Anatomska građa lista i trihoma te protuvirusno djelovanje hidrolata vrste Inula spiraeifolia L.

Radnić, Gabriela

Master's thesis / Diplomski rad (sveučilišni)

2025

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:683687

Rights / Prava: Zaštićeno autorskim pravom. / In copyright.

Download date / Datum preuzimanja: **2026-09-07**

Repository / Repozitorij:

Digital Repository of Faculty of Science in Split / Digitalni repozitorij Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Splitu

Dabar

SVEUČILIŠTE U SPLITU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Odjel za biologiju

DIPLOMSKI RAD

ANATOMSKA GRAĐA LISTA I TRIHOMA TE PROTUVIRUSNO DJELOVANJE HIDROLATA VRSTE *Inula spiraeifolia* L.

Gabriela Radnić

Split, rujan 2025.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja magistra edukacije biologije i kemije (mag. educ. biol. et chem.).

Zahvala

Veliko hvala mojoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Elmi Vuko na stručnom vodstvu, strpljenju i korisnim savjetima prilikom izrade ovog diplomskog rada. Velika mi je čast i zadovoljstvo što sam imala priliku učiti i surađivati s Vama.

Najveće hvala mojoj obitelji i prijateljima na neizmjernoj podršci, razumijevanju i motivaciji tijekom cijelog mog studiranja. Učinili ste ovo putovanje mnogo lakšim, ispunjenijim i ljepšim.

IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam diplomski rad s naslovom „ANATOMSKA GRAĐA LISTA I TRIHOMA TE PROTUVIRUSNO DJELOVANJE HIDROLATA VRSTE *Inula spiraeifolia* L.“ izradila samostalno pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko. U radu sam primijenila metodologiju znanstveno-istraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju diplomskog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u diplomskom radu na uobičajen, standardan način, citirala sam navodeći korištene bibliografske jedinice. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica

Gabriela Radnić

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za biologiju
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

Diplomski rad

ANATOMSKA GRAĐA LISTA I TRIHOMA TE PROTUVIRUSNO DJELOVANJE HIDROLATA VRSTE *Inula spiraeifolia* L.

Gabriela Radnić

Inula spiraeifolia L. (Asteraceae) je submediteranska vrsta rasprostranjena u južnoj i istočnoj Europi. Unutar podtribusa Inulinae, rod *Inula* L. ubraja se među taksonomski značajnije rodove i obuhvaća približno 100 opisanih vrsta. Budući da je vrsta *I. spiraeifolia* u literaturi vrlo oskudno opisana, u okviru ovog istraživanja provedena je analiza anatomske građe lista korištenjem svjetlosne mikroskopije. List pokazuje dorziventralnu građu, a u mezofilu lista su po prvi put opisani sekretorni kanali okruženi sekretornim stanicama. Na gornjoj i donjoj epidermi prisutni su žljezdani i nežljezdani trihomi, pri čemu nežljezdani trihomi, smješteni na rubu lista, stvaraju karakterističnu nazubljenost. Nežljezdani trihomi na donjoj plojci dominantno prate tok glavnih lisnih žila i sastavljeni su od živih bazalnih stanica te izduženih apikalnih stanica ispunjenih zrakom. Žljezdani trihomi sastavljeni su od bazalnog dijela, drške i okruglaste žljezdane stanice sa značajkama sekretornih stanica. Kao netoksične i ekološki prihvatljive otopine hlapljivih spojeva, hidrolati aromatičnih biljaka privlače sve veću znanstvenu pozornost. U ovom istraživanju po prvi puta je ispitan učinak hidrolata vrste *I. spiraeifolia* na razvoj infekcije uzrokovane virusom mozaika duhana (TMV). Uz predtretman hidrolatom, utvrđena je umjerena inhibicija lokalnih simptoma na listovima zaraženih biljaka, što predstavlja novi podatak o biološkoj aktivnosti hlapljivih spojeva ove vrste. Sveukupno, rezultati ovog rada doprinose potpunijem morfološkom opisu vrste *I. spiraeifolia* unutar roda *Inula* i sugeriraju potencijal za daljnja istraživanja bioloških aktivnosti aromatičnih biljaka.

Ključne riječi: *Inula spiraeifolia* L., žljezdani i nežljezdani trihomi, hidrolati, protuvirusna aktivnost, virus mozaika duhana

Rad sadrži: 55 + VII stranica, 14 grafičkih prikaza, 2 tablice i 37 literaturnih navoda.

Mentor: **Izv. prof. dr. sc. Elma Vuko**, *Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu*

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. **izv. prof. dr. sc. Elma Vuko**, *Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu*
2. **prof. dr. sc. Ivana Bočina**, *Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu*
3. **dr. sc. Juraj Kamenjarin**, *Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu*

Datum obrane**: 30. rujna 2025.**

Rad je napisan na hrvatskom jeziku i pohranjen u repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Splitu, koji je dio nacionalnog repozitorijskog sustava Dabar.

University of Split Thesis

Faculty of Science
Department of biology
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

ANATOMICAL STRUCTURE OF THE LEAVES AND TRICHOMES AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF *Inula spiraeifolia* L.

Gabriela Radnić

Inula spiraeifolia L. (Asteraceae) is a sub-Mediterranean species distributed in southern and eastern Europe. Within the subtribe Inulinae, the genus *Inula* L. belongs to the taxonomically important genera and comprises about 100 described species. Since the species *I. spiraeifolia* is only sparsely described in the literature, a light microscopic analysis of the anatomical structure of the leaf was carried out in this study. The leaf has a dorsiventral structure, and secretory ducts surrounded by secretory cells were found in the mesophyll for the first time. Glandular and non-glandular trichomes are present on the upper and lower epidermis, with the non-glandular trichomes having a characteristic serration on the leaf margin. The non-glandular trichomes on the underside of the leaf mainly follow the course of the main leaf veins and consist of living basal cells and elongated, air-filled apical cells. Glandular trichomes consist of a basal part, a stalk and a round glandular cell with characteristics of secretory cells. As non-toxic and environmentally friendly solutions of volatile compounds, hydrosols of aromatic plants are receiving increasing scientific attention. In this study, the effect of *I. spiraeifolia* hydrosol on the development of tobacco mosaic virus (TMV) infection was investigated for the first time. After pretreatment with hydrosol, a moderate inhibition of local symptoms was observed on the leaves of infected plants, providing new information on the biological activity of the volatile compounds of this species. Overall, the results of this study contribute to a more precise morphological description of the species *I. spiraeifolia* within the genus *Inula* and show the potential for further research on the biological activity of aromatic plants.

Key words: *Inula spiraeifolia* L., glandular and non-glandular trichomes, hydrosol, antiphytoviral activity, tobacco mosaic virus (TMV)

Thesis contains: 55 + VII pages, 14 figures, 2 tables and 37 references

Thesis Supervisor: Elma Vuko, *PhD*, *Associate professor, Faculty of Science in Split*

Master's Thesis Evaluation and Defense Committee:

1. **Elma Vuko**, *PhD, Associate professor, Faculty of Science in Split*
2. **Ivana Bočina**, *PhD, Full Professor, Faculty of Science in Split*
3. **Juraj Kamenjarin**, *PhD, Senior lecturer, Faculty of Science in Split*

Defence date**: 11 September 2025**

The thesis is written in Croatian and deposited in the repository of the University of Split, Faculty of Science, which is part of the national repository system, Dabar.

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Literaturni pregled 3
2.1. Porodica Asteraceae 3
2.2. Rod Inula L. 4
2.3. Inula spiraeifolia L. 4
2.3.1. Sistematika vrste 4
2.3.2. Opća i morfološka obilježja vrste 5
2.4. Anatomska građa lista 6
2.5. Trihomi i njihova uloga kod biljaka 7
2.6. Metode analize trihoma 8
2.7. Sekundarni metaboliti 8
2.8. Hidrolati 9
2.9. Protuvirusna aktivnost biljnih metabolita 10
2.10. Virus mozaika duhana 11
3. Materijali i metode 13
3.1. Prikupljanje biljnog materijala 13
3.2. Priprema hidrolata 14
3.3. Uzgoj eksperimentalnih biljaka i ispitivanje protuvirusne aktivnosti 15
3.4. Mikroskopska analiza lista 16
4. Rezultati 17
4.1. Anatomska građa lista 17
4.2. Protuvirusna aktivnost 26
5. Rasprava 30
6. Zaključak 35
7. Literatura 37

Popis slika..... 41

Popis tablica..... 43

8. Metodički dio..... 44

1. Uvod

Inula spiraeifolia L. (Asteraceae) je submediteranska vrsta porijeklom iz južne i istočne Europe. Unutar podtribusa Inulinae, rod *Inula* L., koji obuhvaća oko 100 vrsta, ubraja se među najznačajnije. Budući da dosad nije utvrđena niti jedna morfološka osobina zajednička svim pripadnicima roda, njegova je taksonomska razrada još uvijek izazovna (Karanović, 2018). Asteraceae su ekonomski značajna porodica, jer se njeni predstavnici koriste u svakodnevnoj prehrani i kulinarstvu, nekoliko rodova ima i hortikulturnu vrijednost, a značajne su i u tradicionalnoj medicini. Iako je sama porodica dobro opisana, za ovu vrstu nalazimo ograničen broj podataka i pripadajućih znanstvenih radova. *I. spiraeifolia* je višegodišnja zeljasta biljka, visine od oko 30–60 cm, uspravne stabljike, jednostavne ili slabo razgranate, žutih cvjetova, skupljenih u glavice, tipične za porodicu Asteraceae. Raste u jugoistočnoj Europi, na suhim livadama, kamenjarima, pašnjacima i svijetlim šumama, često na vapnenačkoj podlozi, preferira sunčana i topla staništa, uglavnom na većim nadmorskim visinama.

Trihomi su često obilježje porodice Asteraceae te mogu sadržavati eterična ulja ili druge spojeve koji biljkama daju karakterističan miris ili okus. Porodicu karakterizira izvanredna raznolikost trihoma što je dovelo do upotrebe istog naziva za različite vrste trihoma i različitih naziva za istu vrstu trihoma (Katinas, 2025). *I. spiraeifolia* ima ograničen areal pa je samim time i slabije istražena. Pregledom literature ne nalazimo podatake o tradicionalnoj medicinskoj upotrebi ove vrste, iako je rod *Inula* poznat po vrstama koje imaju ljekovita svojstva. Ograničen broj znanstvenih radova opisuje anatomsku građu ove vrste te izgled i distribuciju trihoma (Karanović, 2018), a neistražen je i njen fitokemijski sastav te potencijalne biološke aktivnosti njenih metabolita. Stoga je cilj ovog rada opisati anatomsku građu lista i trihoma vrste *I. spiraeifolia* kako bi nadogradili i upotpunili postojeća saznanja koja mogu pomoći u identifikaciji ove vrste unutar roda *Inula*.

Kao i brojni drugi pripadnici porodice Asteraceae, *I. spiraeifolia* je aromatična biljka i sadrži hlapljive tvari koje pripadaju sekundarnim (specijaliziranim) biljnim metabolitima koji joj daju karakterističan miris. Iako je njena fitokemija slabo istražena, unutar roda *Inula* nalazimo podatke o sadržaju terpenoida, posebice seskviterpenskih laktona i komponenti

eteričnih ulja, koji imaju višestruke ekološke funkcije. Navedeno uključuje obranu od biljojeda i patogena, alelopatsko djelovanje te ulogu u kemijskoj komunikaciji s okolišem. Osim uloge u adaptaciji biljke na abiotske i biotske stresore, hlapljive tvari pokazuju potencijalnu primjenu u farmaceutskim i kozmetičkim pripravcima zbog svojih antimikrobnih, protuupalnih i antioksidativnih svojstava (Seca i sur., 2015, Khan i sur., 2010). Hlapljive biljne tvari su i danas predmet brojnih znanstvenih istraživanja, što je dovelo do sve snažnijeg interesa za potencijal kojeg imaju aromatične biljke (Sun i sur., 2021, Vuko i sur. 2021b, 2022). Kod vrsta koje pripadaju rodu *Inula*, eterična ulja se nalaze u listovima, stabljikama i rizomima, iako se kod mnogih vrsta biosinteza prvenstveno odvija u podzemnim organima. S obzirom na rastući interes naspram netoksičnih i ekološki prihvatljivih pripravaka, hidrolati, nusprodukti u vodenoj destilaciji eteričnih ulja, se ističu kao perspektivne, ali još uvijek nedovoljno istražene prirodne smjese hlapljivih spojeva. Zahvaljujući njihovoj antimikrobnoj i antioksidativnoj, te u novije vrijeme opisanoj protufitovirusnoj aktivnosti, hidrolati se nameću kao sredstva koja će u budućnosti još više naći primjenu u prirodno orijentiranim i održivim proizvodima (Almeida i sur., 2024).

Stoga je, kao drugi cilj ovog rada, provedeno ispitivanje biološke aktivnosti hidrolata vrste *I. spiraeifolia*. Poznato je da primjena hidrolata dobivenih destilacijom pojedinih aromatičnih biljnih vrsta smanjuje lokalnu i/ili sistemičnu virusnu infekciju. Stoga je u sklopu ovog rada po prvi puta istražen protuvirusni učinak hidrolata vrste *I. spiraeifolia* na razvoj infekcije uzrokovane virusom mozaika duhana (*tobacco mosaic virus*, TMV). Rezultati su doprinos razumijevanju uloge hlapljivih tvari u obrani biljke od patogena te upućuju na mogućnost primjene dosada slabo prepoznatih aromatičnih biljaka u svakodnevnom životu i biološkoj zaštiti bilja.

Istraživanja anatomske građe lista te prisustva i izgleda trihoma, u kombinaciji s ispitivanjem biološke aktivnosti hidrolata, pružaju temeljna znanja o anatomiji i biološkoj aktivnosti hlapljivih spojeva vrste *I. spiraeifolia* te ujedno otvaraju mogućnost za daljnju identifikaciju biljnih bioaktivnih spojeva. U kontekstu vrste *I. spiraeifolia*, takav pristup omogućava valorizaciju slabo istraženih aromatičnih biljaka i njihovu potencijalnu primjenu u razvoju prirodnih, ekološki prihvatljivih sredstava za zaštitu bilja.

2. Literaturni pregled

2.1. Porodica Asteraceae

Porodica glavočike ili zvjezdanovke (Asteraceae) jedna je od najvećih porodica u biljnom svijetu i sadrži oko 1600 rodova i više od 25000 vrsta diljem svijeta. Morfologija biljaka je raznolika, porodici većinom pripadaju jednogodišnje ili dvogodišnje zeljaste biljke, a rjeđe drvenaste biljke (grmovi i polugrmovi). Mnogobrojni sitni cvjetovi gusto su smješteni jedan do drugoga, tvoreći cvat koji se naziva glavica. Na rubovima su često jezičasti cvjetovi, a u sredini cjevasti. Listovi su im najčešće jednostavni, ponekad sastavljeni, te izmjenično i nasuprotno raspoređeni. Plod je roška (Domitrović, 2015).

U klasifikaciji glavočika, često se analiziraju sekretorni kanali, žljezdani i nežljezdani trihomi, mlječni kanali te provodne žile. U determinaciji su važni i sekundarnih metaboliti, koje pripadnici ove porodice obilno stvaraju, primjerice monoterpeni, diterpeni, triterpeni, seskviterpeni, fenolne kiseline, flavonoidi, poliacetileni, seskviterpenski laktoni i sl. Ovi metaboliti imaju ključnu ulogu u obrani biljke, privlačenju oprašivača te prilagodbi okolišu (Karanović, 2018).

Jedna od prepoznatljivih fizioloških karakteristika porodice je prisustvo inulina, rezervnog polisaharida koji se u velikim količinama pohranjuje u korijenu, dok je u nadzemnim organima njegova prisutnost zanemariva. Zahvaljujući navedenom složenom kemijskom sastavu, mnogi pripadnici porodice imaju značajnu farmakološku vrijednost te se tradicionalno i suvremeno koriste u medicinske svrhe (Karanović, 2018).

