012). Multiple exposures to drought 'train' transcriptional responses in *Arabidopsis*. *Nature Communications*, 3(1), 1-9.
- Djilianov, D. L., Dobrev, P. I., Moyankova, D. P., Vankova, R., Georgieva, D. T., Gajdošová, S., & Motyka, V. (2013). Dynamics of endogenous phytohormones during desiccation and recovery of the resurrection plant species *Haberlea rhodopensis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(3), 564-574.
- Djilianov, D., Ivanov, S., Moyankova, D., Miteva, L., Kirova, E., Alexieva, V., Joudi, M., Peshev, D., & Van den Ende, W. (2011). Sugar ratios, glutathione redox status and phenols in the resurrection species *Haberlea rhodopensis* and the closely related non-resurrection species *Chirita eberhardtii*. *Plant Biology*, 13(5), 767-776.
- Farrant, J. M., & Moore, J. P. (2011). Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 340-345.
- Farrant, J. M., Brandt, W. B., & Lindsey, G. G. (2007). An overview of mechanisms of desiccation tolerance in selected angiosperm resurrection plants. *Plant Stress* 1(1), 72-84.
- Gaff, D. F., & Oliver, M. (2013). The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: a rare yet common phenomenon. *Functional Plant Biology*, 40(4), 315-328.
- Gaff, D. F. (1971). Desiccation-tolerant flowering plants in southern Africa. *Science*, 174(4013), 1033-1034.
- Gao, J. Y., Ren, P. Y., Yang, Z. H., & Li, Q. J. (2006). The pollination ecology of *Paraboea rufescens* (Gesneriaceae): a buzz-pollinated tropical herb with mirror-image flowers. *Annals of Botany*, 97(3), 371-376.
- Garrido, C., Paul, C., Seigneuric, R., & Kampinga, H. H. (2012). The small heat shock proteins family: the long forgotten chaperones. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44(10), 1588-1592.
- Gechev, T. S., Benina, M., Obata, T., Tohge, T., Sujeeth, N., Minkov, I., ... & Thomas-Oates, J. (2013). Molecular mechanisms of desiccation tolerance in the resurrection glacial relic *Haberlea rhodopensis*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(4), 689-709.

- Georgieva, T., Christov, N. K., & Djilianov, D. (2012). Identification of desiccation-regulated genes by cDNA-AFLP in *Haberlea rhodopensis*: a resurrection plant. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(3), 1055-1066. 28.
- Georgieva, K., Sárvári, É., & Keresztes, A. (2010). Protection of thylakoids against combined light and drought by a luminal substance in the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Annals of Botany*, 105(1), 117-126.
- Georgieva, K., Röding, A., & Büchel, C. (2009). Changes in some thylakoid membrane proteins and pigments upon desiccation of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Journal of Plant Physiology*, 166(14), 1520-1528.
- Ghasempour, H. R., Gaff, D. F., Williams, R. P. W., & Gianello, R. D. (1998). Contents of sugars in leaves of drying desiccation tolerant flowering plants, particularly grasses. *Plant Growth Regulation*, 24(3), 185-191.
- Goyal, K., Walton, L. J., & Tunnacliffe, A. (2005). LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochemical Journal*, 388(1), 151-157.
- Hilbricht, T., Varotto, S., Sgaramella, V., Bartels, D., Salamini, F., & Furini, A. (2008). Retrotransposons and siRNA have a role in the evolution of desiccation tolerance leading to resurrection of the plant *Craterostigma plantagineum*. *New Phytologist*, 179(3), 877-887.
- Ingle, R. A., Schmidt, U. G., Farrant, J. M., Thomson, J. A., & Mundree, S. G. (2007). Proteomic analysis of leaf proteins during dehydration of the resurrection plant *Xerophyta viscosa*. *Plant, Cell & Environment*, 30(4), 435-446.
- Ingram, J., & Bartels, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 47(1), 377-403.
- Jiang, G., Wang, Z., Shang, H., Yang, W., Hu, Z., Phillips, J., & Deng, X. (2007). Proteome analysis of leaves from the resurrection plant *Boea hygrometrica* in response to dehydration and rehydration. *Planta*, 225(6), 1405.
- Ji, F., Li, N., & Deng, X. (2009). Calcium contents and high calcium adaptation of plants in karst areas of China. *Journal of Plant Ecology (Chinese Version)*, 33(5), 926-935.
- Jones, L., & McQueen-Mason, S. (2004). A role for expansins in dehydration and rehydration of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *FEBS Letters*, 559(1-3), 61-65.
- Kim, J. M., To, T. K., Nishioka, T., & Seki, M. (2010). Chromatin regulation functions in plant abiotic stress responses. *Plant, Cell & Environment*, 33(4), 604-611.

