

37. OTDK Biológia Szekció

Zöld memória: A csíranövény UV-kezelésének hatása a kifejlett növény antioxidáns/prooxidáns egyensúlyára

Készítette: **Hatt Róbert**

Másodéves biológia MSc hallgató

Témavezető: **Dr. Rác Arnold**

Pécsi Tudományegyetem

Természettudományi Kar

Biológiai Intézet

Növénybiológiai Tanszék



Pécs, 2025

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	4.
1. Bevezetés.....	5.
2. Irodalmi áttekintés.....	6.
3. Célkitűzések	10.
4. Anyag és módszerek.....	11.
4.1 Növénynevelés és az UV kezelés paraméterei.....	11.
4.2 Epidermális pigmenttartalom meghatározása	12.
4.3 Fotoszintézis vizsgálat	13.
4.4 Mintafeltárás	14.
4.5 Antioxidáns- és prooxidáns tartalmak meghatározása.....	14.
4.5.1 H ₂ O ₂ -tartalom meghatározása.....	15.
4.5.2 Szuperoxid-dizmutáz aktivitás meghatározása	15.
4.5.3 Szuperoxid-dizmutáz izoformák gélelektroforézissel történő elkülönítése ...	15.
4.5.4 Kataláz aktivitás meghatározása	16.
4.5.5 Peroxidáz aktivitás meghatározása	16.
4.5.6 Glikolát-oxidáz aktivitás meghatározása	16.
4.6 Statisztikai adatelemzés	17.
5. Eredmények.....	17.
5.1 Fotoszintézis vizsgálat	17.
5.2 Epidermális pigmenttartalmak	21.
5.3 Anti-és prooxidáns tartalmak	24.
5.4 Natív gélelektroforézis	27.

6. Diskusszió.....	29.
Köszönetnyilvánítás	34.
Irodalomjegyzék.....	35.
Függelék	38.

Rövidítések jegyzéke

A	CO ₂ asszimilációs ráta
ABTS	2,2'-azino- di-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav
ANOVA	analysis of variancies/varianciák analízise
CAT	kataláz
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
ETR	elektron transzport ráta
F	megvilágított levél minimális fluoreszcencia hatékonysága
F ₀	sötétadaptált levél minimális fluoreszcencia hatékonysága
F _m	sötétadaptált levél maximális fluoreszcencia hatékonysága
F' _m	megvilágított levél maximális fluoreszcencia hatékonysága
F _v	sötétadaptált levél változó fluoreszcenciája
GOX	glikolát-oxidáz
gsw	sztóma konduktancia
IRGA	infravörös gázanalizátor
NBT	nitro blue tetrazolium chloride
PAM	pulse-amplitude-modulation/pulzus-amplitúdó-moduláció
PAR	photoactive radiance/fotoszintetikusan aktív sugárzás
POD	III-as peroxidáz
PSII	kettes fotokémiai rendszer
ROS	reaktív oxigénszármazék
SAR	systematically acquired resistance/szisztémásan szerzett rezisztencia
SDS	sodium-dodecyl-sulfate/nátrium-dodecil-szulfát
SOD	szuperoxid-dizmutáz
TCA	trichloroacetic acid/triklórecetsav
TEMED	N,N,N',N''-tetrametil-etilén-diamin
TRIS	trisaminomethán
UV	ultraviolett/ultraibolya
Y(II)	kettes fotokémiai rendszer hatékonysága
Y(NO)	nem regulált nem-fotokémiai kioltás
Y(NPQ)	regulált fotokémiai kioltás

1. Bevezetés

A növények a Napból származó elektromágneses sugárzást használják fel életük során számos létfontosságú folyamathoz, többek között a fotoszintézishez. A fotokémiai reakciók során a napfény energiáját hasznosítják a légköri szén-dioxid redukciójához, amely nélkülözhetetlen a szerves anyag előállításához. Ennek eredményeként a fény mennyisége és minősége nemcsak a növények növekedésére, hanem fenotípusukra és szöveti felépítésükre is jelentős hatást gyakorol. A napfény hullámhossz alapján különböző tartományokra osztható: UV-C-re (280 nm alatt), UV-B-re (280–315 nm), UV-A-ra (315–400 nm), látható fényre (fotoszintetikusan aktív sugárzás, PAR 400–740 nm), valamint infravörös részre (740 nm fölött). Az UV-C sugárzást az ózonréteg teljes mértékben abszorbeálja, az UV-B sugárzást nagymértékben, míg az UV-A sugárzást csak részben szűri ki. Az UV-sugárzás mindhárom típusa hatással lehet a növényekre, de ezek közül az UV-B és UV-A a legjelentősebbek a természetes környezetben, ahol szabályozzák a növények élettani folyamatait, miközben bizonyos körülmények között károsító hatásuk is érvényesülhet (Hideg és mtsai. 2013.).