Vrste porodice Asteraceae kozmopolitski su rasprostranjene diljem svijeta. Posebice su dobro zastupljene u šumskim vegetacijama, kao i u vegetaciji planinskih područja, a slabije u vlažnim tropskim šumama. Većina biljaka koje pripadaju porodici Asteraceae pokazuju širok raspon protuupalnih, antimikrobnih, hepatoprotektivnih i antioksidativnih aktivnosti (Rolnik i Olas, 2021).

2.2. Rod Inula L.

Rodu *Inula* L. (Asteraceae) pripada oko 100 biljnih vrsta rasprostranjenih uglavnom u umjerenom pojasu, diljem Europe, Afrike i Azije. Za rast i razvoj biljaka ovog roda najpogodnija su sunčana, suha ili umjereno vlažna staništa poput livada, rubova šuma, planinskih padina, a ponekad i kamenjara. Rod *Inula* čine višegodišnje zeljaste biljke ili mali grmovi, karakterističnih cvjetova žute boje. Stabljika je uspravna, često dlakava, a može biti jednostavna ili razgranata. Listovi su nerazdijeljeni i naizmjenično smješteni te često prekriveni dlačicama. Plodovi su roške s kunadrom (Mustać, 2020).

Rod *Inula* poznat je po širokoj primjeni u tradicionalnoj medicini, što se pripisuje bogatom sadržaju biološki aktivnih spojeva poput seskviterpenskih laktona, diterpena, triterpena i flavonoida. Ovi spojevi doprinose izraženim antikancerogenim, antibakterijskim, antioksidativnim, hepaprotektivnim, citotoksičnim i protuupalnim svojstvima biljaka iz ovog roda (Ibadullayeva i sur., 2024).

2.3. Inula spiraeifolia L.

2.3.1. Sistematika vrste

ODJELJAK: Spermatophyta (sjemenjače)

PODODJELJAK: Magnoliophytina (kritosjemenjače)

RAZRED: Magnoliatae (dvosupnice)

RED: Asterales (zvjezdanolike)

PORODICA: Asteraceae (glavočike)

ROD: *Inula* (oman)

VRSTA: *Inula spiraeifolia* (gustolisnati oman)

AUTOR: Carl von Linné

2.3.2. Opća i morfološka obilježja vrste

Inula spiraeifolia L. je submediteranska vrsta iz porodice Asteraceae, porijeklom iz južne i istočne Europe (Albanija, Bosna i Hercegovina, Bugarska, Korzika, Hrvatska, Francuska, Monako, Mađarska, Italija, Crna Gora, Sjeverna Makedonija, Rumunjska, Srbija, Slovenija, Švicarska, europski dio Turske). U Hrvatskoj uglavnom raste unutar submediteranske i euromediteranske zone. U tim mediteranskim regijama raste na suhim, alkalnim tlima siromašnim dušikom.

Zeljasta je biljka, visine od 20 do 60 centimetara. Stabljika je uspravna, rijetko dlakava, a listovi su jednostavni, najčešće lanceolatnog (kopljastog) oblika. Cvjetovi su karakteristične žute boje, smješteni u 3 – 10 cvjetnih glavica promjera 2 – 2,5 centimetra (Dosa, 2009).

Slika 1. Vrsta *I. spiraeifolia* (izvor: J.Kamenjarin)

2.4. Anatomska građa lista

List je biljni organ koji je, prema svojem podrijetlu, dio izdanka i većinom ima vegetativnu funkciju. Listovi su većinom zeleni i sudjeluju u važnim procesima poput fotosinteze i transpiracije. Mogu poprimiti različite oblike i funkcije, pa prema tome mogu služiti za penjanje, hvatanje, obranu ili prihvaćanje. Zahvaljujući raznim anatomskim i morfološkim prilagodbama, listovi pokazuju iznimnu raznolikost u obliku, veličini i građi. Ta varijabilnost prisutna je unutar jedne porodice, roda vrste, ali čak i jedinki (Nikolić, 2017).

List je obložen epidermom, primarnim kožnim tkivom, koja je kod većine biljaka građena od jednog sloja stanica. Epidermalne stanice su uglavnom pločaste, izodijametralne ili izdužene, a veličinom se mogu razlikovati ovisno o dijelu lista na kojem se nalaze. Kod nekih biljaka prisutne su velike epidermalne stanice koje mogu imati ulogu u otvaranju listova prilikom promjene turgora, dok neke malene epidermalne stanice često sudjeluju u izgradnji baze dlaka. Prostor između gornje i donje epiderme ispunjava mezofil, koji je najčešće podijeljen u dva sloja. Ispod gornje epiderme nalazi se asimilacijski ili palisadni parenhim, sastavljen od jednog ili više slojeva gusto zbijenih stanica bogatih kloroplastima. Ispod palisadnog parenhima slijedi spužvasti parenhim, građen od nepravilno oblikovanih stanica razdvojenih širokim međustaničnim prostorima koji su povezani s pučima. Na taj način osigurana je laka izmjena plinova između palisadnog parenhima i okoline (Nikolić, 2017).

Provodno tkivo lista obuhvaća provodne snopove ili žile. Provodna tkiva, ksilem i floem, nastaju iz specijaliziranih matičnih stanica koje se nazivaju (pro)kambij. Ksilem je okrenut adaksijalno, što odgovara gornjoj srani lista te prenosi uglavnom vodu i mineralne tvari, a floem zauzima abaksijalni položaj, s donje strane lista, te prenosi asimilate i signalne molekule (Agusti i Blazquez, 2020).

2.5. Trihomi i njihova uloga kod biljaka

Trihomi su vanjske izrasline, odnosno jednostanični ili višestanični dodaci koji su produžetak različitih epidermalnih stanica na vegetativnim organima poput stabljike ili lista. Predstavljaju zaštitnu barijeru protiv raznih prirodnih opasnosti, kao što su biljojedi, patogeni, ultraljubičasto zračenje, ekstremne temperature, prekomjerna transpiracija i sl. Imaju važnu ulogu u razvoju biljaka te se javljaju kod velikog broja vrsta (Wang i sur., 2020).

Karakteristike trihoma te sastav tvari koje izlučuju, uvelike se razlikuju među vrstama imaju ulogu u klasifikaciji biljaka, kako bi se mogli razlikovati srodni rodovi ili vrste. Trihomi najčešće dijelimo na žljezdane i nežljezdane, što se najčešće veže uz proizvodnju i izlučivanje određenih, najčešće hlapljivih spojeva. Nežljezdani trihomi su najčešće mrtve, uglavnom jednostavne, ali mogu biti i razgranate izrasline na površini biljke, koje oblikom mogu biti duge, tanke, igličaste ili vlaknaste. Imaju ključnu ulogu u obrani biljaka tako što smanjuju transpiraciju, štite od intenzivnog sunčevog zračenja, povećavaju toleranciju na smrzavanje te štite od biljojeda (Gostin, 2023).

Žljezdani trihomi su žive, višestanične sekretorne strukture koje nastaju iz protodermalnih stanica. Mogu biti različitog oblika te izlučivati različite hlapljive i nehlapljive tvari koje pripadaju skupini specijaliziranih biljnih metabolita. Žljezdani trihomi nastaju zbog potrebe biljaka za zaštitom od različitih vanjskih utjecaja poput visoke temperature, suše, ultraljubičastog zračenja, patogena te biljojeda. Glavna karakteristika žljezdanih trihoma je sposobnost sinteze i akumulacije različitih spojeva primarnog i sekundarnog metabolizma (Muravnik, 2020).

Morfologija žljezdanih trihoma razlikuje se ovisno o taksonu kojem biljka pripada. Postoji više vrsta žljezdanih trihoma prema obliku, kao što su štitasti, cilindrični, ljuskavi, konusni i drugi. Također, žljezdani trihomi biljaka različitih taksonomskih skupina sadrže različite specijalizirane metabolite, koji su često karatkteristični za pojedine rodove, odnosno vrste. Za identifikaciju i analizu kemijskog sastava akumuliranih metabolita koristi se histokemija, imunocitokemija te različite tehnike analitičke kemije. Brojni histokemijski testovi i fluorescentni markeri omogućuju detekciju prisutnosti različitih skupina spojeva, kao što su lipidi, terpeni, seskviterpenski laktoni, flavonoidi, polifenoli i alkaloidi (Muravnik, 2020).

2.6. Metode analize trihoma

Analiza trihoma je važna iz nekoliko razloga:

1. **Identifikacija i klasifikacija vrste** – trihomi imaju ulogu u identifikaciji i klasifikaciji biljaka, posebno kod sličnih vrsta, oblik veličina i raspored često mogu biti karakteristični za određene vrste ili rodove biljaka (Ma i sur., 2016).
2. **Određivanje zrelosti biljke** – trihomi mijenjaju izgled tijekom rasta biljke, pa mogu biti prozirni, mliječni te jantarni (žućkasti) (Sutton i sur., 2023).
3. **Procjena kemijskog sastava** – žljezdani trihomi proizvode eterična ulja, terpene, alkaloide, smole i sl., pa se analizom može utvrditi koncentracija i vrsta tih spojeva što je važno za farmaceutsku i kozmetičku industriju, medicinsku primjenu te znanstvena istraživanja (Glas i sur., 2012).
4. **Procjena otpornosti na bolesti i štetnike** – struktura i gustoća trihoma može imati utjecaj na prirodnu otpornost biljke, pa su biljke s više trihoma često otpornije na UV zračenja te različite nametnike poput insekata, gljivica i sl. (Kaur i sur., 2023).

Analizom trihoma povezuje se biološki razvoj biljke s njenom kemijskom vrijednosti. Metode analize trihoma ovise o cilju analize, ovisno je li naglasak na kemijskoj analizi ili na samom promatranju strukture i oblika trihoma, o vrsti trihoma budući da su žljezdani trihomi bogatiji kemijskim spojevima, o točnosti i preciznosti analize te o dostupnoj opremi. Postoji nekoliko metoda za analizu trihoma, kao što je svjetlosna mikroskopija, elektronska mikroskopija, spektroskopske metode te plinska i tekućinska kromatografija (Wang i sur., 2021).

2.7. Sekundarni metaboliti

Biljke su evolucijom razvile niz strategija prilagodbe uvjetima u okolišu, među kojima se ističu obrambeni mehanizmi protiv štetnika i patogena. Jedan od ključnih mehanizama čini sinteza sekundarnih metabolita koji imaju ulogu u obrani od različitih štetnika i patogena kod nekoliko biljnih vrsta. Kao odgovor na napad, biljke aktiviraju biosintezu različitih metabolita s ciljem suzbijanja daljnje invazije biotičkih stresora. Sekundarni metaboliti biosinetiziraju se putem specijaliziranih metaboličkih puteva u

biljkama. Prirodna selekcija omogućila je biljkama prilagodbu specifičnim okolišnim uvjetima, čime se povećava njihova otpornost na biotičke i abiotičke stresore. Biljke koje proizvode veće količine sekundarnih metabolita obično pokazuju viši stupanj otpornosti na štetne organizme u usporedbi s onima koje ih proizvode u manjim količinama (Badmi i sur., 2023).

Sekundarni metaboliti mogu se klasificirati prema različitim kriterijima, uključujući njihovu kemijsku strukturu, topljivost u različitim otapalima te prema biosintetskim putovima kojima nastaju. Na temelju kemijske strukture, biljni sekundarni metaboliti najčešće se svrstavaju u četiri glavne skupine: terpene, fenole, poliketide i alkaloide. Dodatno se klasificiraju i kao: terpeni i terpenoidi, fenolni spojevi, alkaloidi te spojevi koji sadrže sumpor (Rami i sur., 2021).

2.8. Hidrolati

Hidrolati, poznati i kao hidrosoli, cvjetne vodice i aromatične vode, nastaju kao produkt kondenzacije tijekom destilacije eteričnih ulja. Koloidne su suspenzije koje se sastoje od kontinuirane faze, destilirane vode i disperzne faze, odnosno emulzije kapljica eteričnog ulja i komponenti topljivih u vodi. Sastav hidrolata je većinom istraživan na temelju njihovih hlapljivih sastojaka, te na osnovi različitih bioloških svojstava pokazuju potencijal u primjeni u prehrambenoj industriji, industriji pića te farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Tavares i sur., 2022).

Hidrolati su smjese koje sadrže vrlo mali udio aromatskih spojeva iz eteričnih ulja koji su topivi u vodi, te za razliku od čistih eteričnih ulja imaju umjerenu biološku aktivnost. Većina hidrolata su kisele tekućine, mirisa ugodnog do neugodnog te sličnog ili različitog od odgovarajućeg eteričnog ulja (Pavlović i sur., 2021).

Sličnost sastava hidrolata i eteričnog ulja uglavnom je uvjetovana odnosom ugljikovodika i oksigeniranih spojeva u eteričnom ulju. U slučajevima kada su glavni sastojci eteričnog ulja oksigenirani spojevi, stupanj sličnosti između hidrolata i eteričnog ulja je izrazito velik. S druge strane, kada dominiraju ugljikovodici, sastav hidrolata se značajno razlikuje od sastava eteričnog ulja. Kemijski sastav eteričnog ulja ovisi o nekoliko

faktora, poput staništa biljke, geografskog podrijetla, metodi ekstrakcije, sezoni prikupljanja biljnog materijala i slično (Aćimović i sur., 2020).

Biološka aktivnost hidrolata ovisi o prisutnim komponentama sa svojim karakterističnim funkcionalnim skupinama. Poznavanje kemijskog sastava biljnog materijala iz kojeg se ekstrahira eterično ulje, iznimno je važno za proučavanje i razumijevanje mehanizma njegove biološke aktivnosti. Istraživanje biološke aktivnosti hidrolata najvećim dijelom je usmjereno na protuupalno, antimikrobno te antivirusno djelovanje. Hidrolati imaju široku primjenu u kozmetičkoj industriji, u proizvodnji losiona, sapuna, krema i tonika. Također se mogu koristiti za aromatiziranje voćnih napitaka i slastica, konzerviranje hrane, dezinfekciju tijekom pranja svježe rezanog voća i povrća, za suzbijanje korova itd. Zbog različitih korisnih svojstava i primjena, njihova popularnost i dalje raste, posebno u aromaterapiji (Aćimović i sur., 2020).

2.9. Protuvirusna aktivnost biljnih metabolita

Ljekovita svojstva biljaka prepoznata su još od davnina pa su u tradicionalnoj medicini biljke, odnosno odgovarajući ekstrakti, često korištene za suzbijanje virusnih infekcija kod ljudi, ali i u biljnoj zaštiti, za očuvanje zdravlja usjeva i sprječavanju biljnih bolesti. Među takvim bioaktivnim biljnim spojevima se ističu flavonoidi, fenolne kiseline tanini i polifenoli, terprenoidi i eterična ulja, alkaloidi i sumporni spojevi koji su *in vitro* pokazali učinkovitost u obrani od različitih virusa (Vijayan i sur., 2004). Kliničke studije na ljudima su još uvijek ograničene pa je kod korištenja u medicinske svrhe potreban oprez zbog mogućih nuspojava i interakcija s lijekovima.

Hidrolati su predmet interesa u novije vrijeme, a nekoliko znanstvenih radova opisuje njihovu moguću primjenu u kontekstu zaštite biljaka od napada virusnih patogena. Kao netoksične i ekološki prihvatljive vodene otopine hlapljivih spojeva, hidrolati aromatičnih biljaka stoga se sve više nalaze u fokusu znanstvenih istraživanja. Oni su relativno lako dostupan i siguran prirodni izvor bioaktivnih tvari koje mogu djelovati kao kompleksna mješavina sastojaka s potencijalom zaštite biljaka i razvoja prirodnih

protuvirusnih pripravaka, čime se otvara prostor za njihovu širu primjenu u održivoj poljoprivredi i zaštiti bilja (Vuko i sur. 2021).