- Klok, C. J. (2010). Biological glass: a strategy to survive desiccation and heat. *Journal of Experimental Biology*, 213(7).
- Kranner, I., Beckett, R. P., Wornik, S., Zorn, M., & Pfeifhofer, H. W. (2002). Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal*, 31(1), 13-24.
- Liu, J., Moyankova, D., Djilianov, D., & Deng, X. (2019). Common and specific mechanisms of desiccation tolerance in two Gesneriaceae resurrection plants. multiomics evidences. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1067.
- Liu, J., Moyankova, D., Lin, C. T., Mladenov, P., Sun, R. Z., Djilianov, D., & Deng, X. (2018). Transcriptome reprogramming during severe dehydration contributes to physiological and metabolic changes in the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1-16.
- Liu, X., Wang, Z., Wang, L., Wu, R., Phillips, J., & Deng, X. (2009). LEA 4 group genes from the resurrection plant *Boea hygrometrica* confer dehydration tolerance in transgenic tobacco. *Plant Science*, 176(1), 90-98.
- Martinelli, T. (2008). In situ localization of glucose and sucrose in dehydrating leaves of *Sporobolus stapfianus*. *Journal of Plant Physiology*, 165(6), 580-587.
- Massacci, A., Battistelli, A., & Loreto, F. (1996). Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, growth and sugar accumulation of field-grown sweet sorghum. *Functional Plant Biology*, 23(3), 331-340.
- Matz, J. M., Blake, M. J., Tatelman, H. M., Lavoie, K. P., & Holbrook, N. J. (1995). Characterization and regulation of cold-induced heat shock protein expression in mouse brown adipose tissue. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 269(1), R38-R47.
- Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D., & Koornneef, M. (1998). *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*, 282(5389), 662-682.
- Mitra, J., Xu, G., Wang, B., Li, M., & Deng, X. (2013). Understanding desiccation tolerance using the resurrection plant *Boea hygrometrica* as a model system. *Frontiers in Plant Science*, 4, 446.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G. A. D., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V. & Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: the new wave?. *Trends in Plant Science*, 16(6), 300-309.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.

- Moore, J. P., Le, N. T., Brandt, W. F., Driouich, A., & Farrant, J. M. (2009). Towards a systems-based understanding of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, *14*(2), 110-117.
- Moore, J. P., Farrant, J. M., & Driouich, A. (2008). A role for pectin-associated arabinans in maintaining the flexibility of the plant cell wall during water deficit stress. *Plant Signaling & Behavior*, *3*(2), 102-104.
- Moore, J. P., Nguema-Ona, E., Chevalier, L., Lindsey, G. G., Brandt, W. F., Lerouge, P., Farrant, J. M. & Driouich, A. (2006). Response of the leaf cell wall to desiccation in the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolius*. *Plant Physiology*, *141*(2), 651-662.
- Mowla, S. B., Thomson, J. A., Farrant, J. M., & Mundree, S. G. (2002). A novel stress-inducible antioxidant enzyme identified from the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker. *Planta*, *215*(5), 716-726.
- Moyankova, D., Mladenov, P., Berkov, S., Peshev, D., Georgieva, D., & Djilianov, D. (2014). Metabolic profiling of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis* during desiccation and recovery. *Physiologia Plantarum*, *152*(4), 675-687.
- Müller, J., Sprenger, N., Bortlik, K., Boller, T., & Wiemken, A. (1997). Desiccation increases sucrose levels in *Ramonda* and *Haberlea*, two genera of resurrection plants in the Gesneriaceae. *Physiologia Plantarum*, *100*(1), 153-158.
- Nishizawa, A., Yabuta, Y., & Shigeoka, S. (2008). Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. *Plant Physiology*, *147*(3), 1251-1263.
- Norwood, M., Truesdale, M. R., Richter, A., & Scott, P. (2000). Photosynthetic carbohydrate metabolism in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Journal of Experimental Botany*, *51*(343), 159-165.
- Oliver, M. J., Dowd, S. E., Zaragoza, J., Mauget, S. A., & Payton, P. R. (2004). The rehydration transcriptome of the desiccation-tolerant bryophyte *Tortula ruralis*: transcript classification and analysis. *Bmc Genomics*, *5*(1), 89.
- Oliver, M. J., Tuba, Z., & Mishler, B. D. (2000). The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. *Plant Ecology*, *151*(1), 85-100.
- Oliver, M. J. (1996). Desiccation tolerance in vegetative plant cells. *Physiologia Plantarum*, *97*(4), 779-787.
- Pandey, V., Ranjan, S., Deebea, F., Pandey, A. K., Singh, R., Shirke, P. A., & Pathre, U. V. (2010). Desiccation-induced physiological and biochemical changes in resurrection plant, *Selaginella bryopteris*. *Journal of Plant Physiology*, *167*(16), 1351-1359.

