

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

ULOGA ANTOCIJANA U ODGOVORU BILJAKA NA STRES

THE ROLE OF ANTHOCYANINS IN PLANT STRESS RESPONSE

SEMINARSKI RAD

Lucija Rajčić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mirta Tkalec

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

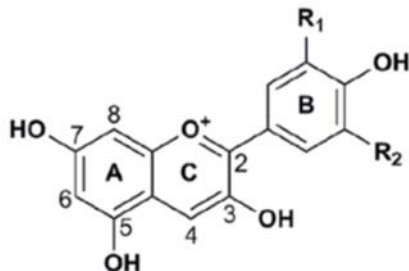
1. UVOD	1
2. RAZLIČITE ULOGE ANTOCIJANA U BILJNOM STRESU	5
2.1. ZAŠTITA OD ABIOTIČKOG STRESA	5
2.1.1. ZAŠTITA OD FOTOINHIBICIJE	6
2.1.2. ZAŠTITA OD UVB ZRAČENJA	10
2.1.3. ZAŠTITA OD NISKIH TEMPERATURA	10
2.1.4. ZAŠTITA U SUŠNIM UVJETIMA	11
2.1.5. ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA.....	12
2.2. ZAŠTITA OD BIOTIČKOG STRESA	12
3. ZAKLJUČAK	17
4. LITERATURA	19
5. SAŽETAK	22
6. SUMMARY	22

1. UVOD

Pojam stres, iako je u svakodnevnoj upotrebi, nije potpuno jasno definiran. U osnovi, stresom se smatra odgovor organizma na nepovoljan vanjski uvjet. Vanjski uvjet koji uzrokuje stres naziva se stresni uvjet ili stresni čimbenik. Do stresa dolazi kada je vrijednost potencijalnog stresnog uvjeta izvan optimalnog raspona (Pevalek-Kozlina, 2003). Dijeli se na abiotički i biotički stres. Pod biotičkim stresom podrazumijeva se negativan utjecaj koji na biljku imaju neki drugi organizmi (herbivori, patogeni, paraziti), a pod abiotičkim fizikalni (npr. promjena temperature) ili kemijski (npr. izlaganje herbicidima) negativan utjecaj na biljku. 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 (Ördög i Molnár, 2011). Tolerancija biljke na stres sposobnost je biljke da se nosi sa stresnim uvjetima u okolišu (Taiz i Zeiger, 2002). Biljke koje nisu u stanju obraniti se od stresa nazivamo osjetljivim/podložnim (eng. susceptible) biljkama (Ördög i Molnár, 2011). S druge strane, biljke koje nakon izlaganja stresu razviju veću toleranciju na njega, imaju sposobnost aklimatizacije. Aklimatizacijom biljke postaju rezistentne na određeni stresni čimbenik, razviju toleranciju na njega ili ga izbjegavaju. Brojni su fiziološki, morfološki i anatomske mehanizmi kojima se biljka štiti od stresa, primjerice djelovanjem hormona, građom epiderme (suberin, trnje i dr.), sintezom sekundarnih metabolita i dr (Taiz i Zeiger, 2002).

Antocijani su sekundarni biljni metaboliti koji se ubrajaju u fenolne spojeve, točnije u flavonoide. Flavonoidi obuhvaćaju oko 4500 otkrivenih spojeva čija je osnova građe kostur od 15 ugljikovih atoma koji se sastoji od dva benzenska prstena te jednog heterocikličkog prstena (Buchanan i sur., 2000). S obzirom na poziciju vezanja prstena B na prsten C te ostale supstituente vezane na prsten C, flavonoidi se dijele u više skupina spojeva od kojih jednu čine antocijanidini (Slika 1.) (Panche i sur., 2016). Antocijanidini su aglikoni, a u glikoziliranom stanju nazivaju se antocijanima. Otkriveno je više od 20 antocijanidina od čega se u biljkama najčešće javlja njih šest - cijanidin, delfinidin, pelargonidin, petunidin, peonidin i malvidin. Mjesto vezanja različitih supstituenata (pr. metilna, *p*-kumarilna kiselina, šećer i dr.) i struktura šećera koji se veže na antocijanidin, kao i vrsta antocijanidina, utječu na raznolikost antocijana kojih je otkriveno čak 600. Antocijani imaju pozitivan naboj na atomu kisika na prstenu C zbog čega su dobri

antioksidansi. Na antioksidacijska svojstva molekule antocijana utječe i broj hidroksilnih skupina vezanih na prsten B jer one povećavaju antioksidacijsku aktivnost, kao i broj šećera vezanih na prstenove A i C koji je smanjuju (Liu i sur., 2018).



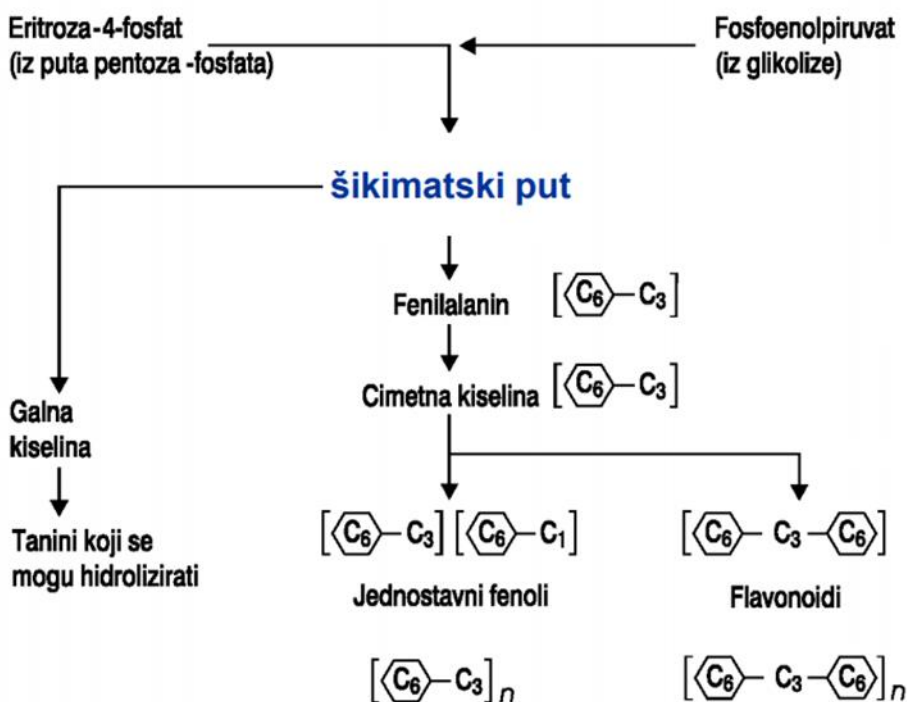
Slika 1. Osnova građe antocijanidina. R₁ i R₂ supstituenti najčešće su hidroksilna skupina, proton i metoksidna skupina. Preuzeto iz Liu i sur. (2018).

Zbog svoje strukture s konjugiranim dvostrukim vezama, antocijani apsorbiraju vidljivu i ultraljubičastu svjetlost (iako je to relativno slaba apsorpcija u odnosu na druge fenolne spojeve), pri čemu su apsorpcijski maksimumi svih antocijana slični u ultraljubičastom dijelu spektra gdje se nalaze na 270 nm i 310 nm kod jednostavnih antocijana te na 289 nm i 310 nm kod onih aciliranih p-kumarilnom kiselinom, dok apsorpcijski maksimumi u vidljivom dijelu spektra variraju, ali u principu apsorbiraju plavo-zelenu svjetlost (Harborne, 1958).