2.10. Virus mozaika duhana

Virus mozaika duhana (*tobacco mosaic virus*, TMV) jedan je od najpoznatijih i najistraživanijih biljnih virusa. Prvi je opisani virus kojeg je 1898. godine otkrio nizozemski mikrobiolog Martinus W. Beijerinck. TMV ima štapićasti oblik, dugačak je 300 nm i širok 18 nm. U unutrašnjosti kapside nalazi se virusni genom koji je kod TMV-a jednolančana pozitivna RNA molekula. TMV je virus s vrlo širokim rasponom domaćina te inficira više od 350 biljnih vrsta. Infekcija TMV-om značajno utječe na prinos i kvalitetu usjeva što uzrokuje izrazito velike ekonomske gubitke. S obzirom da je TMV iznimno prilagodljiv na okolišni stres i ima veliku sposobnost preživljavanja, bolest koju uzrokuje vrlo je teško kontrolirati. Virus se može prenijeti sa zaraženih biljaka na zdrave putem različitih mehaničkih kontakata, a bilo kakvo manje oštećenje biljaka predstavlja ulaznu točku za infekciju TMV-om (Jiang i sur., 2024).

Infekciju uzrokovanu TMV-om je jako teško suzbiti zbog visoke infektivnosti i brzog širenja, a može biti lokalna i sistemična. Prenosi se mehaničkim putem, što omogućuje brzu i učinkovitu transmisiju virusa među biljkama. Jedan od prvih simptoma kod sistemično oboljelih biljaka je tzv. „prosvjetljenje žila“, pri čemu žile listova postaju izraženije i vidljivije, osobito na mlađim, gornjim listovima. Nedugo nakon toga, na mlađim listovima pojavljuju se karakteristični simptomi mozaika. Ove promjene uključuju nepravilna tamnozelena područja („zeleni otoci“) okružena svijetlozelenim zonama. Tamnozelene regije, koje ne sadrže virus, kontrastiraju s virusom zaraženim svijetlozelenim područjima. Osim promjena boje, mladi listovi zaraženih biljaka često su deformirani, naborani i zakržljali (Ara i sur., 2014).

Kod nekih vrsta biljaka dolazi do razvoja lokalne infekcije koja započinje ulaskom virusa u biljku putem mehaničkih oštećenja, najčešće kroz rane na listovima. Neke biljke posjeduju specifične gene otpornosti što omogućuje prepoznavanje virusnih komponenti i pokretanje hipersenzitivnog odgovora. Hipersenzitivni odgovor je oblik lokalizirane obrane

tijekom koje dolazi do brze i kontrolirane stanične smrti u zaraženim stanicama što sprječava daljnje širenje virusa u okolno, zdravo tkivo. Kao rezultat, na mjestu infekcije nastaju lokalne lezije, male, jasno ograničene mrlje koje sprječavaju širenje virusa na ostatak biljke. Lezije se pojavljuju unutar 2 – 5 dana od infekcije virusom te ukazuju na uspješnu lokalnu obranu biljke (Levy i sur, 2004).

3. Materijali i metode

3.1. Prikupljanje biljnog materijala

U provedbi eksperimentalnog dijela diplomskog rada korištena je biljka gustolisnati oman (*Inula spiraeifolia* L.), prikupljena na lokaciji Malačka, Kozjak, Kaštela (43°34'57.48"N; 16°19'49.44"E) tijekom lipnja i srpnja 2024. i 2025. g, što je odgovaralo vegetacijskom razdoblju cvatnje (Slika 2).

Identitet biljnog materijala potvrdio je dr. sc. Juraj Kamenjarin na temelju literature (Nikolić, 2020). Uzorci biljnog materijala su pohranjeni na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Splitu, Odjel za biologiju.

Slika 2. Vrsta *I. spiraeifolia* na svom prirodnom staništu (izvor: J. Kamenjarin)

3.2. Priprema hidrolata

Vrsta *Inula spiraeifolia* L. korištena je za izolaciju eteričnog ulja i hidrolata, postupkom vodene destilacije u aparaturi po Clavenger-u (Slika 3). U tikvicu aparata odvagano je 20,00 g osušenog biljnog materijala i dodano 500 mL vode. U unutarnju cijev aparata dodano je 35 mL vode i 2 mL pentana (VWE Chemicals, Radnor, PA, SAD). Nakon vodene destilacije koja je trajala 3 h, iz unutarnje cijevi Clavenger aparata izdvojeno je eterično ulje (hidrofobna frakcija hlapljivih spojeva u pentanu) i hidrolat (frakcija hidrofilnih hlapljivih spojeva ekstrahiranih u vodenom dijelu). Eterično ulje pohranjeno je u zatvorenoj bočici na -20 °C, a hidrolat je pohranjen na +4 °C.

Slika 3. Clavenger aparat za vodenu destilaciju eteričnih ulja

3.3. Uzgoj eksperimentalnih biljaka i ispitivanje protuvirusne aktivnosti

Vrsta *Datura stramonium* L. korištena je kao lokalni biljni domaćin za TMV. Dva uzastopna dana prije inokulacije virusa, pokusne biljke su prskane hidrolatom vrste *Inula spiraeifolia*. 30-ak minuta nakon prskanja, provedena je inokulacija biljaka svježe pripremljenim virusnim inokulumom. Inokulum je pripremljen miješanjem 2 μL prethodno purificiranog i zamrznutog virusa i 40 μL Sörensovog pufera. Prije inokulacije, na listove se nanese silicijev karbid koji služi kao abrazivno sredstvo, odnosno stvara mikroranice na površini lista kroz koje će virus, kao parazit rane, ući u biljnu stanicu. Inokulum lagano utrljavamo preko površine cijele lisne plojke, te nekoliko sekundi nakon inokulacije isperemo destiliranom vodom. Na svaki list lokalnog domaćina inokulirano je 6 μL virusa, po tri μL na svaku stranu lista. Kontrolne biljke su dva uzastopna dana prije inokulacije tretirane destiliranom vodom te zatim inokulirane na jednak način i s istom koncentracijom virusa. Kontrolna skupina, kao i skupina tretiranih biljaka, sastojale su se od tri biološke replike, od kojih je svaka imala po 14 biljaka. Četvrti dan nakon inokulacije virusa, razvile su se jasne i brojive lezije na mjestu ulaska virusa u biljku. Lezije su izbrojene te je izračunata pripadajuća srednja vrijednost i standardna devijacija (SD). Statistička značajnost određena je *t*-testom, pri čemu je kao razina statističke značajnosti uzet $p < 0,05$.

Za izračun postotka inhibicije korištena je sljedeća formula:

$$IP = \frac{C - T}{C} \cdot 100\%$$

IP – inhibicija lokalnih lezija u %, *C* – srednja vrijednost broja lokalnih lezija na listovima kontrolnih biljaka, *T* – srednja vrijednost broja lokalnih lezija na listovima biljaka tretiranih hidrolatom.

3.4. Mikroskopska analiza lista

Anatomska građa lista te građa i raspodjela žljezdanih i nežljezdanih trihoma na listu vrste *Inula spiraeifolia* L. proučavana je svjetlosnom mikroskopijom. Rađeni su poprečni i plošni presjeci lista koji su rezani ručno uz pomoć žileta te kao nativni preparati promatrani svjetlosnim mikroskopom (Leica DM 3000 LED, Leica Microsystems, Njemačka). Bojanje bojom Sudan III (Merck) korišteno je za detekciju lipidnih komponenti na površini lista. Slike su snimljene kamerom Leica DMC 4500 i softverom za obradu slika (Leica Application Suite, LAS 4.9, Leica Microsystems).

Polutanki prerezi rađeni su tako što su komadići lista fiksirani u 2,5%-tnom glutaraldehidu (u 0,1 M otopini fosfatnog pufera) dva sata na 4 °C, a zatim dva sata postfiksirani u 1%-tnom osmijevom tetroksidu (OsO_4). Uzorci su zatim isprani destiliranom vodom dva puta, po 10 minuta, te je provedeno En bloc bojenje s 2% uranil acetatom, preko noći i na sobnoj temperaturi. Kako bi se uklonila voda, uzorak se proveo kroz seriju rastućih koncentracija acetona (30-100%). Nakon dehidracije, uzorci su impregnirani Spurr smolom (SPI Supplies, West Chester, PA, SAD) u acetonu kroz tri uzastopne smjese u omjerima smole i acetona 1:3, 1:1 i 3:1, po 30 minuta za svaki omjer. Uzorci su čuvani u čistoj Spurr smoli jedan sat, postavljeni u silikonske kalupe i polimerizirani 48 sati na 60 °C. Presjeci tkiva izrezani su na 0,5 μm (RMC Boeckeler, PoweTome XL, ultramikrotom) te obojeni toluidinskim plavilom O (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, SAD). Mikroskopska analiza polutankih presjeka provedena je svjetlosnim mikroskopom Leica DM 3000 LED, a slike su snimljene kamerom Leica DMC 4500.

4. Rezultati

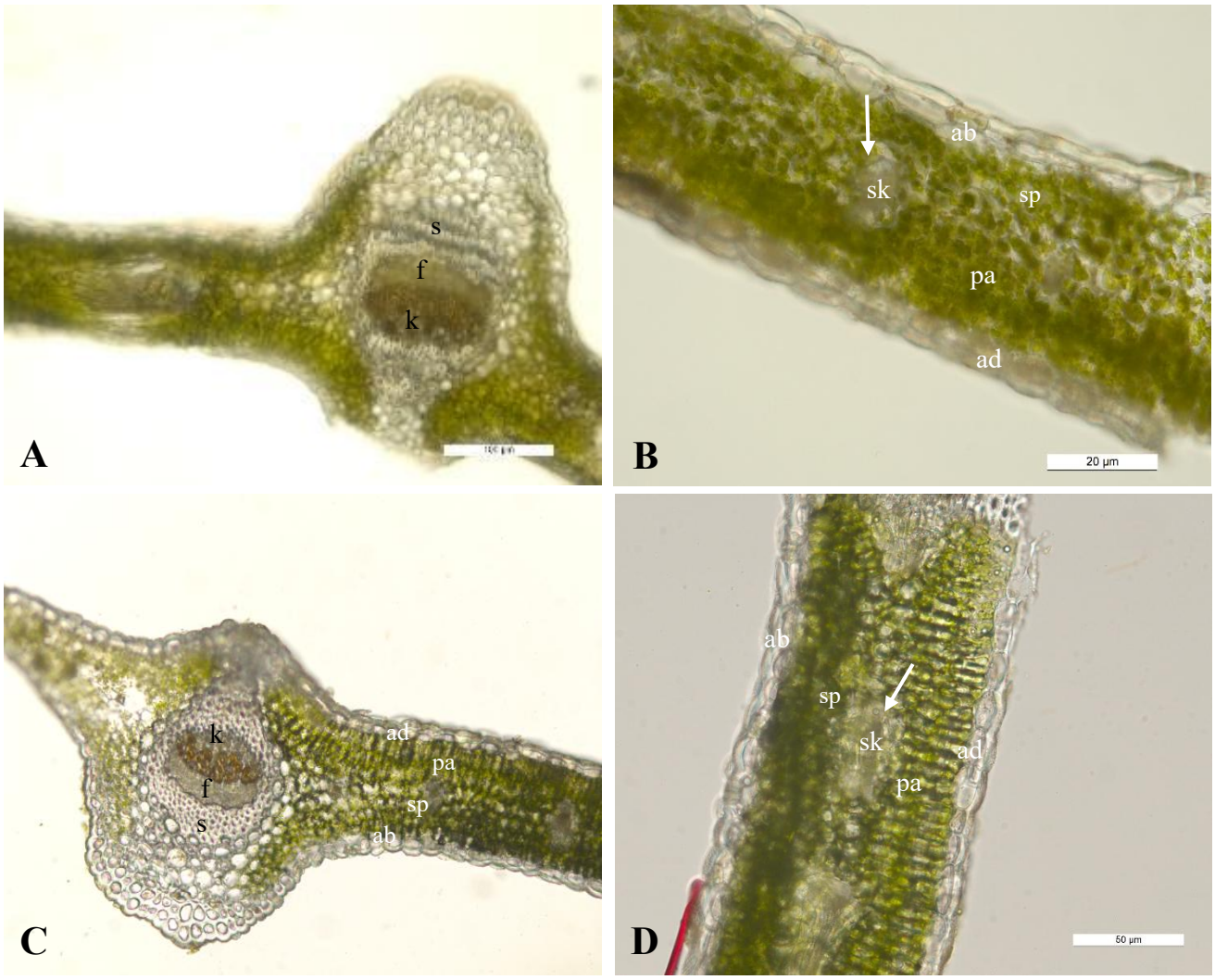
4.1. Anatomska građa lista

List vrste *Inula spiraeifolia* ima dorziventralnu građu sa gornjom (adaksijalna strana) i donjom epidermom (abaksijalna strana). Epiderma je građena od jednog sloja stanica koje su izdužene i pločaste, a na površini epiderme nalazi se kutikula. Između gornje i donje epiderme je mezofil lista sastavljen od parenhimskih stanica sa kloroplastima (Slika 4).

Parenhim lista vrste *I. spiraeifolia* diferenciran je na palisadno i spužvasto tkivo. Palisadni parenhim čine velike, izdužene stanice, bogate kloroplastima. Raspoređene su u dva do tri sloja stanica smještenih ispod gornje epiderme te su orijentirane okomito na površinu lista, s vrlo malim međustaničnim prostorima. Spužvasti parenhim nalazi se ispod palisadnog, i orijentiran je prema donjoj epidermi. Razvijen je kao više slojeva stanica nepravilnog oblika, sa izraženim međustaničnim prostorima. Stanice spužvastog parenhima bliže abaksijalnoj strani su manje, dok su stanice u sredini mezofila znatno veće. Stanice u svim slojevima spužvastog parenhima sadrže kloroplaste, kojih je u pravilu manje nego u stanicama palisadnog parenhima (Slika 4 B i D).

Provodni elementi lista organizirani su u obliku kolateralnih žila. Sitnije žile su zatvorenog tipa, dok je glavna lisna žila, smještena u centralnoj ravnini lista u pravilu otvorenog tipa što znači da između ksilema i floema postoji kambij. U području glavne lisne žile vidljivo je izraženo ispupčenje na abaksijalnoj strani lista što je posljedica razvijenog sklerenhimskog ovoja žile. Provodno tkivo lista građeno je od ksilema koji je okrenut prema gornjoj epidermi te floema koji je okrenut prema donjoj epidermi (Slika 4 A i C). Sklerenhimsko tkivo koje obavija žilu posebno je razvijeno uz floem (Slika 4 A i C).