- Pang, C. H., & Wang, B. S. (2008). Oxidative stress and salt tolerance in plants. U: Pang, C. H., Wang, B. S., Lüttge, U., Beyschlag, W., Büdel, B., & Francis, D. *Progress in Botany* Springer, Berlin, Heidelberg, str. 231-245.
- Peters, S., Mundree, S. G., Thomson, J. A., Farrant, J. M., & Keller, F. (2007). Protection mechanisms in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* (Baker): both sucrose and raffinose family oligosaccharides (RFOs) accumulate in leaves in response to water deficit. *Journal of Experimental Botany*, 58(8), 1947-1956.
- Phillips, J. R., Fischer, E., Baron, M., Van Den Dries, N., Facchinelli, F., Kutzer, M., Rahmzadeh, R., Remus, D. & Bartels, D. (2008). *Lindernia brevidens*: a novel desiccation-tolerant vascular plant, endemic to ancient tropical rainforests. *The Plant Journal*, 54(5), 938-948.
- Picó, F. X., & Riba, M. (2002). Regional-scale demography of *Ramonda myconi*: remnant population dynamics in a preglacial relict species. *Plant Ecology*, 161(1), 1-13.
- Porembski, S., & Barthlott, W. (2000). Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecology*, 151(1), 19-28.
- Rakić, T., Gajić, G., Lazarević, M., & Stevanović, B. (2015). Effects of different light intensities, CO₂ concentrations, temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 63-72.
- Ringli, C., Keller, B., & Ryser, U. (2001). Glycine-rich proteins as structural components of plant cell walls. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 58(10), 1430-1441.
- Rodriguez-Iturbe, I., Porporato, A., Laio, F., & Ridolfi, L. (2001). Plants in water-controlled ecosystems: active role in hydrologic processes and response to water stress: I. Scope and general outline. *Advances in Water Resources*, 24(7), 695-705.
- Rodriguez, M. C. S., Edsgård, D., Hussain, S. S., Alquezar, D., Rasmussen, M., Gilbert, T., Nielsen, B. H., Bartels, D. & Mundy, J. (2010). Transcriptomes of the desiccation-tolerant resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *The Plant Journal*, 63(2), 212-228.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, 331(3), 215-225.
- Sherwin, H. W., & Farrant, J. M. (1998). Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*. *Plant Growth Regulation*, 24(3), 203-210.
- Smirnoff, N. (1993). Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 27-58.