Antocijani se akumuliraju u vakuoli stanice. Mogu biti plave, crvene ili ružičaste boje ovisno o broju metilnih i hidroksilnih supstituirajućih skupina, pH vrijednosti staničnog soka, prisutnosti flavonoidnih kopigmenata te prisutnost metalnih iona koji imaju sposobnost vezanja uz molekulu antocijana (Pevalek-Kozlina, 2003). Nalaze se u plodovima, cjetovima, stabljikama, listovima i korijenu. Neki su trajno prisutni u tkivima, a neki se pojavljuju u određenim razvojnim stadijima ili ekološkim uvjetima te dovode do privremene obojenosti (Chalker-Scott, 1999). Trajno su prisutni u tkivima kojima primarna uloga nije asimilacija ugljika, kao što su npr. tkivo latica ili plodova gdje služe za privlačenje oprašivača i rasprostranjivača (Steyn i sur., 2002; Lev-Yadun i Gould, 2009). Kod privremene obojenosti sintetiziraju se kao odgovor na abiotičke ili biotičke čimbenike kao što su svjetlost, niska temperatura, UVB zračenje, vodni stres, napad patogena ili

nedostatak nutrijenata zbog čega se pretpostavlja da imaju ulogu u zaštiti biljke od stresa (Chalker-Scott, 1999; Steyn i sur., 2002).

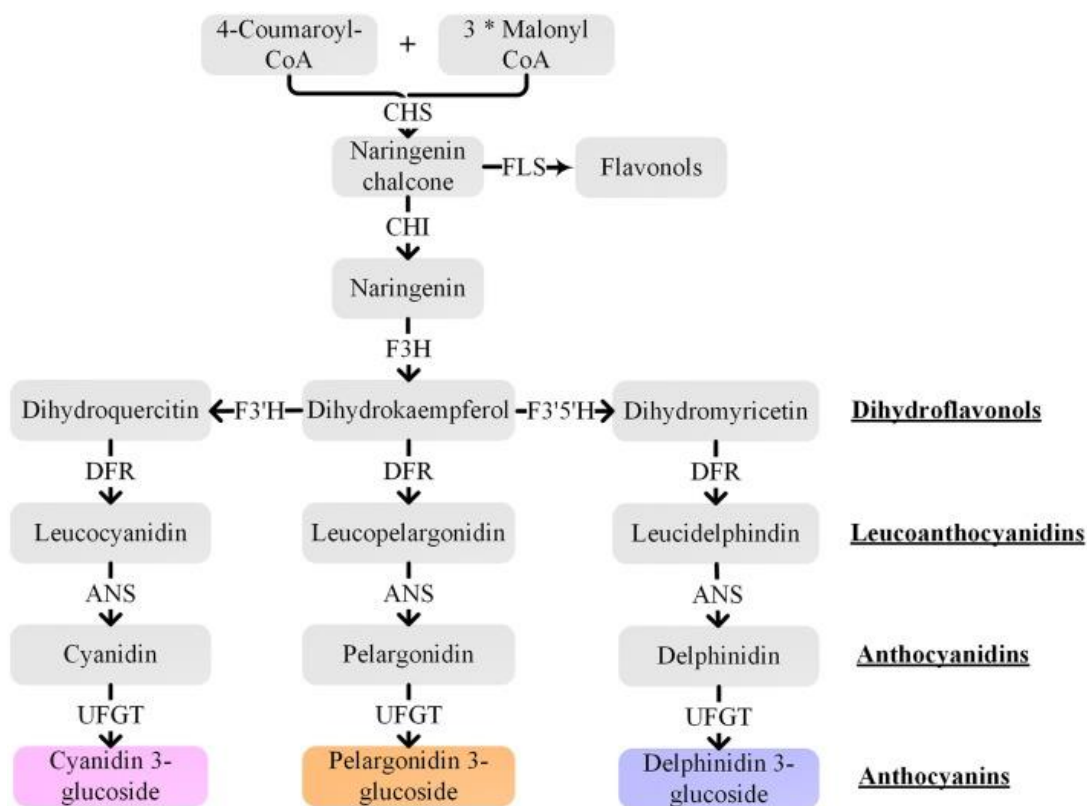
Antocijani, kao i ostali flavonoidi, nastaju fenilpropanoidnim metaboličkim putem (Slika 2.) koji se odvija u citoplazmi (Hrazdina i sur., 1978; Buchanan i sur., 2000). Prvo u putu šikimatske kiseline dolazi do konverzije prekursora sintetiziranih u glikolizi i putu pentoza fosfata u aromatske aminokiseline. Kod većine vaskularnih biljaka najčešći supstrat za daljnje reakcije je aminokiselina fenilalanin (Buchanan i sur., 2000). Enzim koji katalizira ključnu reakciju deaminacije fenilalanina u cimetnu kiselinu naziva se fenilalanin-amonijak liaza i predstavlja most između primaranog i sekundarnog metabolizma u biljkama te se smatra najbolje istraženim enzimom u sekundarnom metabolizmu (Buchanan i sur., 2000). U daljnjim reakcijama dolazi do dodavanja supstituenata na cimetnu kiselinu, osobito hidroksilnih grupa (Taiz i Zeiger, 2002).



Slika 2. Pojednostavljeni prikaz sinteze fenola. Preuzeto iz Pevalek-Kozlina (2003).

Flavonoidni metabolički put grana se od puta šikimatske kiseline reakcijom malonil-koenzima A i *p*-kumaril-koenzima A prilikom čega nastaje naringenin kalkon (Slika 3.). Reakciju katalizira enzim kalkon sintetaza (CHS), ključni enzim ovog puta koji ne zahtjeva kofaktor

(Buchanan i sur., 2000). Kalkon izomerazom (CHI) iz naringenin kalkona nastaje naringenin, iz kojeg flavonoid-3-hidroksilazom (F3'H) nastaje dihidroflavonoid dihidrokempferol koji može biti dodatno hidroksiliran u dihidrokvercetin ili dihidromiricetin enzimom flavonoid-3,5-hidroksilazom (F3'5'H). Enzim dihidroflavonol-4-reduktaza (DFR) katalizira konverziju ova tri dihidroflavonola u leukoantocijanidine koje zatim enzim antocijanidin sintetaza (ANS) konvertira u antocijanidine. Glikolizacijom antocijanidina glikoziltransferazama nastaju antocijani (Liu i sur., 2018).



Slika 3. Biosintetski put antocijana. Preuzeto iz Liu i sur. (2018).

Neki geni uključeni u metabolizam antocijana (i fenola općenito) regulirani su okolišnim uvjetima. Primjerice, aktivnost fenilalanin-amonijak-liaze pospješuju izlaganje biljke svjetlosti, nedostatak nutrijenata ili napad patogena (gljiva). Smatra se da se regulacija PAL odvija na razini transkripcije gena koji kodira(ju) taj enzim (Taiz i Zeiger, 2002). Pretpostavlja se da svjetlost na

razini transkripcije regulira i korake flavonoidnog biosintetskog puta specifične za sintezu antocijana kontrolirajući R2R3- MYB transkripcijske faktore koji su glavni aktivatori kompleksa koji regulira transkripciju u antocijanskom metaboličkom putu tzv. MBW kompleksa (Liu i sur., 2018).