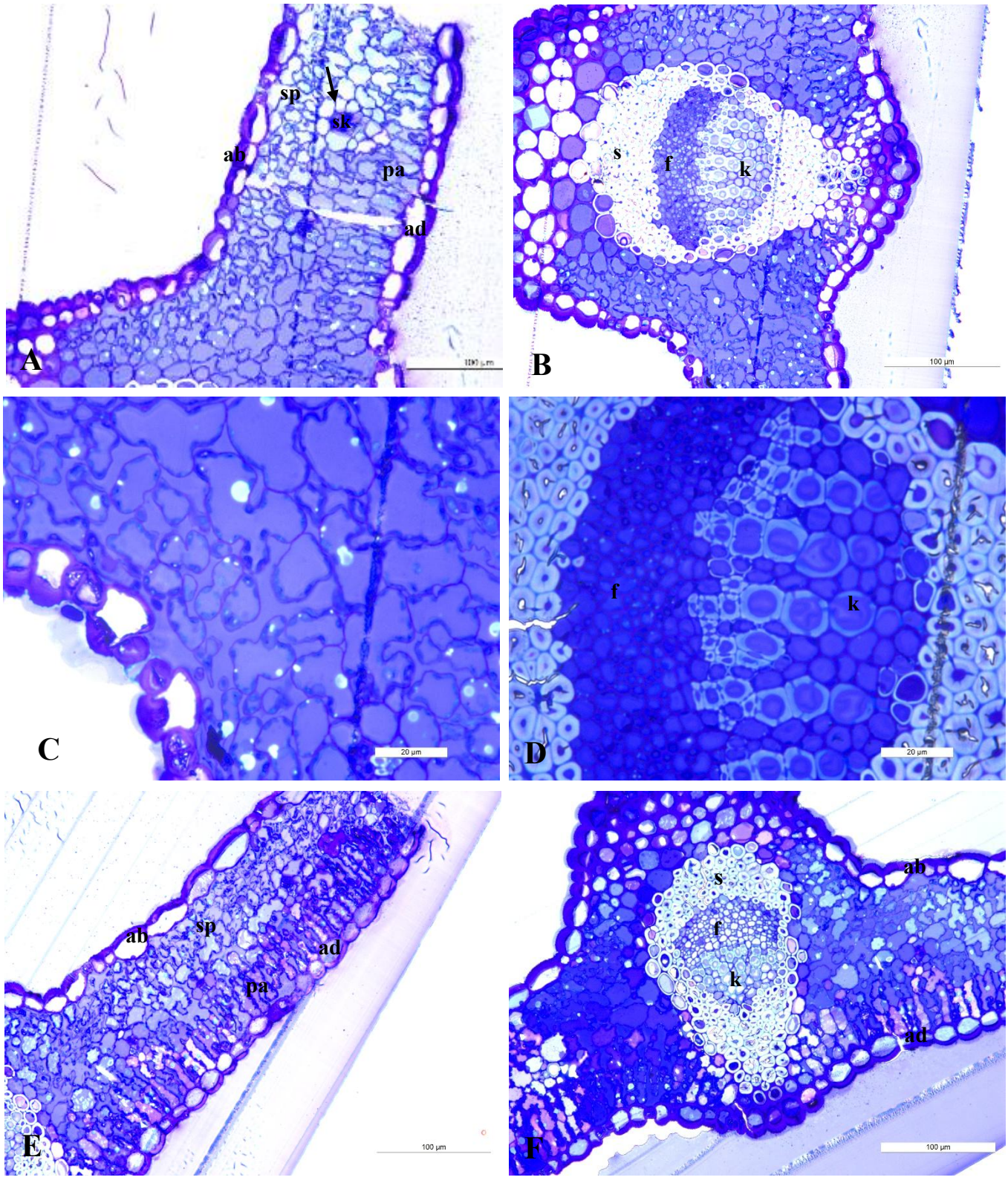
U mezofilu lista uočeni su sekretorni kanali. Smješteni su po sredini mezofila, na prijelazu palisadnog u spužvasti parenhim. Lumen kanala, u kojem se nakuplja izlučeni sadržaj, okružen je jednim slojem sekretornih stanica (Slika 4 B i D).



Slika 4 Poprečni presjek lista vrste *I. spiraeifolia* (A – D). Presjek lista u području glavne žile (A i C). ad – adaksijalna epiderma, ab – abaksijalna epiderma, pa – palisadni parenhim, sp – spužvasti parenhim, f – floem, k– ksilem, s – sklerenhim, sk – sekretorni kanal okružen sekretornim stanicama (strelica)

Dodatna analiza anatomske građe lista vrste *I. spiraeifolia* provedena je na polutankim prerezima na kojima se jasno razlikuje palisadni parenihm smješten na adaksijalnoj strani lista i spužvasti parenhim na abaksijalnoj strani lista (Slika 5 A i E) te sekretorni kanali u mezofilu lista (Slika 5 A). Na polutankim prerezima jasno se uočava sloj sekretornih stanica oko lumena kanala kao i izlučeni sadržaj u samom lumenu (Slika 5 A). Sadržaj je obojen tamnijom plavom bojom i vjerojatno odgovara metabolitima koji se nakupljaju u lumenu prije daljnjeg transporta i izlučivanja. Glavna lisna žila (Slika 5, B, D i F) građena je od ksilema kojeg čine provodne stanice sa zadebljalim, ligniziranim stijenkama

te floema kojeg čine provodni elementi sa tanjim i celuloznim stijenkama. Između je kambij što žili daje mogućnost stvaranja novih provodnih elemenata i sekundarnog rasta u debljinu (Slika 5 F). Uz ksilem i floem vidljivo je i sklerenhimsko tkivo koje je posebno razvijeno u području oko floema, stvarajući središnje izbočenje. Na ovim prerezima jasno se uočava prisustvo zadebljale kutikule na površini gornje i donje epiderme (Slika 5 A, B, E, F).



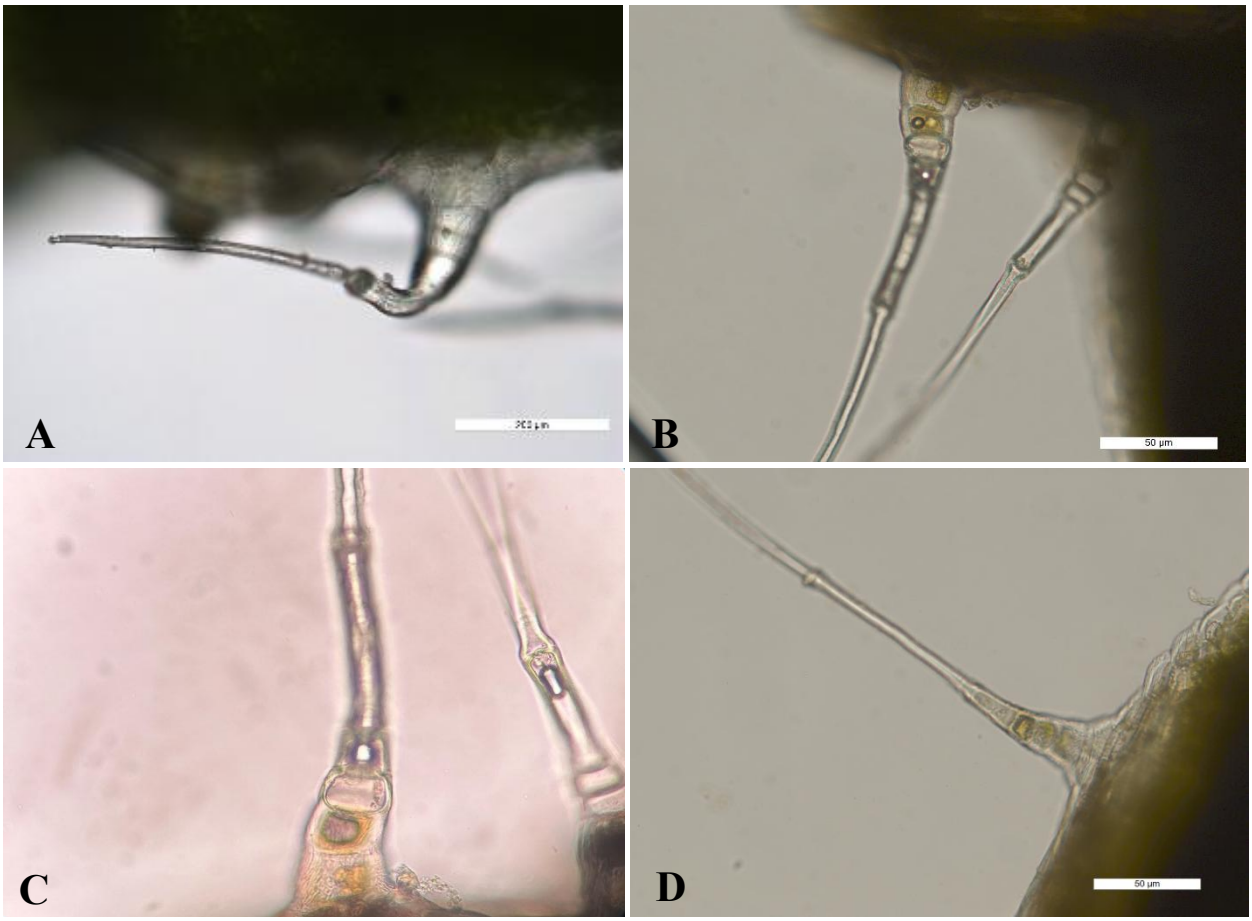
Slika 5. Polutanki presjeci lista vrste *I. spiraeifolia* (A - F)

ad – adaksijalna epiderma, ab – abaksijalna epiderma, pa – palisadni parenhim, sp – spužvasti parenhim, f – floem, k – ksilem, s – sklerenhim, sk – sekretorni kanal okružen sekretornim stanicama (strelica)

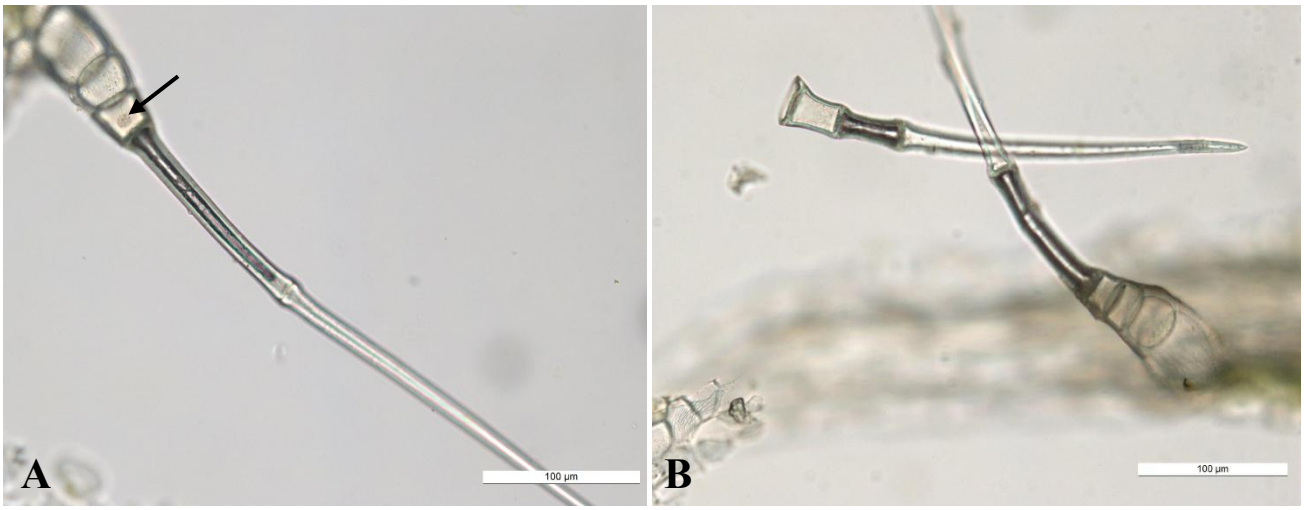
Makroskopski, listovi su raspoređeni naizmjenično, jednostavni su, sjedeći, a rub lista ima karakterističnu nazubljenost (Slika 8 A). Mikroskopskom analizom utvrđeno je da vrsta *I. spiraeifolia* na listovima ima dva tipa trihoma, jedni su nežljezdani i izduženi, a drugi su žljezdani i kratki.

Nežljezdani trihomi prisutni su na obje strane lista i građeni su od 4-5 kratkih, živih bazalnih stanica koje izlaze iz epiderme (Slika 6). Na bazalne stanice nastavljaju se izdužene, apikalne stanice (obično dvije, rjeđe tri) pri čemu je vršna stanica šiljastog oblika (Slika 6 A). Bazalne stanice su žive i sadrže jezgru (Slika 7 A), a u gornjim, izduženim stanicama ne uočavamo živi sadržaj već su ispunjene zrakom (Slika 7 B).

Nežljezdane dlake su u pravilnim razmacima prisutne i na samom rubu lista pri čemu su vršne stanice nagnute u jednu stranu prema epidermi, što stvara nazubljenost lista (Slika 8 B i C). Nežljezdani trihomi su općenito brojniji na gornjoj plojci (Slika 10), dok je na donjoj strani lista uočeno da ovi trihomi često prate tok lisnih žila (Slika 9).



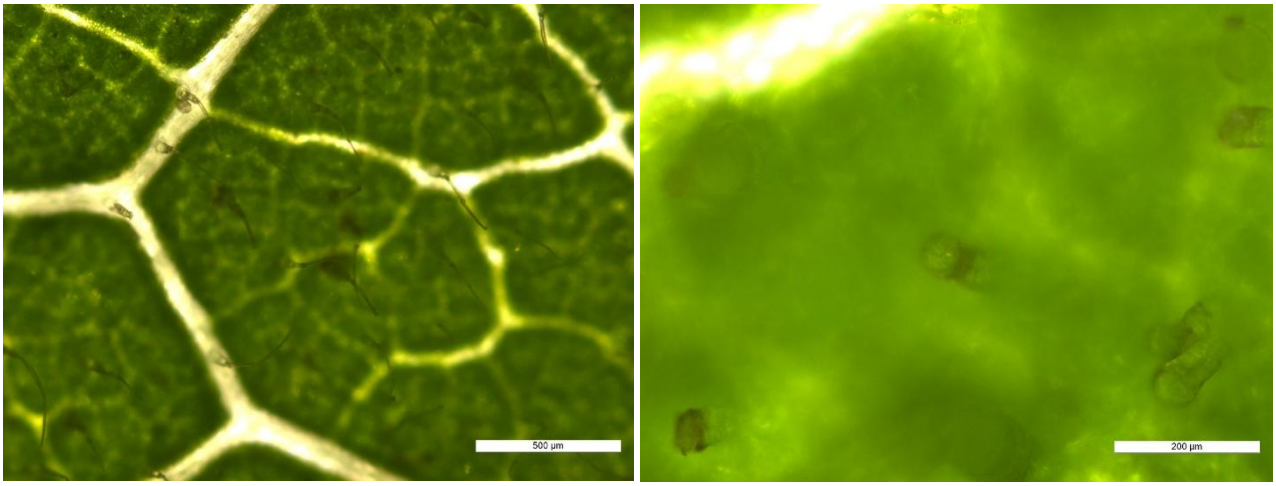
Slika 6. Nežljezdani trihomi vrste *I. spiraeifolia*



Slika 8. Nežljezdani trihomi vrste *I. spiraeifolia*. Gornji dio trihoma sastavljen je izduženih stanica ispunjenih zrakom i apikalne stanice šiljastog oblika (B). Bazalne stanice su žive stanice sa jezgrom (strelica)

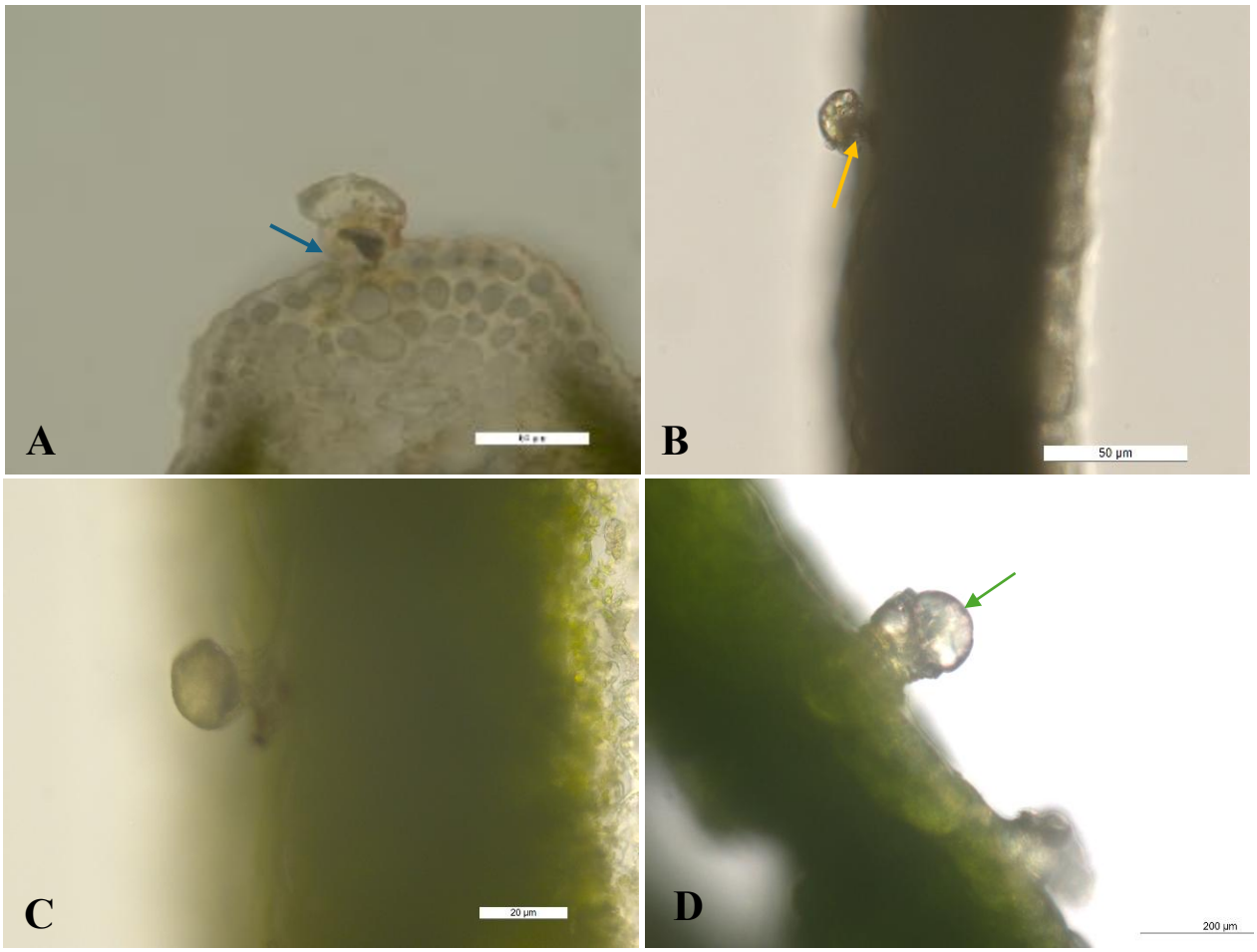
Slika 7. Makroskopski izgled lista vrste *I. spiraeifolia* (A). Rubni dio lista promatran pri najmanjem povećanju mikroskopa (40X) i nežljezdani trihomi karakteristično nagnuti u jednu stranu (B i C).