- Tuba, Z., & Lichtenthaler, H. K. (2011). Ecophysiology of homoiochlorophyllous and poikilochlorophyllous desiccation-tolerant plants and vegetations. U: Lüttge, U., Beck, E., & Bartels, D. (ur.) *Plant Desiccation Tolerance*. Springer, Berlin, Heidelberg, str. 157-183.
- Tunnacliffe, A., Hinch, D. K., Leprince, O., & Macherel, D. (2010). LEA proteins: versatility of form and function. U: Lubzens, E., Cerda, J., & Clark, M. (ur.) *Dormancy and resistance in harsh environments*. Springer, Berlin, Heidelberg, str. 91-108.
- Vander Willigen, C., Pammenter, N. W., Jaffer, M. A., Mundree, S. G., & Farrant, J. M. (2003). An ultrastructural study using anhydrous fixation of *Eragrostis nindensis*, a resurrection grass with both desiccation-tolerant and-sensitive tissues. *Functional Plant Biology*, 30(3), 281-290.
- Vicré, M., Farrant, J. M., & Driouich, A. (2004). Insights into the cellular mechanisms of desiccation tolerance among angiosperm resurrection plant species. *Plant, Cell & Environment*, 27(11), 1329-1340.
- Wang, Y., Liu, K., De Bi, S. Z., & Shao, J. (2018). Molecular phylogeography of East Asian *Boea clarkeana* (Gesneriaceae) in relation to habitat restriction. *PLoS One*, 13(7).
- Wang, L., Shang, H., Liu, Y., Zheng, M., Wu, R., Phillips, J., Bartels, D. & Deng, X. (2009a). A role for a cell wall localized glycine-rich protein in dehydration and rehydration of the resurrection plant *Boea hygrometrica*. *Plant Biology*, 11(6), 837-848.
- Wang, Z., Zhu, Y., Wang, L., Liu, X., Liu, Y., Phillips, J., & Deng, X. (2009b). A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in *Boea hygrometrica* by binding to the W-box elements of the galactinol synthase (BhGolS1) promoter. *Planta*, 230(6), 1155.
- Wu, H., Shen, Y., Hu, Y., Tan, S., & Lin, Z. (2011). A phycocyanin-related early nodulin-like gene, BcBCP1, cloned from *Boea crassifolia* enhances osmotic tolerance in transgenic tobacco. *Journal of plant physiology*, 168(9), 935-943.
- Xiao, L., Yang, G., Zhang, L., Yang, X., Zhao, S., Ji, Z., ... & Xu, Y. (2015). The resurrection genome of *Boea hygrometrica*: A blueprint for survival of dehydration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5833-5837.
- Zhang, L., Ji, F., Wang, L., Qi, D., Zhu, Y., & Deng, X. (2012). A small C2-domain protein from the resurrection plant *Boea hygrometrica* promotes plant responses to abscisic acid. *Bulletin of Botanical Research*, 47, 11-27.
- Zhang, T., Fang, Y., Wang, X., Deng, X., Zhang, X., Hu, S., & Yu, J. (2011). The complete chloroplast and mitochondrial genome sequences of *Boea hygrometrica*: insights into the evolution of plant organellar genomes. *PLoS One*, 7(1), e30531.

Zhang, Z., Wang, B., Sun, D., & Deng, X. (2013). Molecular cloning and differential expression of sHSP gene family members from the resurrection plant *Boea hygrometrica* in response to abiotic stresses. *Biologia*, 68(4), 651-661.

5. Sažetak

Nedostatak vode ozbiljno ograničava rasprostranjenost biljaka i poljoprivrednu proizvodnju u svijetu. Mali broj kritosjemenjača nazvanih uskrsnule biljke ima izrazito učinkovite mehanizme tolerancije isušivanja i sposobnost potpunog oporavka nakon rehidracije. Velik broj uskrsnulih vrsta otpornih na isušivanje poput *Boea hygrometrica*, *Haberlea rhodopensis* i *Ramonda serbica* pripada porodici Gesneriaceae. Ove biljke obitavaju na sjenovitim ležištima u kamenitim područjima i u tlu bogatom kalcijem gdje je dostupnost vode periodična i ograničena pa dolazi do brze i snažne dehidracije. Provedena su opsežna istraživanja u cilju identifikacije i razumijevanja fizioloških, staničnih i molekularnih mehanizama tolerancije isušivanja. Mehanizmi tolerancije isušivanja prisutni u biljaka porodice Gesneriaceae su savijanje listova i promjena sastava stanične stijenke, očuvanje fotosintetskog aparata, akumulacija saharoze, HSP, proteina LEA i enzima za obranu od ROS te promjena ekspresije gena. Istraživanje i razumijevanje mehanizama tolerancije isušivanja može pridonijeti razvoju novih sorti biljaka koje bi bile otpornije na isušivanje te bi se mogle uzgajati u područjima s manjom količinom dostupne vode.

6. Summary

Water deficiency seriously limits plant distribution and crop production worldwide. A small group of angiosperm plants termed resurrection plants possess desiccation tolerance to withstand dehydration and to recover fully upon rehydration. Good number of resurrection desiccation tolerant species such as *Boea hygrometrica*, *Haberlea rhodopensis* and *Ramonda serbica* are members of Gesneriaceae family. This plants grow on shady and rocky slopes rich in calcium where water availability is limited so they are subjected to rapid and profound desiccation. Many researches have been conducted for identification and understanding physiological, cellular and molecular mechanisms of desiccation tolerance. Mechanisms of desiccation tolerance that are used by resurrection plants from Gesneriaceae family are leaf curling and structural changes in plant cell wall, protection of photosynthetic apparatus, accumulation of sucrose, HSP, LEA proteins and ROS scavenging enzymes and changes in gene expression. Further research and understanding of desiccation tolerance mechanisms would contribute to development of new species that are resistant to desiccation and would be able to grow in areas with small amount of available water.