2. RAZLIČITE ULOGE ANTOCIJANA U STRESU

Uloga antocijana osim u privlačenju oprašivača nije u potpunosti razjašnjena. Budući da je prolazna obojenost antocijanima potaknuta različitim stresnim uvjetima (niska temperatura, vodni stres, ranjavanje biljke i dr.), pretpostavlja se da imaju kratkotrajnu zaštitnu ulogu u odgovoru biljaka na stres (Steyn i sur., 2002). Naime, trajna prisutnost antocijana u listovima ne bi bila isplativa za biljku jer je za njihovu sintezu potrebno dosta energije (Steyn i sur., 2002). Budući da su to finalni produkti flavonoidnog puta, u sintezu je uključen velik broj reakcija, intermedijera, i enzima. Također, njihova je akumulacija u vakuoli aktivan proces jer se zbiva suprotno koncentracijskom gradijentu (Lee i sur., 2003). Stoga se u sintezu antocijana utroši puno energije i građevnih jedinica koje bi se mogle koristiti za rast biljnih organa što je posebno izraženo kod mladih listova koji se još razvijaju (Karageorgou i Manetas, 2006). Osim toga, s obzirom da apsorbiraju u vidljivom dijelu spektra, antocijani mogu smanjiti stopu fotosinteze i akumulaciju ugljika pa bi njihova trajna prisutnost u stanicama imala negativan učinak na biljku (Steyn i sur., 2002). Trenutno u literaturi postoje dvije hipoteze koje objašnjavaju zaštitnu ulogu antocijana-zaštita protiv abiotičkog stresa i uloga u odnosima između životinja i biljaka (odnosno zaštita od herbivora) (Archetti i sur., 2009).

2.1. ZAŠTITA OD ABIOTIČKOG STRESA

Uočeno je da se antocijani akumuliraju u uvjetima stresa, potaknuti određenim abiotičkim faktorima kao što su jaka svjetlost, niska temperatura ili UVB zračenje. Stoga se smatra da antocijani služe zaštiti od abiotičkog stresa, točnije od fotoinhibicije, vodnog stresa, niskih temperatura, ranjavanja, nedostatka nutrijenata i dr. (Chalker-Scott, 1999; Steyn i sur., 2002; Feild i sur., 2001). U novije vrijeme jedina testirana hipoteza je ona o zaštiti od fotoinhibicije (Archetti

i sur., 2009; Hughes, 2011; Trojak i Skowron, 2017). Ostale hipoteze više se ne istražuju jer su se ili pokazale pogrešnima ili se mogu objasniti pomoću hipoteze o fotoinhibiciji (Steyn i sur., 2002; Archetti i sur., 2009). Primjerice, hipoteza da akumulacija antocijana služi snižavanju osmotskog potencijala kod vodnog stresa pokazala se netočnom. U istraživanjima je otkriveno da antocijani daju mali doprinos osmotskom potencijalu u odnosu na otopljene produkte fotosinteze ili ione (Manetas, 2006). S druge strane, hipoteze o zaštiti od UVB zračenja ili o zaštiti od suše mogu se objasniti zaštitom od fotoinhibicije jer joj je u takvim uvjetima fotosintetski aparat podložniji (Steyn i sur., 2002).

2.1.1. ZAŠTITA OD FOTOINHIBICIJE

Budući da je sinteza antocijana potaknuta svjetlošću, pretpostavlja se da imaju ulogu u zaštiti od fotoinhibicije (Chalker-Scott, 1999).

Fotosinteza je proces u kojem neki prokarioti, alge i bakterije koriste svjetlost kako bi iz anorganskih sintetizirali organske spojeve. Nastali organski spojevi služe kao izvor energije svim živim bićima na Zemlji. Proces se dijeli na primarne i sekundarne reakcije. Primarne reakcije, koje se odvijaju na kompleksima na tilakoidnim membranama, nazivaju se još i reakcijama na svjetlu jer tijekom njih dolazi do svjetlošću inducirano razdvajanja naboja na klorofilu koji omogućava prijenos elektrona s klorofila na primarni akceptor te, ultimativno, na terminalni akceptor NADP+. Membranski kompleksi na kojima dolazi do razdvajanja naboja su fotosustav II i fotosustav I koji u svojim reakcijskim središtima sadrže par molekula klorofila *a*. Elektroni visoke energije pohranjeni u molekuli NADPH koriste se u sekundarnim reakcijama za redukciju ugljikovog dioksida u šećere u kojima je pohranjena energija (Taiz i Zeiger, 2002).

Fotoinhibicija je niz molekularnih procesa koji dovode do inhibicije fotosintetskog aparata, a do kojeg dolazi kada je biljka izložena količini svjetlosti većoj nego što može upotrijebiti za fotosintezu (Taiz i Zeiger, 2002). Kada klorofil *a* u reakcijskom središtu predugo (više od nekoliko nanosekundi) ostane u pobuđenom stanju, može reagirati s molekulom kisika prilikom čega nastaje reaktivna kisikova vrsta zvana singletni kisik. Smatra se da je singletni kisik, koji je vrlo reaktivan te oksidira proteine, lipide i pigmente, najzaslužniji oksidans za oštećenje fotosintetskog aparata u biljaka i posljedično fotoinhibiciju (Krieger-Liszkay, 2005). Također, on dovodi do nastanka

drugih reaktivnih kisikovih vrsta, kao što su vodikov peroksid, superoksidni radikal, hidroksilni radikal itd. Dio fotosintetskog aparata najosjetljiviji na oksidativni stres je protein D1 u reakcijskom središtu fotosustava II. Kada dođe do oštećenja proteina D1, on se razgrađuje i zamijeni ga de novo sintetizirana molekula (Krieger-Liszkay, 2005).

Hipotezi da antocijani štite biljku od fotoinhibicije ide u prilog činjenica da je privremena obojenost antocijanima česta kod mladih listova te listova listopadnih vrsta u senescenciji (Slika 4.) koji su osobito podložni fotoinhibiciji (Archetti i sur., 2009). Primjer vrste koja pokazuje crveno obojenje mladih listova je hrast oštrika (*Quercus coccifera* L.), a onih koje pokazuju crveno obojene jesenskih listova su crveni hrast (*Quercus rubra* L.), američka srezma (*Prunus serotina* Ehrh.) i drijen crvene kore (*Cornus sericea* L.) (Lee i sur., 2003).



Slika 4. Privremena obojenost antocijanima a) Mladi crveni listovi. Preuzeto iz <http://www.hsu.edu/Academics/ARNatureTrivia/plant-leaf-coloration.html>; b) Senescentni crveni listovi. Preuzeto iz <https://www.rhs.org.uk/Plants/14305/Quercus-rubra/Details>

Fotosintetski aparat mladih listova podložan je fotoinhibiciji jer nije u potpunosti razvijen, a nisu razvijeni ni ostali vidovi zaštite od jake svjetlosti, npr. epikutikularni voskovi (Steyn i sur., 2002). Smatralo se kako antocijani štite od fotoinhibicije jer imaju sposobnost apsorpcije u vidljivom dijelu spektra pa tako rasterećuju klorofil (Karageorgou i Manetas, 2006). Zhang i sur.