Slika 9. Donja lisna plojka sa nežljezdanim trihomima raspoređenima uz tok žila. Povećanje 40x.



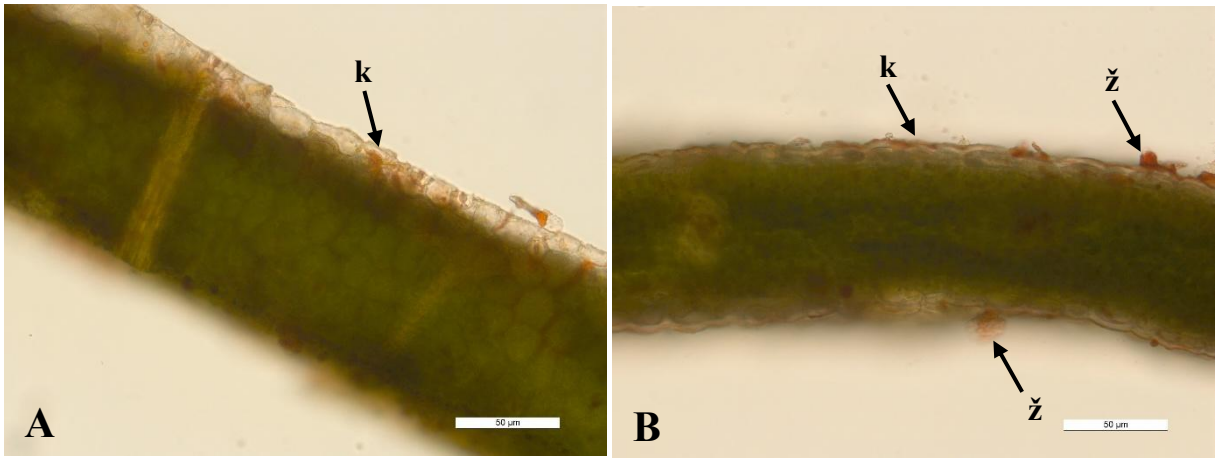
Slika 10. Gornja lisna plojka sa nežljezdanim (A) i žljezdanim (B) trihomima. Povećanje 40x.

Za ovu vrstu karakteristična je i prisutnost žljezdanih trihoma koji su obilno prisutni na obje strane lista. Građeni su od kratke i široke bazalne stanice koja trihom pričvršćuje za epidermu (Slika 11 A-D), peteljke odnosno drške koja je kratka pa se na pojedinim prerezima čini kao da je uopće nema (Slika 11 B) te vršne stanice koja je okruglasta žljezdana stanica i koja čini glavni, sekrecijski dio trihoma (Slika 11 A-D). Iako na prvi pogled slabije uočljivi, i ovi živi, žljezdani trihomi su obilno prisutni i na gornjoj i na donjoj epidermi lista vrste *I. spiraeifolia* (Slike 10 i 11).



Slika 11. Žljezdani trihomi na listu vrste *I. spiraeifolia.* Žljezdani trihomi građeni su od kratke i široke bazalne stanice (plava strelica), peteljke ili drške (žuta strelica) te okrugle žljezdane stanice (zelena strelica).

S ciljem detekcije lipidnih komponenti, poprečni presjek lista vrste *I. spiraeifolia* obojan je bojom Sudan III. Uočeno je intenzivno narančasto obojenje na površini epidermalnih stanica (Slika 12 A i B) koje potvrđuje prisutnost kutikule, ali i drugih tvari lipidnog sastava koje se izlučuju na površinu biljke. Histokemijskom reakcijom potvrđeno je da se tvari lipidnog karaktera osim na površini nakupljaju i unutar epidermalnih stanica, te u žljezdanim trihomima, ukazujući na akumulaciju sekundarnih metabolita lipofilnog karaktera.



Slika 12. Poprečni presjek lista vrste *I. spireaifolia* obojan bojom Sudan III; strelicama su označeni žljezdani trihomi (ž) i kutikula (k)

4.2. Protuvirusna aktivnost

U okviru ovog rada ispitana je biološka aktivnost hidrolata vrste *Inula spiraeifolia* na modelu inhibicije infekcije koju na biljkama uzrokuje virus mozaika duhana (TMV). Primjena hidrolata dva uzastopna dana prije inokulacije virusa na listove lokalnog biljnog domaćina, vrste *Datura stramonium* L. rezultirala je vidljivim smanjenjem broja lokalnih lezija (Slika 13). Iako su i hidrolatom tretirane biljke na pojedinim listovima razvile lokalne simptome koji su brojnošću bili slični kontrolnim biljkama, na većini listova inhibicija simptoma je bila uočljiva i listovi su imali manji broj nekrotičnih lezija. Nakon statističke obrade podataka, zabilježeno je da su biljke tretirane hidrolatom razvile 23,79 lezija po listu (Tablica 2), dok su kontrolne biljke imale 30,88 lezija po listu (Tablica 1).

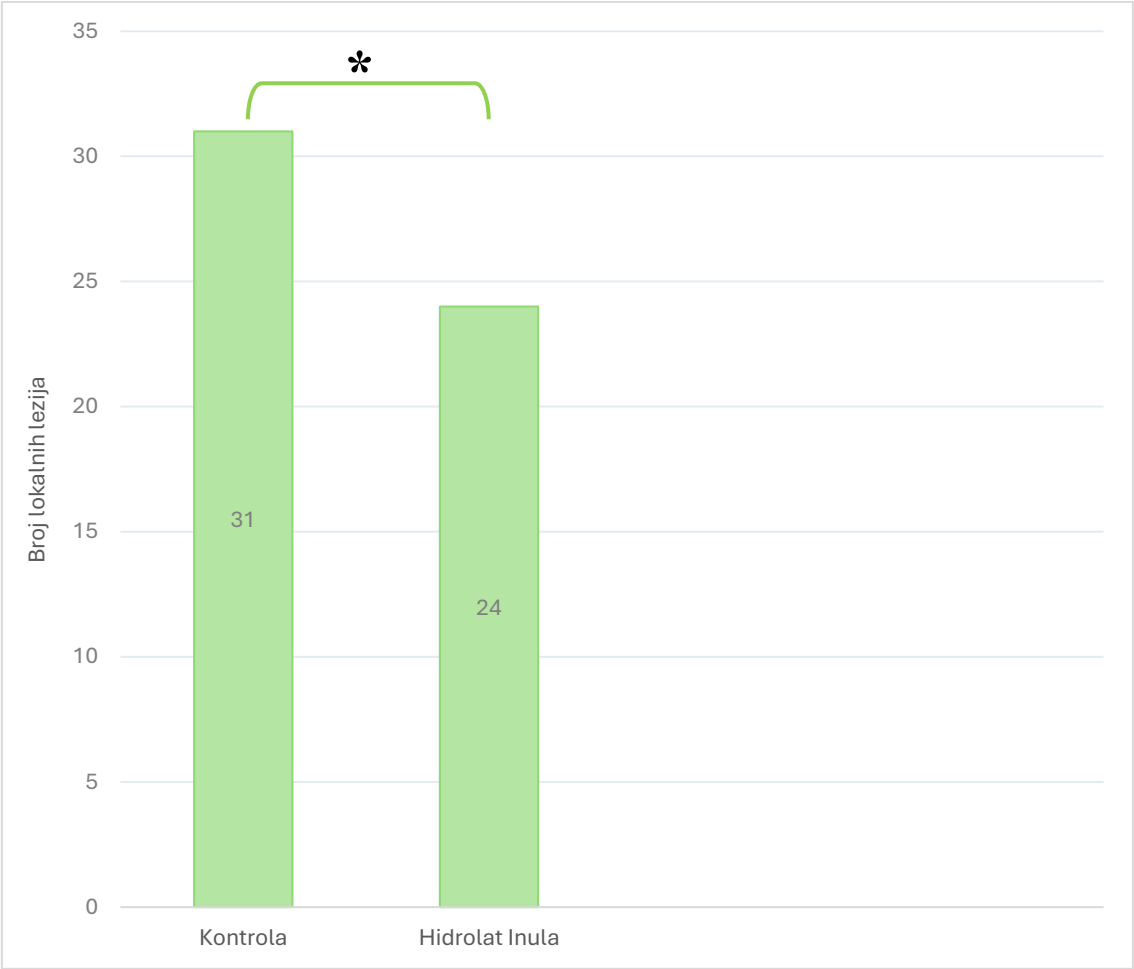
Slika 13. Lokalne lezije uzrokovane infekcijom virusa mozaika duhana. Kontrolne biljke (C) i biljke tretirane hidrolatom vrste *I. spiraeifolia* (HY).

Tablica 1. Broj lezija na listovima lokalnog domaćina TMV-a, vrste *Datura stramonium,* koja je tretirana destiliranom vodom dva uzastopna dana prije inokulacije TMV-a (kontrola) uz izračunatu srednju vrijednost i standardnu devijaciju

	KONTROLNE BILJKE		
Broj replike	**1.**	**2.**	**3.**
Broj lokalnih lezija	9	18	5
	4	15	20
	8	23	42
	26	57	44
	7	76	30
	19	22	37
	80	36	18
	65	29	31
	55	12	22
	25	18	21
	46	27	32
	20	27	86
	47	27	59
	25	38	45
Srednja vrijednost	31,14	30,36	31,14
Standardna devijacija	0,45		
Srednja vrijednost tri replike	30,88		

Tablica 2. Broj lezija na listovima lokalnog domaćina, vrste *Datura stramonium,* koja je tretirana hidrolatom vrste *I. spiraeifolia* dva uzastopna dana prije inokulacije TMV-a (tretirane biljke) uz izračunatu srednju vrijednost i standardnu devijaciju

	BILJKE TRETIRANE HIDROLATOM		
Broj replike	**1.**	**2.**	**3.**
Broj lokalnih lezija	53	30	25
	22	18	18
	17	15	14
	25	47	30
	5	38	22
	14	25	15
	10	44	21
	10	56	22
	48	17	30
	29	25	19
	17	16	20
	29	14	33
	9	25	16
	13	15	28
Srednja vrijednost	21,5	27,5	22,36
Standardna devijacija	3,25		
Srednja vrijednost tri replike	23,79		



Slika 14. Broj lokalnih lezija na listovima netretiranih biljaka (Kontrola) i na listovima biljaka tretiranih hidrolatom (Hidrolat *Inula*) zaraženim TMV-om. *Statistička značajnost, $p < 0,05$.

Učinak hidrolata vrste *I. spiraeifolia* na razvoj lokalne infekcije koju na domaćinu *Datura stramonium* uzrokuje TMV prikazan je na slici 14. Statističkom obradom podataka uz *t*-test utvrđeno je da je razlika u brojnosti simptoma statistički značajna. Iz srednje vrijednosti rezultata triju replika kontrolnih biljaka te srednje vrijednosti rezultata triju replika biljaka tretiranih hidrolatom vrste *I. spiraeifolia* izračunat je pripadajući postotak inhibicije lokalne infekcije koji iznosi 23%.

5. Rasprava

Porodica Asteraceae jedna je od najvećih porodica u biljnom svijetu sa oko 1600 rodova i više od 25000 vrsta diljem svijeta. Pripadnici porodice su jednogodišnje ili dvogodišnje zeljaste biljke, rjeđe drvenaste biljke (Domitrović, 2015). Biljke ove porodice često su karakterizirane prisutnošću sekretornih kanala te žljezdanih i nežljezdanih trihoma koji imaju taksonomsku važnost. U identifikaciji pojedinih biljnih vrsta značajnu ulogu imaju i sekundarni metaboliti koje ove biljke obilno proizvode. Mnogi pripadnici porodice imaju značajnu farmakološku vrijednost te se tradicionalno i suvremeno koriste u medicinske svrhe (Karanović, 2018).

Rodu *Inula* L. (Asteraceae) pripada oko 100 biljnih vrsta rasprostranjenih uglavnom u umjerenom pojasu, diljem Europe, Afrike i Azije, a ih čine višegodišnje zeljaste biljke ili mali grmovi, karakterističnih cvjetova žute boje (Mustać, 2020).

Rod *Inula* primjenjuje se u tradicionalnoj medicini jer sadrži biološki aktivne spojeve, među kojima se ističu seskviterpenski laktoni, diterpeni, triterpeni i flavonoidi. Ovi spojevi zaslužni su za antikancerogena, antibakterijska, antioksidativna, hepaprotektivna, citotoksična i protuupalna svojstva biljaka unutar ovog roda (Ibadullayeva i sur., 2024).

Vrsta koja je predmet ovog rada, *Inula spiraeifolia* L. zeljasta je biljka iz porodice Asteraceae, porijeklom iz južne i istočne Europe. U Hrvatskoj uglavnom raste unutar submediteranske i euromediteranske zone, na suhim, alkalnim tlima siromašnim dušikom (Dosa, 2009). U literaturi je ova vrsta opisana s vrlo ograničenim brojem znanstvenih radova. Stoga je prvi cilj ovog rada opisati anatomsku građu lista i trihoma te time doprinijeti preciznijem mikromorfološkom opisu te identifikaciji ove vrste unutar roda *Inula*. Sljedeći cilj bio je opisati njenu biološku aktivnost na modelu inhibicije infekcije uzrokovane virusom mozaika duhana.

Anatomski, list vrste *Inula spiraeifolia* ima dorziventralnu građu s jasno diferenciranim palisadnim i spužvastim parenhimom. Palisadni parenhim, smješten uz gornju epidermu, bogat je kloroplastima i prilagođen fotosintetskoj aktivnosti, dok se spužvasti parenhim nalazi s donje strane lista i sadrži nepravilno oblikovane stanice i izražene međustanične prostore koji omogućuju izmjenu plinova (Slika 4 B i D). Na površini epiderme nalazi se razvijena kutikula koja histokemijski potvrđena bojanjem lista bojom

Sudan III (Slika 12). Provodna tkiva organizirana su u kolateralne snopove ili žile, pri čemu su glavne lisne žile otvorenog tipa, s ksilemom orijentiranim prema gornjoj, a floemom prema donjoj strani lista. Dobro razvijen sklerenhim, osobito u području oko floema, pruža mehaničku potporu tom dijelu lista (Slika 4 A i C). Navedena anatomska građa lista odgovara postojećim literaturnim podacima za nekoliko vrsta unutar roda *Inula* (Karanović 2018), u kojima se naglašavaju taksonomske karakteristike pripadnika roda koje proizlaze iz unutarnje organizacije tkiva. S tim u vezi, rezultati ovog rada mogu pomoći u preciznijoj taksonomskoj determinaciji vrste *I. spiraeifolia*.

Na poprečnim prerezima lista uočeni su sekretorni kanali okruženi sekretornim stanicama i smješteni u središnjem dijelu mezofila lista, na prijelazu iz palisadnog u spužvasti parenhim. Ovakvi kanali karakteristični su i za druge aromatične biljke, osobito pripadnike porodice Asteraceae. U lumenu kanala uočava se sekret koji vjerojatno dolazi iz okolnih sekretornih stanica (Slika 4 B i D). Sekret je posebno je vidljiv na polutankim prerezima gdje se uočava kao tamniji plavi sadržaj u lumenu (slika 5A).

Sulborska (2007) u svom radu navodi kako sekretorni kanali kod vrste *I. helenium* nastaju šizogeno, što je najčešći način formiranja istih kod predstavnika porodice Asteraceae. Kako je opisano u navedenom radu, sekretorni kanali u glavnoj žili lista, peteljci i stabljici nalaze se uz provodne snopove, dok su u podanku zabilježeni u području feloderme, parenhima kore i ksilema. Karanović (2018) ističe prisutnost sekretornih kanala kod raznih vrsta roda *Inula*, uključujući i vrstu *I. spiraeifolia*, u listu, stabljici, rizomu, korijenu i plodu. Ipak, ne nalazimo konkretnije podatke o lokalizaciji te detaljne opise sekretornih kanala za vrstu *I. spiraeifolia*. pa su dobiveni rezultati doprinos poznavanju sekretornih struktura ove vrste.

Građa i prisutnost sekretornih tkiva u biljnim organima usko su povezani s proizvodnjom sekundarnih metabolita koji često imaju komercijalni značaj, primjerice eterična ulja ljekovitih biljaka. Zbog toga je proučavanje sekretornih tkiva aromatičnih i medicinski važnih biljaka vrlo važno za bolje razumijevanje i procjenu kakvoće biljaka koje se koriste zbog svojih ljekovitih svojstava ili u industrijske svrhe (Karanović 2018).

Kao i mnogi drugi predstavnici porodice Asteraceae, nadzemni organi vrste *I. spiraeifolia* prekriveni su žljezdanim i nežljezdanim trihomima. Trihomi, osim što izlučuju određene sekundarne (specijalizirane) metabolite, obavljaju i niz drugih važnih uloga za biljku. Neke od tih funkcija su interakcija s okolišem, uključujući regulaciju temperature i

refleksiju zračenja, obrambene i ekološke funkcije, poput zaštite od biljojeda i privlačenja oprašivača te uloga u fiziološkoj regulaciji biljke (Katinas, 2025).

U proučavanju i opisu trihoma, naglašava se važnost standardizacije naziva i klasifikacije ovih struktura. Katinas (2025) u svom radu uspostavlja detaljnu klasifikaciju trihoma, razlikujući glavne tipove žljezdanih i nežljezdanih trihoma te njihove podtipove. Ova klasifikacija omogućava precizniju identifikaciju i usporedbu trihoma među vrstama, što ima važan utjecaj na taksonomska, morfološka i filogenetska istraživanja unutar porodice Asteraceae.

Na listu vrste *I. spiraeifolia* uočena su dva tipa trihoma, žljezdani i nežljezdani. Nežljezdani trihomi sadrže 4-5 bazalnih stanica na koje se nastavljaju dvije do tri izdužene mrtve stanice ispunjene zrakom, pri čemu je apikalna stanica uvijek šiljasta (Slika 6). Bazalne stanice su žive, što potvrđuje prisutnost jasno vidljivih jezgara u njihovoj citoplazmi (Slika 7). Nežljezdani trihomi su u pravilnim razmacima prisutni i na samom rubu lista pri čemu su njihove vršne stanice nagnute u istu stranu prema epidermi, što uzrokuje nazubljenost lista (Slika 8). Nežljezdani trihomi uočeni su i na gornjoj i na donjoj epidermi lista. Međutim, općenito su brojniji na gornjoj epidermi lista, dok na donjoj epidermi uočavamo da često prate tok žila (Slika 9).

Nežljezdani trihomi karakteristični su i za druge vrste roda *Inula*, poput *I. helenium*, gdje su prisutni na obje strane lista, najčešće u obliku jednostavnih ili razgranatih dlačica (Sulborska, 2013). Slične morfološke značajke zabilježene su i kod vrsta *I. britannica* i *I. viscosa*, kod kojih su nežljezdani trihomi najčešće raspoređeni na abaksijalnoj strani lista gdje sudjeluju u zaštiti biljke od abiotičkog stresa (Dosa, 2009).

Žljezdani trihomi vrste *I. spiraeifolia* uočeni su također na gornjoj i donjoj plojci, a sastoje se od kratke bazalne stanice, na koju se nastavlja kratka peteljka ili drška, te završavaju okruglastom žljezdanom stanicom (Slika 11). Apikalni dijelovi trihoma pokazuju morfološke i funkcionalne značajke sekretornih stanica, unutar kojih dolazi do biosinteze i akumulacije sekudnarnih metabolita.

Opis nežljezdanih i žljezdanih trihoma vrste *I. spiraeifolia* odgovara onom danom u disertaciji autora Karanovića (2018), iako je u tom radu naglasak stavljen na usporedbu građe i rasporeda trihoma između više vrsta roda *Inula* te srodnih rodova pri čemu izostaje detaljnija analiza građe i distribucije ovih struktura.

Sulborska (2013) u svom radu detaljno opisuje žljezdane trihome kod vrste *I. helenium*, navodeći prisutnost sjedećih i stabljikastih dlaka. Histokemijskim testovima potvrđena je sekretorna aktivnost trihoma, s prisutnošću lipida i polifenola u apikalnim stanicama. Sekret se akumulira u subkutikularnom prostoru te se, uslijed povećanja volumena, oslobađa pucanjem kutikule. Morfološke značajke žljezdanih trihoma uočenih kod vrste *I. spiraeifolia* u ovom istraživanju pokazuju određene sličnosti s opisima koje navodi Sulborska. Bojanje lista Sudanom III je histokemijski dokazalo prisutnost tvari lipidnog karaktera koji se akumuliraju u žljezdanim trihomima (Slika 10).

Literaturni podaci i rezultati prikazani u ovom radu ukazuju na prisutnost određenih razlika u građi trihoma i epidermalnih struktura roda *Inula*. Karanović i sur. (2022) primjenom svjetlosne i elektronske mikroskopije opisuju razlike među vrstama koje mogu imati taksonomsku vrijednost što ukazuje na potrebu za detaljnijom analizom ovih struktura i kod drugih, osobito kod slabije istraženih vrsta roda, kao što je *I. spiraeifolia*.

Hidrolati nastaju kao nusprodukt tijekom destilacije eteričnih ulja aromatičnih biljaka, a sadrže hlapljive komponente topive u vodi. Biološki aktivni spojevi prisutni u hidrolatima imaju dokazanu antimikrobnu, antioksidativnu i protuupalnu aktivnost. Zahvaljujući tome, nalaze sve širu primjenu u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Tavares i sur., 2022). Kao netoksične i biorazgradive vodene otopine, hidrolati predstavljaju siguran i lako dostupan izvor bioaktivnih stvari. Sve veći broj istraživanja upućuje na njihov potencijal u razvoju prirodnih protuvirusnih sredstava, s mogućom primjenom u održivoj poljoprivredi i zaštiti bilja (Vuko i sur., 2021).

U ovom istraživanju prvi put smo pokazali umjereni protuvirusni potencijal hidrolata vrste *I. spiraeifolia* na biljkama zaraženima virusom mozaika duhana (TMV). Primjena hidrolata dva dana prije inokulacije virusa dovela je do smanjenja broja lokalnih lezija na tretiranim biljkama. Iako su se simptomi pojavili i na tretiranim biljkama te su na određenom broju listova brojnošću bili slični kontroli, na većini listova zabilježena je inhibicija simptoma, s manjim brojem nekrotičnih lezija (Slika 13). Četvrti dan nakon inokulacije virusa, biljke predtretirane hidrolatom razvile su 23,79 lezija po inokuliranom listu (Tablica 2), dok su kontrolne biljke koje su predtretirane destiliranom vodom i inokulirane istom koncentracijom virusa razvile 30,88 lezija po listu (Tablica 1) što je predstavljalo statistički značajno smanjenje broja lezija. Iz srednje vrijednosti triju bioloških replika provedenog eksperimenta izračunato je da je infekcija TMV-om inhibirana 23%.

Uz rezultate ovog istraživanja, ističemo i slične radove koji ukazuju na protuvirusni potencijal aromatičnih biljaka, osobito unutar roda *Inula*. Kim i sur. (2022) ispitivali su metoksilirane flavonoide iz vrste *I. britannica* i pokazali da ti biljni spojevi mogu spriječiti djelovanje enzima 3CLpro, koji je važan za razmnožavanje virusa SARS-CoV-2. Iako se radi o ranom stadiju istraživanja, rezultati upućuju na protuvirusno djelovanje ovih spojeva i na viruse koji su značajni humani patogeni.

Dodatnu potvrdu protuvirusnog djelovanja flavonoida iz roda *Inula* daje i istraživanje u kojem je proučavan eupatin, spoj iz vrste *I. japonica*. Pokazalo se da eupatin može inhibirati virusnu proteaze važnu za razmnožavanje SARS-CoV-2 virusa, kao i ograničiti širenje virusa u staničnim uvjetima. Ovi rezultati dodatno naglašavaju potencijal biljnih flavonoida kao prirodnih protuvirusnih tvari (Park i sur., 2023).

U kontekstu sve izraženije potrebe za održivim pristupima zaštiti bilja, istraživanja usmjerena na biološki potencijal aromatičnih biljaka dobivaju na značaju, primjerice istraživanje učinka hidrolata vrste *Chaerophyllum coloratum* L. na infekciju virusom mozaika duhana pokazalo je značajno smanjenje broja lokalnih lezija na listovima inficiranih domaćinskih biljaka. Autori zaključuju da hlapljivi spojevi ove aromatične vrste mogu potaknuti obrambene odgovore biljke te povećati njezinu otpornost na virusne infekcije (Vuko i sur., 2024).

Sličan učinak zabilježen je i u ovom istraživanju, gdje je primjena hidrolata vrste *I. spiraeifolia* dovela do manjeg, ali ipak statistički značajnog smanjenja broja lokalnih lezija na listovima zaraženih biljaka (Slika 14). Ovi rezultati stoga potvrđuju da hlapljivi spojevi prisutni u hidrolatima mogu imati važnu ulogu u aktivaciji prirodnih obrambenih mehanizama biljke domaćina i predstavljati održivu alternativu konvencionalnim pesticidima u borbi protiv biljnih virusa.

Sveukupno, rezultati ovog rada doprinos su preciznijoj identifikaciji vrste *I. spiraeifolia* od srodnih vrsta unutar roda, te upućuju na nove biološke aktivnosti ove biljke, ukazujući na potrebu za daljnjim istraživanjima ove vrste ali i samog roda.

6. Zaključak

- Primjenom svjetlosne mikroskopije uočena je dorziventralna građa lista vrste *I. spiraeifolia* L., s gornjom i donjom epidermom između kojih se nalaze palisadni i spužvasti parenhim. U mezofilu su uočeni sekretorni kanali okruženi sekretornim stanicama, što je česta karakteristika aromatičnih biljaka, posebno pripadnika porodice Asteraceae. Prema našem saznanju, ovo je prvi opis sekretornih kanala u listu vrste *I. spiraeifolia*.
- Provodni elementi lista organizirani su u obliku kolateralnih žila, pri čemu je glavna lisna žila otvorenog tipa i dominantno ispupčena na abaksijalnoj strani lista zbog jako razvijenog sklerenhimskog ovoja. Žila je građena od ksilema orijentiranog prema gornjoj i floema orijentiranog prema donjoj epidermi.
- Na gornjoj i donjoj epidermi lista uočena su dva tipa trihoma, žljezdani i nežljezdani.
- Žljezdani trihomi građeni su od kratkog bazalnog dijela, nekoliko stanica u nizu koje čine dršku i žljezdane stanice na vrhu. Vršna stanica je okruglasta i ima obilježja sekretornih stanica, unutar kojih se nakupljaju specijalizirani biljni metaboliti prije njihovog otpuštanja u okolinu.
- Nežljezdani trihomi građeni su od 4-5 živih bazalnih stanica u kojima je uočena jezgra. Na bazalne stanice nastavljaju se dvije (rjeđe tri) izdužene stanice ispunjene zrakom koje su često polomljene ili nedostaju što je posljedica pripreme preparata. Uočeno je da su ovi trihomi u pravilnim razmacima prisutni na rubu lista i nagnuti u jednu stranu što listu daje karakterističnu nazubljenost. Apikalna stanica nežljezdanog trihoma uvijek je zašiljena.
- Distribucija nežljezdanih trihoma na gornjoj strani lista ravnomjerna je po cijeloj plojci, dok je na donjoj strani lista uočena njihova gušća pojavnost preko, odnosno uz tok glavnih lisnih žila.
- Istraživanje protuvirusnog potencijala provedeno je na vrsti *Datura stramonium* koja je dva dana prije infekcije virusom mozaika duhana (TMV) tretirana hidrolatom vrste *I. spiraeifolia.*
- Primjena hidrolata rezultirala je vidljivim smanjenjem infekcije na listovima zaraženih biljaka. Po razvoju jasnih i brojivih simptoma utvrđeno je da je na listovima tretiranih biljaka srednja vrijednost broja lezija iznosila 23,79, dok su

kontrolne biljke imale prosječno 30,88 lezija, odnosno primjena hidrolata smanjila je lokalnu infekciju za 23%.

- Ovi podaci prvi su rezultat o protufitovirusnoj aktivnosti hidrolata vrste *I. spiraeifolia* što otvara mogućnost daljnjeg istraživanja biološkog potencijala ove vrste i njenih specijaliziranih metabolita.

7. Literatura

1. Aćimovic M., Tešević V., Smiljanić K., Cvetković M., Stanković J., Kiprovski B., Sikora V. (2020). Hydrolates: By-products of essential oil distillation: Chemical composition, biological activity and potential uses. Advanced technologies. 9 (2): 54-70.
2. Agustí, J., Blázquez, M. A. (2020). Plant vascular development: mechanisms and environmental regulation. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *77*(19), 3711–3728.
3. Almeida, H. H. S., Fernandes, I. P., Amaral, J. S., Rodrigues, A. E., Barreiro, M. F. (2024). Unlocking the Potential of Hydrosols: Transforming Essential Oil Byproducts into Valuable Resources. *Molecules (*Basel, Switzerland*)*, *29*(19), 4660.
4. Ara I., Najat A., Bukhari N. A., Aref N. M., Mahera M. A., Shinwari M. M. A., Bakir M. A. (2014). Antiviral activities of streptomycetes against tobacco mosaic virus (TMV) in *Datura* plant: Evaluation of different organic compounds in their metabolites. *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(8), pp. 2130-2138.
5. Badmi, R., Gogoi, A., Doyle Prestwich, B. (2023). Secondary Metabolites and Their Role in Strawberry Defense. *Plants*, *12*(18), 3240.
6. Domitrović I. (2015). Fitokemijska karakterizacija polifenola vrste *Centaurea ragusina* L., Asteraceae. Diplomski rad. Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
7. Dosa G. (2009). New morphological characters on the Florets of some *Inula* species (Asteraceae). *Acta Botanica Hungarica* 51(1–2), pp. 67–74.
8. Glas, J. J., Schimmel, B. C. J., Alba, J. M., Escobar-Bravo, R., Schuurink, R. C., Kant, M. R. (2012). Plant Glandular Trichomes as Targets for Breeding or Engineering of Resistance to Herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(12), 17077-17103.
9. Gostin, I. N. (2023). Glandular and Non-Glandular Trichomes from *Phlomis herba-venti* subsp. *pungens* Leaves: Light, Confocal, and Scanning Electron Microscopy and Histochemistry of the Secretory Products. *Plants*, *12*(13), 2423.