(2016) su u istraživanju na vrsti *Castanopsis fissa* (Champ. ex Benth.) Rehd. & Wils. otkrili da su zeleno obojene površine na mladim listovima pretrpile veću fotoinhibiciju, nego “površine s crvenim zaštitnim pokrovom” odnosno površine lista prekrivene dlakama u kojima se nalaze antocijani. Ipak, kako bi pigment bio učinkovita zaštita za klorofil, trebao bi apsorbirati svjetlost valnih duljina u kojima se nalazi apsorpcijski maksimum klorofila (Karageorgou i Manetas, 2006). Apsorpcijski maksimumi antocijana nalaze se u plavozelenom dijelu spektra za razliku od apsorpcijskih maksimuma klorofila koji se nalaze u plavom i crvenom dijelu spektra (Harborne, 1958). Stoga antocijani značajnije rasterećuju klorofil samo u tkivima u kojima je on prisiljen apsorbirati plavo-zelenu svjetlost. Mjera do koje antocijani rasterećuju klorofil od viška svjetlosti ovisi o distribuciji pigmenta u tkivu lista, npr. nalazi li se u epidermi ili u mezofilu te u koliko slojeva stanica je prisutan (Steyn i sur., 2002). Zelena svjetlost je fotosintetski iskorištena samo u debelim listovima gdje kloroplasti stanica u gornjim slojevima mezofila apsorbiraju većinu crvene i plave svjetlosti pa kloroplasti slojeva stanica u unutrašnjosti lista apsorbiraju zelenu svjetlost (Karageorgou i Manetas, 2006). Stoga su ovi autori zaključili da antocijani u mladim listovima, koji su tanki, ipak ne služe zaštiti od fotoinhibicije.

U jesen, u razdoblju kada kod listopadnih vrsta nastupa senescencija, povećava se rizik od fotoinhibicije (Steyn i sur., 2002; Archetti i sur., 2009). Postoji više razloga zašto je tako. Kao prvo, krošnje se prorijeđuju te se povećava količina svjetlosti u šumama, zatim niska temperatura smanjuje mogućnost fiksacije ugljika (Archetti i sur., 2009) te, kao treće, prilikom razgradnje klorofila dolazi do nastanka reaktivnih kisikovih vrsta koje mogu uzrokovati štetu na fotosintetskom aparatu (Steyn i sur., 2002). Do nastanka radikala dolazi zbog izlaganja fotoreceptivnih produkata razgradnje klorofila jakom svjetlu (Lee i sur., 2003). Fotoreceptivni produkti katabolizma klorofila su tetrapiroli koji imaju delokalizirane elektrone u porfirinskom prstenu (Christ i Hörtensteiner, 2014).

S obzirom na povećan rizik od fotoinhibicije, pretpostavlja se da antocijani akumulirani u senescentnim listovima listopadnih vrsta štite listove od fotoinhibicije (Chalker-Scott, 1999; Steyn i sur., 2002). Međutim, nameće se pitanje zašto uopće od fotoinhibicije štiti fotosintetski aparat lista koji će uskoro otpasti. Hoch i sur. (2001) predložili su da se fotosintetski aparat senescentnih listova štiti od fotoinhibicije kako bi se mogao očuvati gradijent tlaka potreban za prijenos nutrijenata u floem. Naime, gradijent tlaka potreban za izljev dušika i fosfora u sitaste elemente

floema održava se unosom osmotskih aktivnih tvari (produkata fotosinteze) u floem. Zalihe šećera u listu nisu dovoljno za održavanje gradijenta tlaka tijekom senescencije, koja traje više tjedana, pa je potrebno stvarati nove procesom fotosinteze što ne bi bilo moguće ukoliko bi došlo do inhibicije fotosintetskog aparata .

Feild i sur. (2001) utvrdili su na istraživanju provedenom na drijenu crvene kore (*Cornus sericea* L.) da listovi koji su izloženi svjetlosti u jesen akumuliraju antocijane i pocrvene dok oni koji se nalaze u nižim slojevima grma u jesen postanu žučkasti. Nakon izlaganja jakoj svjetlosti u laboratoriju na crvenim senescentnim listovima osvjetljenim plavo-zelenom svjetlošću, kakvu apsorbiraju antocijani, nije uočena šteta na fotosintetskom aparatu, dok na žutima jest. Nakon izlaganja jakoj crvenoj svjetlosti senescentni listovi obje boje pretrpjeli su podjednaku štetu što upućuje da antocijani štite crvene listove od fotoinhibicije apsorbirajući plavo-zelenu svjetlost (Feild i sur., 2001). Nadalje, primjećeno je da listovi nižih slojeva grma drijena crvene kore također akumuliraju antocijane ako se u ranu jesen odreže više grane koje ih zaklanjaju i tako ih se izloži jakoj svjetlosti što dodatno navodi do zaključka da antocijani služe senescentnim listovima za zaštitu od fotoinhibicije (Feild i sur., 2001). U kasnijim istraživanjima na 89 vrsta drvenastih dvosupnica pokazalo se da nema znatnih razlika u funkciji fotosintetskog aparata kod vrsta s crvenim odnosno žutim senescentnim lišćem što je navelo autore na zaključak da antocijani nemaju nikakvu značajniju ulogu u zaštiti od fotoinhibicije prilikom senescencije, nego da služe zaštitu stanice od aktivacije produkata razgradnje klorofila (Lee i sur., 2003).

Neki autori predložili su da je zaštita antocijanima od fotoinhibicije osobito važna kod biljaka sjene (Hoch i sur., 2001). One su izrazito osjetljive na fotoinhibiciju zbog svog velikog kapaciteta za apsorpciju energije (Steyn i sur., 2002). Naime, biljke sjene, koje rastu u uvjetima gdje prevladava tamnocrvena svjetlost, imaju povećanu količinu fotosustava II čiji klorofil *a* u reakcijskom središtu apsorbira crvenu svjetlost te tako povećavaju mogućnost za apsorpciju crvene svjetlosti. Nadalje, list biljaka sjene tanji je nego list biljaka sunca te je morfološki bolje prilagođen apsorpciji svjetlosti, a sadrži i manje karotenoida koji bi kompetirali za apsorpciju s klorofilom (Taiz i Zeiger, 2002). Drugi autori ne slažu se s ovom hipotezom jer je rizik od jake svjetlosti u uvjetima sjene vrlo nizak, dok bi apsorpcijom dijela vidljive svjetlosti antocijani smanjili apsorpciju fotosustava biljaka sjene koje i ovako imaju nisku stopu fotosinteze (Steyn i sur., 2002).

2.1.2. ZAŠTITA OD UVB ZRAČENJA

Antocijani se akumuliraju kao odgovor na izloženost biljke UVB zračenju, stoga su postojale hipoteze da služe zaštiti od istog (Chalker-Scott, 1999; Steyn i sur., 2002; Kerr i sur., 2018). U istraživanju provedenom na ukrasnoj koprivi (*Coleus*) Burger i Edwards (1996) otkrili su da je fotosintetski kapacitet zelenih listova nakon osvjetljavanja UVB zračenjem manji nego kod crvenih listova što je u skladu s hipotezom. Međutim, antocijani za razliku od ostalih flavonoida ne apsorbiraju dobro u UVB dijelu spektra osim ako nisu acilirani aromatskim kiselinama što je rijetka pojava (Woodall i Stewart, 1998). Također, idealna zaštita od UVB zračenja trebala bi biti stalno prisutna u tkivima i ne bi smjela negativno utjecati na stopu fotosinteze (Steyn i sur., 2002). U većini daljnjih istraživanja, odbačena je hipoteza o zaštitnoj ulozi antocijana. Primjerice Kerr i sur. (2018) nisu pronašli da akumulirani antocijani biljke *Sedum wrightii* A. Gray štite DNA od oštećenja uzrokovanih UVB zračenjem. Vjerojatno su u istraživanjima koja su potvrdila hipotezu o zaštiti od UVB zračenja antocijani prisutni u biljkama bili acilirani aromatskim kiselinama (Woodall i Stewart, 1998). Moguće objašnjenje zašto se antocijani sintetiziraju pod utjecajem UVB zračenja, iako ne štite stanicu direktno od njegovih učinaka, je kako bi dodatno od fotoinhibicije štitili fotosintetski aparat koji je zbog UV zračenja podložniji nastanku reaktivnih kisikovih vrsta i oštećenjima (Steyn i sur., 2002).

2.1.3. ZAŠTITA OD NISKIH TEMPERATURA

Akumulacija antocijana potaknuta je niskim temperaturama, primjerice u jesen u doba aklimatizacije tkiva tijekom pripreme na prezimljavanje (Steyn i sur., 2002). Niske temperature mogu uzrokovati oštećenja u biljaka bilo dehidracijom jer se voda pretvara u led, bilo mehaničkim ozljedama koje nastali kristali mogu uzrokovati na tkivu (Chalker-Scott, 1999). Isprva se nagađalo da akumulacija antocijana služi za razvoj otpornosti na niske temperature na način da dovodi do pothlađivanja (tzv. supercooling) (Chalker-Scott, 1999), međutim daljna istraživanja pokazala su da antocijani imaju samo posrednu ulogu u nekim drugim mehanizmima koji omogućavaju stjecanje otpornosti na niske temperature (Steyn i sur., 2002). Supercooling je mehanizam kojemu

biljke često pribjegavaju kako bi se obranile od niskih temperatura, prilikom čega mogu zadržati vodu u tekućem stanju čak do temperature od -45°C . Ovaj proces induciran nduciran je smanjenjem osmotskog potencijala. Do smanjenja osmotskog potencijala dolazi povećanjem koncentracije otopljenih tvari, stoga akumulacija antocijana koji se dobro otapaju u vodi snižava osmotski potencijal, dovodi do supercoolinga te na taj način štiti biljku od smrzavanja (Chalker-Scott, 1999). Ipak, neka istraživanja pokazala su da antocijani relativno slabo doprinose osmotskom potencijalu u odnosu na druge osmotski aktivne tvari (Manetas, 2006). Stoga se čini vjerojatnijim da akumulacija antocijana pri niskim temperaturama služi zaštiti od fotoinhibicije (Steyn i sur., 2002) jer niske temperature čine biljku podložnijom fotoinhibiciji. Naime, zbog usporavanja enzimatskih reakcija Calvinovog ciklusa dolazi do smanjenog prijenosa elektrona u primarnim reakcijama te nastanka reaktivnih kisikovih vrsta koje mogu oštetiti protein D_1 u reakcijskom centru fotosustava II te oštećena molekula mora biti zamjenjena novom molekulom tog proteina. Također, niska temperatura usporava sintezu nove molekule proteina D_1 te na taj način pospješuje fotoinhibiciju (Taiz i Zeger, 2002).

2.1.4. ZAŠTITA OD SUŠE

Istraživanja su pokazala da se antocijani akumuliraju u sušnim uvjetima (Chalker-Scott, 1999; Kovinich i sur., 2015). Budući da su glikozidi te su kao takvi topivi u vodi, služe smanjenju osmotskog potencijala što omogućava ulazak vode u stanicu i održavanje turgora (Chalker-Scott, 1999). Zamijećeno je primjerice da tzv. uskrsnule biljke *Craterostigma wilmsii* Engl. i *Xerophyta viscosa* Baker, koje su poznate po velikoj toleranciji na gubitak vode, u dehidriranom stanju sadrže tri do četiri puta veće količine antocijanina nego u hidriranom stanju (Chalker-Scott, 1999). Međutim, smanjenje osmotskog potencijala može se postići povećanjem koncentracije bilo kojih osmotski aktivnih tvari, a ne nužno antocijana. Štoviše, neka istraživanja pokazuju da antocijani relativno slabo doprinose osmotskom potencijalu lista (Manetas, 2006). Neki autori smatraju da ne postoji direktna povezanost vodnog stresa i akumulacije antocijana, nego da se akumuliraju sa svrhom zaštite od fotoinhibicije kojoj je biljka tijekom vodnog stresa podložnija nego u normalnim uvjetima (Steyn i sur., 2002).

2.1.5. ANTIOKSIDACIJSKA ZAŠTITA

Dokazano je da antocijani, kao i drugi flavonoidi, djeluju kao antioksidansi (Yamasaki i sur., 1997). Posebno su dobri antioksidansi zbog pozitivno nabijenog kisikovog iona na prstenu C (Slika 1.). Također, njihova antioksidacijska sposobnost povećava se s brojem hidroksilnih grupa vezanih na prsten B (Liu i sur., 2018). Stoga ove molekule mogu reducirati reaktivne kisikove vrste kao što su vodikov peroksid, singletni kisik ili superoksidni radikal (Gould i sur., 2002). Okolišni uvjeti koji potiču akumulaciju antocijana ujedno dovode i do nastanka slobodnih radikala i reaktivnih kisikovih vrsta pa je moguće da je akumulacija antocijana zapravo odgovor na nastanak ovih toksičnih spojeva (Gould i sur., 2002). U nekim istraživanjima pronađeno je da ozon, snažan oksidans, potiče akumulaciju antocijana (Chalker-Scott, 1999). Moguće je i da se akumuliraju tijekom senescencije kako bi štitili biljku od produkata razgradnje klorofila (Lee i sur., 2003). Naime, za vrijeme senescencije dolazi do razgradnje klorofila u kloroplastima kako bi se reciklirali nutrijenti koji sudjeluju u njegovoj izgradnji. Prilikom procesa razgradnje zbog izlaganja svjetlosti moguć je nastanak slobodnih radikala koji mogu oštetiti fotosintetski aparat i narušiti proces prijenosa nutrijenata u floem (Lee i sur., 2003). Međutim, antocijani se nalaze u vakuoli gdje reaktivne vrste ne nastaju (Gould i sur., 2002; Feild i sur., 2001). Neki znanstvenici zato smatraju da antocijani služe kao antioksidansi za reaktivne vrste koje „cure“ iz kloroplasta, mitohondrija ili peroksisoma (Feild i sur., 2001), a da primarnu zaštitu u biljnoj stanici predstavljaju antioksidansi iz citoplazme (Gould i sur., 2002). Budući da su ostali nebojени flavonoidi jednako učinkoviti kao antioksidansi, neki smatraju da je uloga antocijana ipak u apsorpciji suvišne svjetlosti i zaštiti klorofila (Steyn i sur., 2002).