10. Ibadullayeva, A. K., Kasela, M., Kozhanova, K. K., Kadyrbayeva, G. M., Widelski, J., Wojtanowski, K., Józefczyk, A., Suśniak, K., Okińczyc, P., Tleubayeva, M. I., Karaubayeva, A. A., Zhandabayeva, M. A., Mukhamedsadykova, A. Z., Malm, A. (2024). Chemical Profile and Biological Properties of Methanolic and Ethanolic Extracts from the Aerial Parts of *Inula britannica* L. Growing in Central Asia. *Molecules*, *29*(23), 5749.
11. Jiang Q., Xie Y., Zhou B., Wang Z., Ning D., Li H., Zhang J., Yin M., Shen J., Yan S. (2024). Nanomaterial inactivates environmental virus and enhances plant immunity for controlling tobacco mosaic virus disease. *Nature Communications* 15, 8509.
12. Karanović D. (2018). Uporedni pregled morfo-anatomskih karakteristika biljnih organa i analiza etarskih ulja sa njihovom primenom u taksonomiji odabranih rodova tribusa Inuleae Cass. (Compositae). Doktorska disertacija. Novi Sad: Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Novom Sadu.
13. Karanović D., Zorić L., Zlatković B., Luković J. (2022). Leaf and stem anatomy and micromorphology of four Inuleae (Compositae) genera, with notes on their taxonomic significance. *Nordic Journal of Botany*. https://doi.org/10.1111/njb.03566
14. Katinas, L. (2025). Trichomes in Asteraceae: Names Standardization and a Unified Classification. *The Botanical Review*. 91: 1-50.
15. Kaur, S., Khanal, N., Dearth, R., Kariyat R. (2023). Morphological characterization of intraspecific variation for trichome traits in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Botanical Studies* 64, 7.
16. Khan, A. L., Hussain, J., Hamayun, M., Gilani, S. A., Ahmad, S., Rehman, G., Kim, Y. H., Kang, S. M., Lee, I. J. (2010). Secondary metabolites from Inula britannica L. and their biological activities. *Molecules (*Basel, Switzerland*)*, *15*(3), 1562–1577.
17. Kim, J. H., Park, Y. I., Hur, M., Park, W. T., Moon, Y. H., Koo, S. C., Yun-Chan, H., Lee, I. S., Park, J. (2022). The inhibitory activity of methoxyl flavonoids derived from *Inula britannica* flowers on SARS-CoV-2 3CLpro. *International journal of biological macromolecules*, *222*(Pt B), 2098–2104.
18. Levy, M., Edelbaum, O., Sela, I. (2004). Tobacco mosaic virus regulates the expression of its own resistance gene N. *Plant physiology*, 135(4), 2392–2397.

19. Ma Z-Y., Wen J., Ickert-Bond S. M., Chen L-Q., Liu X-Q. (2016) Morphology, Structure, and Ontogeny of Trichomes of the Grape Genus (*Vitis*, Vitaceae). Front. *Plant Sci.* 7:704.
20. Muravnik, L. (2020). The Structural Peculiarities of the Leaf Glandular Trichomes: *A Review*. 10.1007/978-3-030-11253-0_3-1.
21. Mustać, A. (2020). Antioksidacijski učinak i fitokemijski sastav odabranih vrsta roda *Inula* L. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet.
22. Nikolić, T. (2017). Morfologija biljaka. Razvoj, građa i uloga biljnih tkiva, organa i organskih sustava (str. 121-133). Zagreb: Alfa d.d. Zagreb.
23. Park, Y. I., Kim, J. H., Lee, S., Lee, I. S., Park, J. (2023). Eupatin, a Flavonoid, Inhibits Coronavirus 3CL Protease and Replication. *International journal of molecular sciences*, *24*(11), 9211.
24. Pavlović D., Grigorov M., Martinović M., Tasić-Kostov M. (2021). From waste products to potential cosmetic actives. Beograd, Serbia, Arh. farm. 2021; 71: S86 – S89.
25. Rami E., Singh A., Favzulazim S (2021). An overview of plant secondary metabolites, their biochemistry and generic applications. *The Journal of Phytopharmacology*; 10(5):421-428.
26. Rolnik, A., Olas, B. (2021). The Plants of the Asteraceae Family as Agents in the Protection of Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3009.
27. Seca, A. M., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2015). Metabolomic Profile of the Genus Inula. *Chemistry & biodiversity*, *12*(6), 859–906.
28. Sulborska A. (2007): Distribution and structure of internal secretory reservoirs on the vegetative organs of *Inula helenium* L. (Asteraceae). *Acta Agrobotanica*, 60 (1): 1–12.
29. Sulborska A. (2013). Structure and distribution of glandular and non-glandular trichomes on above-ground organs in *Inula helenium* L. (Asteraceae). *Acta Agrobotanica*, Vol 66 (4).
30. Sun, C. P., Jia, Z. L., Huo, X. K., Tian, X. G., Feng, L., Wang, C., Zhang, B. J., Zhao, W. Y., Ma, X. C. (2021). Medicinal *Inula* Species: Phytochemistry, Biosynthesis, and Bioactivities. *The American journal of Chinese medicine*, 49(2), 315–358.

31. Sutton D. B., Punja Z. K., Hamarneh G., Characterization of trichome phenotypes to assess maturation and flower development in *Cannabis sativa* L. (cannabis) by automatic trichome gland analysis, *Smart Agricultural Technology*, Volume 3, 100111, ISSN 2772-3755.
32. Tavares C. S., Gameiro J. A., Roseiro L. B., Figueiredo A. C. (2022). Hydrolates: a review on their volatiles composition, biological properties and potential uses. *Phytochem Rev* 21, 1661–1737.
33. Vijayan P., Raghu C., Ashok G., Dhanaraj S. A., Suresh B. (2004). Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian J Med Res* 120, pp 24-29.
34. Vuko, E., Dunkić, V., Ruščić, M., Nazlić, M., Mandić, N., Soldo, B., Šprung, M., Fredotović, Ž. (2021). Chemical Composition and New Biological Activities of Essential Oil and Hydrosol of *Hypericum perforatum* L. ssp. *veronense* (Schrank) H. Lindb. *Plants*, *10*(5), 1014.
35. Vuko, E., Radman, S., Bočina, I., Kamenjarin, J., Bezmalinović, I., Fredotović, Ž. (2024). Cell-type specific localization and biological activity of the volatiles from the endemic species *Chaerophyllum coloratum* L. *Planta, 260*.
36. Vuko, E., Radman, S., Jerković, I., Kamenjarin, J., Vrkić, I., Fredotović, Ž. (2022). A Plant Worthy of Further Study—Volatile and Non-Volatile Compounds of *Portenschlagiella ramosissima* (Port.) Tutin and Its Biological Activity. *Pharmaceuticals*, *15*(12), 1454.
37. Wang X., Shen C., Meng P., Tan G., Lv L. (2021). Analysis and review of trichomes in plants. *BMC Plant Biol* 21, 70.

Popis slika

Slika 1. Vrsta *I. spiraeifolia* (izvor: J.Kamenjarin)..... 5

Slika 2. Vrsta *I. spiraeifolia* na svom prirodnom staništu (izvor: J. Kamenjarin)..... 13

Slika 3. Clavenger aparat za vodenu destilaciju eteričnih ulja..... 14

Slika 4 Poprečni presjek lista vrste *I. spiraeifolia* (A – D). Presjek lista u području glavne žile (A i C). ad – adaksijalna epiderma, ab – abaksijalna epiderma, pa – palisadni parenhim, sp – spužvasti parenhim, f – floem, k– ksilem, s – sklerenhim, sk – sekretorni kanal okružen sekretornim stanicama (strelica)..... 18

Slika 5. Polutanki presjeci lista vrste *I. spiraeifolia* (A - F) 20

Slika 6. Nežljezdani trihomi vrste *I. spiraeifolia* 21

Slika 8. Makroskopski izgled lista vrste *I. spiraeifolia* (A). Rubni dio lista promatran pri najmanjem povećanju mikroskopa (40X) i nežljezdani trihomi karakteristično nagnuti u jednu stranu (B i C). 22

Slika 7. Nežljezdani trihomi vrste *I. spiraeifolia*. Gornji dio trihoma sastavljen je izduženih stanica ispunjenih zrakom i apikalne stanice šiljastog oblika (B). Bazalne stanice su žive stanice sa jezgrom (strelica) 22

Slika 9. Donja lisna plojka sa nežljezdanim trihomima raspoređenima uz tok žila. Povećanje 40x. 23

Slika 10. Gornja lisna plojka sa nežljezdanim (A) i žljezdanim (B) trihomima. Povećanje 40x. 23

Slika 11. Žljezdani trihomi na listu vrste *I. spiraeifolia.* Žljezdani trihomi građeni su od kratke i široke bazalne stanice (plava strelica), peteljke ili drške (žuta strelica) te okrugle žljezdane stanice (zelena strelica)..... 24

Slika 12. Poprečni presjek lista vrste *I. spireaifolia* obojan bojom Sudan III; strelicama su označeni žljezdani trihomi (ž) i kutikula (k) 25

Slika 13. Lokalne lezije uzrokovane infekcijom virusa mozaika duhana. Kontrolne biljke (C) i biljke tretirane hidrolatom vrste *I. spiraeifolia* (HY)..... 26

Slika 14. Broj lokalnih lezija na listovima netretiranih biljaka (Kontrola) i na listovima biljaka tretiranih hidrolatom (Hidrolat *Inula*) zaraženim TMV-om. *Statistička značajnost, $p < 0,05$. 29

Popis tablica

Tablica 1. Broj lezija na listovima lokalnog domaćina TMV-a, vrste *Datura stramonium,* koja je tretirana destiliranom vodom dva uzastopna dana prije inokulacije TMV-a (kontrola) uz izračunatu srednju vrijednost i standardnu devijaciju..... 27

Tablica 2. Broj lezija na listovima lokalnog domaćina, vrste *Datura stramonium,* koja je tretirana hidrolatom vrste *I. spiraeifolia* dva uzastopna dana prije inokulacije TMV-a (tretirane biljke) uz izračunatu srednju vrijednost i standardnu devijaciju 28

8. Metodički dio

Ime i prezime učitelja	Predmet	Razred
Gabriela Radnić	Biologija	3.
Nastavna tema		**Datum**
Diferencijacija stanica i razvitak mnogostaničnog organizma (Biljna tkiva)		

Cilj nastavne teme	
Usvajanje znanja o diferencijaciji i ravoju biljnih tkiva.	
Ključni pojmovi	**Temeljni koncepti**
Meristem, žilni kambij, ksilem, floem, parenhim, pokrovno tkivo, puči	Tvorno tkivo ili meristem zadržava sposobnost diobe tijekom cijelog života biljke te služi za proizvodnju svih ostalih tkiva. U provodnim žilama nastaje glavno bočno tkivo ili žilni kambij. Na prerezu stabljike, žile su poredane u krug te njihovi kambiji tvore kambijski prsten. Diobama stanica u kambijskom prstenu nastaje prema središtu stabljike ksilem koji služi za provođenje vode s mineralnim tvarima. Diobama prema površini stabljike nastaje floem koji služi za provođenje proizvoda fotosinteze. Osnvno tkivo ili parenhim vrtsa je trajnog tkiva, a izgrađeno je od živih stanica između kojih se nalaze međustanični prostori. Pokrovno tkivo vrsta je trajnog tkiva koji prekriva površinu svih biljnih organa. Pokrovno tkivo na površini listova i mladih jednogodišnjih stabljika naziva se epiderma, a na površini mladog korijena rizoderma. Pokrovno tkivo na površini višegodišnje stabljike i višegodišnjeg korijena naziva se kora. Izmjena plinova kisika i ugljikovog dioksida te izlučivanje vodene pare odvija se kroz puči ili stome.
Kontekst poučavanja koncepta	
Proučavanjem slike biljne stanice i slike razvijene biljke učenici navode način diferencijacije stanica i razvoja biljnih tkiva. Razgovorom s učenicima potičem ih na zaključivanje koji sve čimbenici utječu na razvoj različitih tkiva. Rješavanjem radnog listića učenici uspoređuju građu i funkciju različitih biljnih tkiva. Promatranjem slika na mikroskopu učenici promatraju i analiziraju građu lista.	

Rješavajući listić za ponavljanje učenici ponavljaju usvojeno znanje.

Odgojno-obrazovni ishodi	
BIO SŠ A.3.1.	Povezuje pojavu novih svojstava s usložnjavanjem stanice objašnjavajući specijalizaciju stanica u složenijim sustavima.
BIO SŠ B.3.4.	Analizira evolucijsko usložnjavanje stanica s obzirom na način njihova funkcioniranja.
BIO SŠ C.3.2.	Analizira principe iskorištavanja energije na razini stanice.

Očekivanja međupredmetnih tema	
odr C.5.2.	Predlaže načine unapređenja osobne i opće dobrobiti.
osr A.5.3.	Razvija svoje potencijale.
osr B.5.2.	Suradnički uči i radi u timu.
uku D.4/5.2.	Učenik ostvaruje dobru komunikaciju s drugima, uspješno surađuje u različitim situacijama i spreman je zatražiti ili ponuditi pomoć.

Br. Ishoda u razradi(RI/IA)	**Razrada ishoda** **Ishodi aktivnosti**	**Zadatak/ primjer pitanja za provjeru**	**KR**	**PU**
BIO SŠ A.3.1.	Povezuje razvoj, građu i uloge tkiva.	• Koja je uloga tvornih tkiva u biljaka? • Koja je razlika između potpornih i provodnih tkiva? • Usporedi provodne žile jednosupnica i dvosupnica. • Koja je razlika između ksilema i floema u pogledu građe i funkcije?	R2 R2 R3 R3	+ + +/- +/-
BIO SŠ B.3.4.	Analizira diferencijaciju	• Zbog čega se stanice udružuju u tkiva?	R2 R2	+ +/-

	stanica i razvoj višestaničnog organizma.	• Na koji način biljka raste u visinu i dubinu? • Koji čimbenici mogu utjecati na to hoće li se stanice razviti u pokrovno ili provodno tkivo?	R2	-
BIO SŠ C.3.2.	Analizira organiziranost stanice te načine ekonomičnog iskorištavanja energije.	• Koja je uloga pokrovnog tkiva u biljaka? • Usporedi kutikulu biljaka koje žive na suhim staništima te biljaka koje žive na vlažnim staništima? • Na koje načine biljke sprječavaju gubitak vode?	R2 R3 R2	+/- +/- +/-

Kognitivna razina (KR): I. reprodukcija, II. konceptualno razumijevanje i primjena znanja, III. rješavanje problema
Procjena uspješnosti učenja (PU): – odgovara manje od 5 učenika, +/- odgovara otprilike polovina učenika, + odgovara većina učenika
Br. ishoda u razradi (RI): dodati prema odgovarajućem broju iz dokumenta Kurikuluma Prirode i Biologije – numerirana razrada ishoda(npr. OŠ PRI A.5.1.2 Uočava na temelju praktičnih radova da su tvari građene od sitnih čestica;BIO OŠ B.8.4.9. Povezuje mitozu s razmnožavanjem jednostaničnih te s rastom i obnavljanjem višestaničnih organizama; BIO SŠ C.3.2.2. Analizira prijenos tvari kroz membranu/membranom s aspekta korištenja energije)
(IA): broj ishoda aktivnosti generirati prema nadređenom broju (RI) ishoda u razradi (npr. OŠ PRI A.5.1.2.1.Zaključuje na temelju praktičnog rada da je u morskoj vodi otopljena sol.)