2.2. ZAŠTITA OD BIOTIČKOG STRESA

Biotički stres podrazumijeva napade patogena ili herbivora na biljke. Pri biotičkom stresu antocijani mogu koristiti kao kemijski repelenti ili kao vizualni signali (Lev-Yadun i Gould, 2009). Kod nekih antocijana pronađeno je antiviralno, antimikrobno i fungicidno djelovanje (Wrolstad, 2004). Međutim, nemaju štetno kemijsko djelovanje na više organizme pa iz toga možemo

zaključiti da je njihovo zaštitno djelovanje pri biotičkom stresu prvenstveno u smislu vizualnog signala (Lev-Yadun i Gould, 2009). Postoje različite hipoteze o antiherbivornoj ulozi antocijana.

Najviše pažnje u istraživanjima antiherbivorne uloge antocijana posvećeno je istraživanju crvenila mladih listova te crvenila senescentnih listova listopadnih vrsta.

Ranije je spomenuta hipoteza da su mladi listovi crveni zbog zaštite njihovog fotosintetskog aparata koji još nije u potpunosti razvijen pa je podložniji fotoinhibiciji (Steyn i sur., 2002). U tom slučaju akumulirani antocijani u listovima služili bi apsorpciji viška svjetlosti i rasterećenju klorofila (Hoch i sur., 2001; Karageorgou i Manetas, 2006). Međutim, apsorpcijski maksimumi klorofila i antocijana ne podudaraju se jer klorofil ima apsorpcijske maksimume u crvenom i plavom dijelu spektra, a antocijani imaju apsorpcijske maksimume u plavozelenom dijelu spektra (Harborne, 1958). Posljedično, očekuje se da antocijani značajnije rasterećuju klorofil jedino u debljim listovima u kojima je najveći dio crvene i plave svjetlosti apsorbiran od strane klorofila u površinskim slojevima lista, a molekule klorofila u unutrašnjosti lista prisiljene su apsorbirati pretežito zelenu svjetlost (Karageorgou i Manetas, 2006). Budući da mladi listovi nisu debeli, neki autori smatraju da antocijani u mladim listovima imaju isključivo antiherbivornu ulogu. Postoji više različitih hipoteza koje pokušavaju objasniti zašto bi crvena boja mladih listova predstavljala zaštitu od herbivora. Juniper je 1994. g. predložio da su mladi listovi crveni kako bi naveli herbivorne kukce da misle da se radi o starim listovima. Dominy i sur. (2002) istaknuli su da većina herbivornih kukaca nema receptor za crvenu boju pa im se crveni listovi doimaju kao da su mrtvi. Lüttge je 1997. g. iznio hipotezu da crveno obojenje mladih listova zapravo privlači herbivorne kukce te ih na taj način odvraća od starijih, potpuno razvijenih listova čije bi oštećenje bilo skuplje za biljku, ali ova hipoteza nije nikada testirana (Lev-Yadun i Gould, 2009). Za prve dvije hipoteze postoje određeni ekperimentalni dokazi jer je u nekim istraživanjima uočena preferencija herbivornih kukaca za zelene listove u odnosu na crvene (Karageorgou i Manetas, 2006; Archetti i sur., 2009).

Kod senescentnih listova također je pretpostavljena uloga antocijana u zaštiti od fotoinhibicije. Kao što je već spomenuto ranije, antocijani možda štite fotosintetski aparat crvenih jesenskih listova apsorbirajući zelenu svjetlost i tako rasterećujući klorofil (Feild i sur., 2001; Steyn i sur., 2002). Međutim, Lee i sur., 2003 nisu uočili razliku u fotoinhibiciji drveća sa žutim i crvenim senescentnim lišćem. Stoga neki autori smatraju da crvenilo senescentnog lišća

listopadnih vrsta ima prvenstveno antiherbivornu ulogu. Akumulaciju antocijana u crvenim jesenskim listovima objašnjavaju signalnom ulogom (Archetti i sur., 2009; Lev-Yadun i Gould, 2009).

Prva hipoteza postavljena o signalnoj ulozi antocijana kod senescentnih listova bila je hipoteza zastave (eng. fruit-flag hypothesis) koju je 1982. g. postavio E.W. Stiles (Lev-Yadun i Gould, 2009). Prema toj hipotezi obojeni senescentni listovi ornitohornih drvenastih vrsta privlače ptice te na taj način pospješuju rasprostranjivanje sjemenki (Lee i sur., 2003; Lev-Yadun i Gould, 2009). Kao primjer i model u istraživanjima ove teorije poslužile su vrste roda *Rhus* (Facelli, 1993; Lee i sur., 2003; Archetti i sur., 2009). Facelli je uočio preferenciju ptica prema crvenim zastavama i povećanu konzumaciju plodova s grmova *Rhus glabra* L. na koje je objesio crvene zastave. Međutim, u kasnijim istraživanjima nije potvrđen značajniji afinitet ptica prema crvenom lišću (Archetti i sur., 2009). Usto, Lee i sur. (2003) ističu kako se senescencija većine vrsta ne poklapa s vremenom dozrijevanja plodova pa u doba, kada su listovi crveni, na grmlju ili drveću više nema plodova. Stoga je danas hipoteza zastave u principu odbačena (Archetti i sur., 2009).

W.D. Hamilton postavio je tzv. koevolucijsku teoriju čija je ideja da postoji koevolucija između herbivora (konkretno lisnih uši) i obojenja senescentnih listova (Archetti, 2000). Obojeni listovi trebali bi signalizirati herbivorima da je biljka dobro kemijski zaštićena (Lev-Yadun i Gould, 2009). Ovakva signalizacija mogla bi imati utjecaja na jesenske migracije lisnih uši na drveće na kojem polažu jaja (Archetti, 2000). Pretpostavlja se da zbog signala, koji odašilje crveno lišće, kukci preferiraju zeleno lišće prilikom polaganja jaja. Posljedično, drveće sa zelenim lišćem u proljeće pretrpi veću štetu od strane mladih kukaca, nego drveće s crvenim lišćem. S ovom pretpostavkom slažu se rezultati istraživanja provedenog na sremzi (*Prunus padus* L.) prilikom kojeg je zamjećena snažna preferencija lisnih uši za zeleno lišće (Archetti i Leather, 2005). Koevolucijska teorija temelji se na Zahavijevom principu hendikepa prema kojem je svaki skupi signal ujedno i iskren te učinkovit signal (Lev-Yadun i Gould, 2009). Budući da je sinteza antocijana skup proces jer uključuje mnogo koraka, intermedijera i enzima pa predstavlja velik utrošak energije, kukci bi trebali ozbiljno shvaćati upozorenje o kemijskoj zaštićenosti biljke. Ipak, kako izvještavaju Archetti i sur. (2009), ne potvrđuju sva istraživanja koevolucijsku teoriju. Schaefer i Rolshausen proveli su istraživanje na 29 jedinki roda *Sorbus* koje su naizmjenično

obojali crvenom i zelenom bojom. Prilikom istraživanja nije uočena preferencija lisnih uši za zeleno obojene listove (Schaefer i Rolshausen, 2007).

Postoji još niz zanimljivih primjera signalne uloge antocijana u zaštiti od herbivora. Hipoteza aposemije pretpostavlja da su cvjetovi i plodovi otrovnih biljaka kao i trnje nekih biljaka crveno obojeni kao upozorenje herbivorima na njihovu opasnost (Lev-Yadun i Gould, 2009). (Slika 5.)



Slika 5. Crveno obojeno trnje ruže upozorava herbivore na opasnost. Preuzeto iz Lev-Yadun i Gould (2009).

Hipoteza mimikrije objašnjava crvenu obojenost biljnih organa pokušajem imitiranja opasnih organizama. Mimikrija je općenito pojava gdje neki organizam imitira model (drugi organizam, neživi objekt ili funkciju) s ciljem da se zaštiti od napada predatora (Wiens, 1978). Kod biljaka nalazimo različite strategije mimikrije, kao npr. imitiranje crveno obojenog trnja izduženim listovima, pupovima ili plodovima koji sadrže antocijane (Slika 6.) kod vrste *Erodium lacinatum* (Cav.) Willd. ssp. *lacinatum*) (Lev-Yadun, 2003). Neke biljke stvaraju uzorke na cvjetovima kojima imitiraju izgled kukaca- mrava, lisnih uši i aposemantičkih otrovnih gusjenica (Slika 7.) čime odbijaju herbivorne kukce koji izbjegavaju kompeticiju (Lev-Yadun i Inbar, 2002).



Slika 6. Izduženi, od antocijana crveni plodovi *Erodium lacinatum* (Cav.) Willd. ssp. *lacinatum* koji imitiraju trnje. Preuzeto iz Lev-Yadun (2003).



Slika 7. Skoro dozrele mahune vrste *Lathyrus ochrus* (L.) DC. s crvenkastim mrljama izgledom podsjećaju na gusjenice. Preuzeto iz Lev Yadun i Inbar (2002).

Nadalje, crveno obojenje može služiti za razotkrivanje (eng. undermining) kamuflaže herbivornih kukaca, primjerice skakavaca ili lisnih uši zelene boje (Lev-Yadun i sur., 2004). Ova hipoteza nije u potpunosti prihvaćena jer neki znanstvenici smatraju da raznoliko obojenje pozadine povećava kriptičnost herbivornih kukaca (Merilaita, 2003). Odgovor vjerojatno leži u omjeru veličine tijela kukca i mrlja različitih boja na listovima. Ako je taj omjer veći od jedan kukci se uspješno kamufliraju, a ako je manji vidljivi su predatorima (Lev-Yadun i Gould, 2009).

Schaefer i Rolshausen (2006), kao sintezu istraživanja koevolucijske teorije i hipoteze o razotkrivanju kamuflaže, predložili su tzv. hipotezu o ukazivanju na zaštitu (eng. defense indication hypothesis). Naime prethodno se smatralo da se obojenost listova javila kao odgovor na herbivorne kukce (Archetti, 2000; Lev-Yadun i sur., 2004; Schaefer i Rolshausen, 2006, Archetti i sur., 2009). Ovi autori predlažu da su antocijani evoluirali kao odgovor biljke na abiotički stres, ali, budući da imaju zajednički fenilpropanoidni biosintetski put kao brojni drugi obrambeni fenoli, pojačana sinteza antocijana ujedno dovodi do povišene razine drugih obrambenih fenola. Zaštita biljke od herbivora uzrokovana antocijanima na taj bi način bila rezultat pleiotropnog učinka (Schaefer i Rolshausen, 2006).

3. ZAKLJUČAK

Mnoga istraživanja pokazala su da se antocijani u listovima akumuliraju kao odgovor na stresne uvjete u okolišu što navodi na zaključak da služe kao vid kratkotrajne zaštite, međutim do danas nije jasno koja je točno njihova uloga u obrani od stresa. Najvjerojatnijima se čine hipoteze da služe zaštitu od fotoinhibicije te da imaju antiherbivornu ulogu.

Hipoteza o zaštiti od fotoinhibicije može s fiziološkog stajališta najbolje objasniti akumulaciju antocijana kao odgovor na različite nepovoljne uvjete iz okoliša (nisku temperaturu, sušu, jaku svjetlost, nedostatak nutrijenata, ranjavanje i dr.) jer svi oni dovode do oštećenja fotosintetskog aparata.

S evolucijskog stajališta zagovara se antiherbivorna uloga, a poseban naglasak stavlja se na koevolucijsku teoriju u proučavanju razvoja jesenske obojenosti lišća. Koevolucijska teorija pretpostavlja da je došlo do koevolucije crvene jesenske boje lišća i preferencije kukaca za zelenu boju .

S obzirom na velik broj čimbenika koji potiču akumulaciju antocijana, vjerojatno je i da imaju više uloga. Hipoteza o ukazivanju na zaštitu predstavlja pokušaj sinteze dosadašnjih istraživanja i interdisciplinarni pogled na problematiku uloge antocijana u stresu jer se njome pretpostavlja da su antocijani prvo imali ulogu u obrani od abiotičkog stresa, ali da, budući da

dijele sintetski put s ostalim fenolima, ujedno omogućavaju zaštitu biljke od herbivora zbog visoke razine sintetiziranih obrambenih fenola.

Problem je što za sve postavljene hipoteze postoji podjednak broj eksperimenata koji su ih potvrdili kao i onih koji su ih odbacili. Većina istraživanja i objavljenih radova datira s kraja dvadesetog i početka dvadesetprvog stoljeća. Neko vrijeme ovaj je problem bio zanemaren, ali u posljednjih nekoliko godina istraživanja su se nastavila. Kako bi se otkrila točna uloga antocijana potrebno je provesti još puno istraživanja na velikom broju različitih biljnih vrsta. Također, potrebna je suradnja između biologa specijaliziranih za različita polja, primjerice za fiziologiju bilja ili za evoluciju kako bi se problematika mogla sagledati iz svih kuteva.

4. LITERATURA

- Archetti, M. 2000: The origin of autumn colours by coevolution. *Journal of Theoretical Biology* **205**: 625-630.
- Archetti, M., Döring, T.F., Hagen, S.B., Hughes, N.M., Leather, S.R., Lee, D.W., Lev-Yadun, S., Manetas, Y., Ougham, H.J., Schaberg, P.G., Thomas, H. 2009: Unravelling the evolution of autumn colours: an interdisciplinary approach. *Trends in Ecology and Evolution* **24**: 166-173.
- Archetti, M., Leather, S.R. 2005: A test of the coevolution theory of autumn colours: colour preference of *Rhopalosiphum padi* on *Prunus padus*. *Oikos* **110**: 339-343.
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. 2000: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, Rockville, SAD.
- Burger, J., Edwards, G.E. 1996: Photosynthetic efficiency, and photodamage by UV and visible radiation, in red versus green *Coleus* varieties. *Plant and Cell Physiology* **37**: 395-399.
- Chalker-Scott, L. 1999: Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology* **70**: 1-9.
- Christ, B., Hörtensteiner, S. 2014: Mechanism and significance of chlorophyll breakdown. *Journal of Plant Growth Regulation*, **33**: 4-20.
- Dominy, N.J., Lucas, P.W., Ramsden, L.W., Riba-Hernandez, P., Stoner, K.E., Turner, I.M. 2002: Why are young leaves red? *OIKOS* **98**: 163–176.
- Facelli, J.M. 1993: Experimental evaluation of the foliar flag hypothesis using fruits of *Rhus glabra* L. *Oecologia* **93**: 70-72.
- Feild, T.S., Lee, D.W., Hoolbrook, N.M. 2001: Why leaves turn red in autumn. the role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology* Vol. **127**: 566–574.
- Gould, K., 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 and Environment* **25**: 1261–1269.
- Harborne, 1958: Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochemical Journal*. **70**: 22–28.
- Hoch, W.A., Zeldin, E.L., McCown, B.H. 2001: Physiological significance of anthocyanins during autumnal leaf senescence. *Tree Physiology* **21**: 1–8.
- Hrazdina, G., Wagner, G. J., Siegelman, H. W. 1978: Subcellular localization of enzymes of anthocyanin biosynthesis in protoplasts. *Phytochemistry* **17**: 53-56.