Tijek							
Tip sata	**Obrada novog nastavnog sadržaja**		**Trajanje**	Jedan sat			
BR. NASTAVNOG SATA	**STRUKTURNI ELEMENT NASTAVNOG SATA**	**DOMINANTNA AKTIVNOST**	**BR. ISHODA I MPT OČEKIVANJA**	**KORISTITI**	**METODA**	**OBLIK RADA**	**TRAJANJE** (min)
	Početni dio	Na početku nastavnog sata pozdravljam učenike i predstavljam im se. Otvaram kliznicu br.1 na kojoj su prikazane dvije slike. Jedna slika prikazuje biljnu stanicu, a druga slika prikazuje stablo masline. N: Što vidite na prvoj slici? U: Biljnu stanicu. N: Kako ste zaključili da je riječ o biljnoj stanici? U: Po staničnoj stijenci, kloroplastima i vakuoli. N: Što prikazuje druga slika? U: Stablo. N: Znate li	BIO SŠ A.3.1. BIO SŠ C.3.2. BIO SŠ B.3.4.	P P P	I R	F	5

		koja je biljka prikazana na slici? U: Maslina. N: Smatrate li da su ove dvije slike povezane? U: Da, biljne stanice se povezuju i grade odraslu biljku. N: Kako od jedne mikroskopski male stanice nastane velika biljka kao što je u ovom slučaju maslina? U: Biljne stanice se dijele i povezuju u tkiva, a tkiva u organe te zajedno grade odraslu jedinku. N: Imaju li sve stanice istu funkciju? U: Ne. Ovisno o funkciji stanice se diferenciraju i grade različita tkiva. Najavljujem cilj sata, otvaram kliznicu br.2 i naslov nastavne jedinice zapisujem na ploču: BILJNA TKIVA					
	Središnji dio	Otvaram kliznicu br.3 te započinjem razgovor s učenicima. N: Biljno tkivo se može podijeliti u tvorno tkivo i trajno tkivo. Koja je razlika između tih tkiva? U: Tvorno tkivo stvara nove stanice kako bi biljka mogla rasti, a trajno tkivo obavlja određene funkcije. N: Mogu li se tvorna i trajna tkiva dijeliti? U: Tvorna tkiva se mogu dijeliti, a trajna tkiva se ne dijele nego imaju stalnu funkciju. Otvaram kliznicu br.4, zapisujem podnaslov na ploču: TVORNO TKIVO ILI MERISTEM te prolazim kroz osnovne funkcije tvornog tkiva. N: Na koje načine biljka raste? U: Biljka raste u visinu i u širinu. N: Kako se zove tkivo koje ima ulogu u rastu u visinu? U: Vršni meristem. N: A kako se zove tkivo koje ima ulogu u rastu u širinu? U: Bočni meristem. Podatke zapisujem na ploču. Učenicima zatim pobliže objašnjavam rast biljke u visinu i širinu analiziranjem slika prikazanih na kliznici br.4. Otvaram kliznicu br.5 na kojoj je prikazana podjela trajnog tkiva te zapisujem podnaslov na ploču: TRAJNO TKIVO. Učenike potičem na ponavljanje uloge trajnog tkiva. N: Zašto su biljci potrebna trajna tkiva? U: Zato što obavljaju različite funkcije. N: Koje bi to funkcije bile? U: Prijenos hranjivih tvari, prijenos vode, zaštita, skladištenje hrane itd. Otvaram kliznicu br.6 na kojoj se nalazi	BIO SŠ A.3.1. BIO SŠ C.3.2. BIO SŠ B.3.4.	P P P	I R	F	30

		slika poprečnog prereza lista. N: Što mislite koju ulogu imaju prikazana tkiva? U: Ulogu fotosinteze. N: Po čemu ste to zaključili? U: Po kloroplastima koji se nalaze u stanicama lista. N: Koje još uloge može imati osnovno tkivo? U: Potpornu ulogu, skladištenje hranjivih tvari. Zapisujem podatke na ploču. N: Koja vrsta trajnog tkiva obavija biljne organe? U: Pokrovno tkivo. Otvaram kliznicu br.7 te nastavljam razgovor s učenicima. N: Kako se zove tkivo koje obavija list? U: Epiderma. N: Kako se zovu otvori na epidermi lista? U: Puči. N: Koja je uloga puči? U: Imaju ulogu u izmjeni plinova i izlučivanju vodene pare. N: S koje strane lista se nalaze puči? U: S donje. N: Zašto? U: Jer je gornja strana lista izloženija suncu i biljka bi gubila više vode. Podatke zapisujem na ploču. N: Koje tkivo biljci omogućava čvrstoću? U: Potporno tkivo. Otvram kliznicu br.8 te zapisujem podatke na ploču. N: Zašto je biljci potrebno potporno tkivo? U: Da stoji uspravno i održava čvrstoću. N: Gdje se u biljci nalazi potporno tkivo? U: U listovima, stabljici i drugim dijelovima biljke. Otvaram kliznicu br.9. N: Što bi se dogodilo da bilja nema provodno tkivo? U: Uvenula bi. N: Zbog čega je provodno tkivo važno biljci? U: Jer prenosi vodu i hranjive tvari. N: Koja su dva glavna dijela provodnog tkiva? U: Ksilem i floem. N: Koja je njihova uloga? U: Ksilem provodi vodu i mineralne tvari iz korijena u ostale dijelove biljke, a floem provodi hranjive tvari nastale fotosintezom iz listova u sve druge dijelove biljke. N: Zašto je važno da se ksilem i floem nalaze „blizu jedan drugome“? U: Na taj način lakše raspoređuju vodu i hranjive tvari, učinkovitiji je transport, štedi se energija. Zapisujem podatke na ploču. Otvaram kliznicu br.10 na kojoj je prikazana slika. N: Što je prikazano na slici? U:	osr A.5.3.	P P P		I	

		Oprašivanje biljke kukcima. N: Na koji način biljke privlače kukce? U: Jarkim bojama cvjetova, mirisom, nektarom. N: Biljke proizvode nektar, sladak sok koji mami kukce. Što mislite koje tkivo ima ulogu u proizvodnji nektara? U: Žljezdano tkivo. N: Koje još tvari mogu izlučivati? U: Smolu, eterična ulja. Zapisujem podatke na ploču.					
		Učenike dijelim u 5 skupina i dijelim im radne listove te pribor i materijal potreban za zadatak. Učenici trebaju napraviti poprečni prerez lista biljke gustolisnati oman te promotriti pod mikroskopom. Nakon promatranja preparata pod mikroskopom, učenici crtaju sliku te rješavaju zadatke. Učenici trebaju zaključiti koja su biljna tkiva uočili na preparatu te navesti njihove uloge. Zajedno s učenicima analiziram sliku preparata i provjeravam riješene zadatke.	uku D.4/5.2 osr A.5.2.	E R L M P M	PR C R I	P F	
	Završni dio	Učenicima dijelim listiće za ponavljanje i provjeravam njihovu riješenost, odnosno razinu razumijevanja i stupanj usvojenosti znanja. Zatim dijelim izlazne karice (321 izlazna kartica) koje učenici rješavaju na završetku nastavnog sata.	BIO SŠ A.3.1. BIO SŠ B.3.4. BIO SŠ C.3.2.	R L	T R	I	10
	Nositelji aktivnosti: N – nastavnik, U - učenici (dodati i mijenjati uloge ukoliko je potrebno uz svaku aktivnost) **Koristiti u izvedbi**: RL – radni listić za učenike, UDŽ – udžbenik, RB – radna bilježnica, P – ploča, PM – prirodni materijal, E – pokus/eksperiment, MD – model, AP – aplikacija, PP – projekcija prezentacije, VL – video lekcija, APP – digitalni alat, P/SU – platforma/sustav učenja na daljinu, V – video zapis, A – animacija, I – igra, IU – igranje uloga, RS – računalna simulacija, M – mikroskop, L – lupa, F – fleks kamera, T – tablet, MO – mobitel, OP – organizator pažnje, AL - anketni listić TM - tekstualni materijali (dodati prema potrebi) **Metode**: PR – praktični radovi, D – demonstracija, C – crtanje, I – usmeno izlaganje, R – razgovor, T – rad na tekstu i pisanje **Oblici rada**: I – individualno, P – rad u paru, G – grupni rad, F – frontalno					

Materijalna priprema
Izvorna stvarnost: biljka, list Nastavna sredstva: mikroskopski preparati, PowerPoint prezentacija, listić za ponavljanje Nastavna pomagala: mikroskop, ploča, kreda, računalo, projektor

Plan učeničkog zapisa

BILJNA TKIVA

TVORNO TKIVO (MERISTEM) – zadržava sposobnost dijeljenja kroz cijeli život biljke
– pridonosi rastu biljke
– služi za proizvodnju svih ostalih tkiva
– vršni meristem
– bočni meristem

TRAJNO TKIVO – nastaju diferencijacijom iz meristema

a) Osnovno tkivo ili parenhim – spremište hranjihivh tvari
– fotosintetski ili asimilacijski parenhim
– transpiracijski parenhim

b) Pokrovno tkivo – štiti od isušivanja, oštećenja, prekomjernog zagrijavanja i smrzavanja
– epiderma
– rizoderma
– puči ili stome: 2 stanice zapornice + 2-4 stanice susjedice

c) Potporno tkivo – daje čvrstoću biljnim organima
– žive ili mrtve stanice

d) Provodno tkivo – ksilem – provodi vodu i mineralne tvari
– floem – provodi asimilate

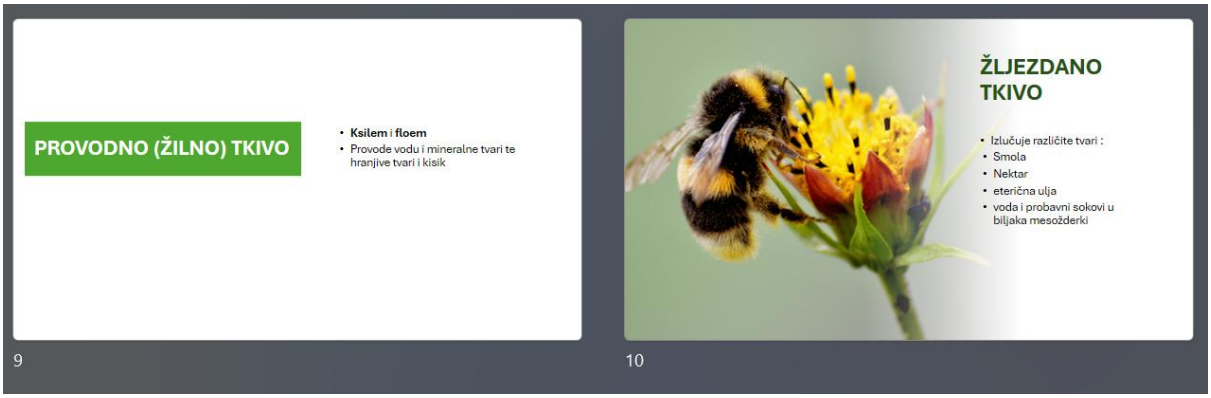
e) Žljezdano tkivo – stvara i izlučuje različite specifične tvari (smola, nektar, eterična ulja...)

Vrednovanje		
Vrednovanje za učenje	**Vrednovanje kao učenje**	**Vrednovanje naučenog**
Pitanjima koja postavljam tijekom nastavnog sata provjeravam jesu li učenici sve razumjeli te objašnjavam moguće nejasnoće.	Učenik se samovrednuje, kritički promišlja o tome što je razumio i daje mi povratnu informaciju pitanjem što mu nije jasno.	Razgovorom s učenicima tijekom sata provjeravam razinu njihova razumijevanja i znanja. U završnom dijelu sata učenici rješavaju listić za ponavljanje.
Prilagodba za učenike s teškoćama u učenju		
Nema učenika s teškoćama u učenju.		

Prilagodba za darovite učenike
Nema darovitih učenika.

Prilozi

Prilog 1 – ppt prezentacija „Diferencijacija stanica i razvitak mnogostaničnog organizma (Biljna tkiva)“



Prilog 2 – listić za ponavljanje

Diferencijacija stanica i razvitak mnogostaničnog organizma (Biljna tkiva) – *Ponavljanje*

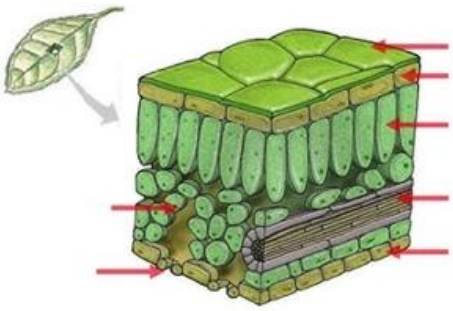
1. Svakom biljnom tkivu pridruži odgovarajuću ulogu.

a) Ksilem ____	1. pokrovno tkivo koje štiti biljku
b) Kambij ____	2. omogućava rast korijena u dubinu
c) Bočno tvorno tkivo ____	3. Zaštitno tkivo na površini mladog korijena
d) Parenhim ____	4. obavljanje fotosinteze
	5. provođenje asimilata
	6. omogućuje rast stabljike u širinu
	7. potporno tkivo od mrtvih stanica
	8. provođenje vode I mineralnih tvari

2. Zaokruži točan odgovor.
   Pokrovno tkivo na površini višegodišnje stabljike i višegodišnjeg korijena zove se:
   a) Kutikula
   b) Kora
   c) Epiderma
   d) Rizoderma

3. Nadopuni rečenice:
   a) _____ je provodno tkivo za vodu i u njoj otopljene mineralne soli. Sadrži provodne žile _____ i _____.
   b) _____ je provodno tkivo za otopljene produkte fotosinteze. Sadrži provodne žile _____.

4. Označi dijelove na slici te odgovori na pitanja.



a) Koja je uloga puči?

_____

_____

b) Zbog čega su stanice epiderme nepravilnog oblika?

_____

_____

5. Promotri sliku i odgovori na pitanja.

a) Što je prikazano na slici?

_____

_____

b) Koje su biljne žlijezde zaslužne za privlačenje kukaca?

_____

_____

c) Navedi još dva primjera biljnog žljezdanog tkiva te biljke koje ih imaju.

_____

_____

Prilog 3 – radni list

Radni list

Zadatak 1.

Pribor i materijal: list gustolisnatog omana, destilirana voda, žilet, predmetno stakalce, pokrovnica, kapalica

Postupak: Žiletom napravi poprečni presjek lista. Izrezani komadić lista stavi na predmetno stakalce, dodaj kapljicu vode te poklopi pokrovnicom. Preparat promatraj pod mikroskopom.

Nacrtaj sliku koju si vidio/la pod mikroskopom.

Odgovori na pitanja.

1. Navedi koja si biljna tkiva promatrao/la.

   _____

2. Nabroji funkcije tkiva koje si promatrao/la.

   _____

   _____

Prilog 4 – izlazna kartica

IZLAZNA KARTICA

Tri pojma koja sam potpuno shvatio/la:

Dva pojma koje sam naučio/la:

Jedan pojam o kojemu bih htio/htjela znati više:

Literatura *Izvori za učenike i izvori koje je učitelj koristio za pripremu poučavanja.*

- Lukša, Ž., Mikulić, S., Bendelja, D., Krajačić, M. 2020.: Biologija 3 – udžbenik biologije s dodatnim digitalnim sadržajima u trećem razredu gimnazija, Školska knjiga, Zagreb.
- https://edutorij-admin-api.carnet.hr/storage/extracted/074ffbb3-a1b7-4fe1-9f4a-1ea3539d642d/biologija-1/m05/j02/index.html

Refleksija nakon poučavanja *Zabilješke nakon izvedbe nastavnog sata o uspješnosti sa sugestijama za poboljšanje.*