- Hughes, N.M. 2011: Winter leaf reddening in 'evergreen' species. *New Phytologist* **190**: 573–581.
- Juniper, B.E. 1994: Flamboyant flushes: a reinterpretation of non-green flush colours in leaves. *International Dendrological Society Yearbook 1993*. International Dendrological Society, London, UK
- Karageorgou, P., Manetas, Y. 2006: The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light. *Tree Physiology* **26**: 613–621.
- Kerr, L.D., Gravatt, D.A., Wiggers, R.J. 2018: The effects of ultraviolet light on anthocyanin accumulation in the adventitious roots of *Sedum wrightii* (Crassulaceae). *Annals of Biological Sciences* **6**:1-7.
- Kovinich, N., Kayanja, G., Chanoca, A., Otegui, M.S., Grotewold, E. 2015: Abiotic stresses induce different localizations of anthocyanins in Arabidopsis. *Plant Signaling & Behavior* **10**: e1027850.
- Krieger-Liszkay, A. 2005: Singlet oxygen production in photosynthesis. *Journal of Environmental Botany* **56**: 337–346.
- Lee, D.W., O'Keefe, J., Hoolbrook, N.M., Feild, T.S. 2003: Pigment dynamics and autumn leaf senescence in a New England deciduous forest, eastern USA. *Ecological Research* **18**: 677–694.
- Lev-Yadun, S., Gould, K. 2009: Role of anthocyanins in plant defence; U: Gould, K., Davies, K.M., Winefield, C. (ur.) *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*, 1. izdanje, Springer-Verlag New York, New York, SAD.
- Lev-Yadun, S., Dafni, A., Flaishman, M.A., Inbar, M., Izhaki, I., Katzir, G., Ne'eman, G. 2004: Plant coloration undermines herbivorous insect camouflage. *BioEssays* **26**: 1126-1130.
- Lev-Yadun, S. 2003: Weapon (thorn) automimicry and mimicry of aposematic colorful thorns in plants. *Journal of Theoretical Biology* **224**: 183–188.
- Lev-Yadun, S., Inbar, M. 2002: Defensive ant, aphid and caterpillar mimicry in plants. *Biological Journal of the Linnean Society*. **77**: 393-397.
- Liu, Y., Tikunov, Y., Schouten, R.E., Micelis, L.F.M., Visser, R.G.F., Bovy, A. 2018: Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in solanaceous vegetables: a review. *Frontiers in Chemistry* **6**:52.
- Lüttge, U. 1997: *Physiological ecology of tropical plants*. 1. izdanje . Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Manetas, Y. 2006: Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red? *Flora* **201**: 163–177.
- Merilaita, S. 2003: Visual background complexity facilitates the evolution of camouflage. *Evolution* **57**: 1248-1254.

- Ördög, V., Molnár, Z. 2011: Plant physiology. Debreceni Egyetem, Nyugat-Magyarországi Egyetem, Pannon Egyetem, Debrecen, Mađarska.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. 2016: Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* **5**: e47.
- Pevalek-Kozlina, B. 2003: Fiziologija bilja, 1. izdanje, Profil International, Zagreb, Hrvatska.
- Schaefer, H.M., Rolshausen, G. 2007. Aphids do not attend to leaf colour as visual signal, but to the handicap of reproductive investment. *Biology Letters* **3**: 1–4.
- Schaefer, H.M., Rolshausen, G. 2006. Plants on red alert: do insects pay attention? *Bioessays* **28**: 65-71.
- Steyn, W.J., Wand, S.J.E., Holcroft, D.M., Jacobs, G. 2002: Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist* **155**: 349–361.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2002: Plant Physiology, 3. izdanje, Sinauer Associates, Sunderland, SAD.
- Trojak, M., Skowron, E. Role of anthocyanins in high-light stress response. *World Scientific News* **81**: 150-168.
- Wiens, D. 1978: Mimicry in Plants; U: Hecht, M.K., Steere, W.C., Wallace, B. (ur.): *Evolutionary biology*, **11**. 1. izdanje, Springer, Boston, MA, SAD.
- Woodall, G.S., Stewart, G.R. 1998: Do anthocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of *Syzygium*? *Journal of Experimental Botany* **49**: 1447–1450.
- Wrolstad, RE. 2004: Anthocyanin pigments—Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science* **69**: C 419-C 425.
- Yamasaki, H., Sakihama, Y., Ikehara, N. 1997: Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiology* **115**: 1405–1412.
- Zhang, T.J., Chow, W.S., Liu, X.T., Zhang, P., Liu, N., Peng, C.L. 2016: A magic red coat on the surface of young leaves: anthocyanins distributed in trichome layer protect *Castanopsis fissa* leaves from photoinhibition. *Tree physiology* **36**: 1296-1306.

5. SAŽETAK

Antocijani su crveno, ružičasto do plavo obojeni biljni pigmenti koji se ubrajaju među biljne fenolne spojeve. Nakupljaju se u vakuoli biljne stanice te je poznato da daju boju plodovima i laticama te privlače oprašivače odnosno rasprostranjivače. Također, primjećeno je da se antocijani sintetiziraju pri stresnim uvjetima u okolišu, kao što su primjerice niska temperatura, vodni stres i jako osvjetljenje, te se privremeno nakupljaju u stanici. U nizu provedenih istraživanja pretpostavljena je njihova uloga u zaštiti od abiotičkog i biotičkog stresa. Postoji više različitih hipoteza koje govore da mogu imati ulogu u zaštiti od fotoinhibicije, zaštiti od smrzavanja, zaštiti od UVB zračenja, zaštiti od herbivora ili da imaju ulogu antioksidansa. Međutim, dosada niti jedna hipoteza nije eksperimentalno potvrđena iako se najvjerojatnijom čini pretpostavka da štite fotosintetski aparat od fotoinhibicije. Stoga su potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razjasnila uloga antocijana u stresnim uvjetima kod biljaka.

6. SUMMARY

Anthocyanins are phenolic plant pigments that may appear red, blue or purple. They are water-soluble and are found in the vacuoles of plant cells. The coloration of petals and fruits of numerous species, which is due to anthocyanins, helps those species attract pollinators and seed dispersers. However, it appears as though anthocyanins should have a role in protecting the plant from stress because it was found that they are synthesized in stressful conditions, for example during drought, cold temperatures or in high light conditions. Numerous studies were conducted but it was never experimentally confirmed what exactly was the role of anthocyanins in plant stress. Possible explanations include protection from photoinhibition, protection from freezing, protection from UVB radiation, protection from herbivores and protection from oxidative stress. The hypothesis that they serve as protectors from photoinhibition of photosynthetic apparatus seems most plausible at the moment. Further research is needed in order to discover the role of anthocyanins in plant stress response.