A fiatal mezőgazdasági növények esetében az UV-sugárzásnak való kitettség különösen kritikus lehet, mivel ezek a növények gyakran még nem rendelkeznek megfelelő védelmi mechanizmusokkal, így érzékenyebbek az erős fényviszonyok által okozott stresszre. A fóliasátorban vagy üvegházban növekvő palánták gyakran UV-sugárzástól mentes környezetben fejlődnek, így UV-naiv növényként kerülnek ki a szabadba, ahol közvetlen napfénynek, így erősebb fényviszonyoknak vannak kitéve. Ez a hirtelen környezeti változás védelem hiányában jelentősen csökkentheti a túlélési rátájukat. A mezőgazdaságban többféle abiotikus stresszhez történő alkalmazkodás elősegítésére is alkalmaznak primingot, például szárazságstresszhez vagy sóstresszhez történő akklimatizációhoz is (Pastor és mtsai. 2013; Ehab és mtsai. 2016; Abid és mtsai. 2016). A priming technika jellemzően vegyszerek használatával történik, azonban kutatásunkban alternatív megoldásként az UV-kezelést helyezzük előtérbe. Ez a módszer mind UV-B, mind UV-A sugárzással végezhető, amelyek nagy befolyással bírnak többek között a levélfelület, a szárhossz, a pigmenttartalom és a fotoszintézis folyamatainak szabályozására is (Dhanya és mtsai. 2017; Harris és mtsai. 2023).

Kutatásaink során gazdaságilag fontos haszonnövénnyel, veteménybabbal dolgozunk (*Phaseolus vulgaris* L.), amely különösen alkalmas az UV-kezelések vizsgálatára, mivel palántáinak két sziklevele ideális felületet biztosít az UV-kitettség szempontjából. Vizsgálataink első lépésében összehasonlítjuk az UV-kezelésen átesett és a kezeletlen

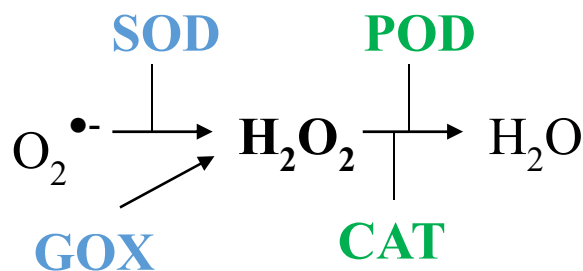
sziklevelek növényélettani paramétereit, hogy meghatározzuk az UV-sugárzás által indukált alkalmazkodási válaszokat. Ezt követően mindkét növénycsoport esetében megvárjuk az első két kifejtett levél megjelenését, majd ezeket összehasonlítjuk a saját szikleveleikkel. A kiértékelés során az egyes fejlettségű levelek közötti kommunikációs folyamatok jelenlétére keresünk élettani bizonyítékokat. Amennyiben sikerül igazolnunk a kommunikáció meglétét, bizonyíthatóvá válik, hogy a sziklevek UV-primingjének pozitív hatásai a kifejtett levelekben is érvényesülnek. Eredményeink így hozzájárulhatnak a sikeres növényi priming kialakításához anélkül, hogy közvetlen kezelést alkalmaznánk a már kifejtett leveleken. Összességében tehát kutatásunk arra irányul, hogy a szikleveles állapotban végzett UV-kezelés javítsa a palánták későbbi túlélési esélyeit, és ezzel hozzájáruljon a jövőbeli terméshozam növekedéséhez.

2. Irodalmi áttekintés

Az UV-B sugárzás jelentősége

Az ultraibolya sugárzás alapvető szerepet játszik a földi ökoszisztémák szabályozásában. A növények különösen érzékenyek az UV-B (280nm-315nm) sugárzásra, amely egyszerre stresszor és környezeti jelzőként működik. Az UV-B sugárzás okozta fiziológiai és biokémiai változások megértése különösen fontossá vált az ózonréteg csökkenése és az éghajlatváltozás miatt (Barnes és mtsai. 2019). Az UV-B sugárzás intenzitása és spektrális összetétele jelentős földrajzi és időbeli változékonyságot mutat. Aphalo (2018) a TUV modell segítségével bebizonyította, hogy a sugárzás intenzitása erőteljesen függ a földrajzi szélességtől, az évszaktól és a napszaktól. Ez különösen fontos a növények védelmi stratégiáinak vizsgálatakor, mivel az UV-B tolerancia szintje nagymértékben változhat az egyes ökoszisztémákban. Az UV-B sugárzás hatásai két kategóriába sorolhatók: stressz és szabályozó mechanizmusok. Jansen és Bornman (2012) tanulmányukban kiemelték, hogy az UV-B sugárzás fokozza a reaktív oxigénszármazékok (ROS) képződését, amelyek oxidatív károsodást okozhatnak. A növények ROS-termelését befolyásoló külső stressztényezők lehetnek biotikusak (más szervezetek által kiváltott) vagy abiotikusak (a kémiai vagy fizikai környezet változásaiból eredő). Az UV-B specifikus szabályozó mechanizmusokat is beindít, többek között például a növények flavonoid termelését és a sejtszintű jelátvitelt.

A reaktív oxigéngyökök és antioxidáns mechanizmusok szerepe



1. ábra A dolgozatban vizsgált H_2O_2 -tartalom szabályozásának sematikus képe

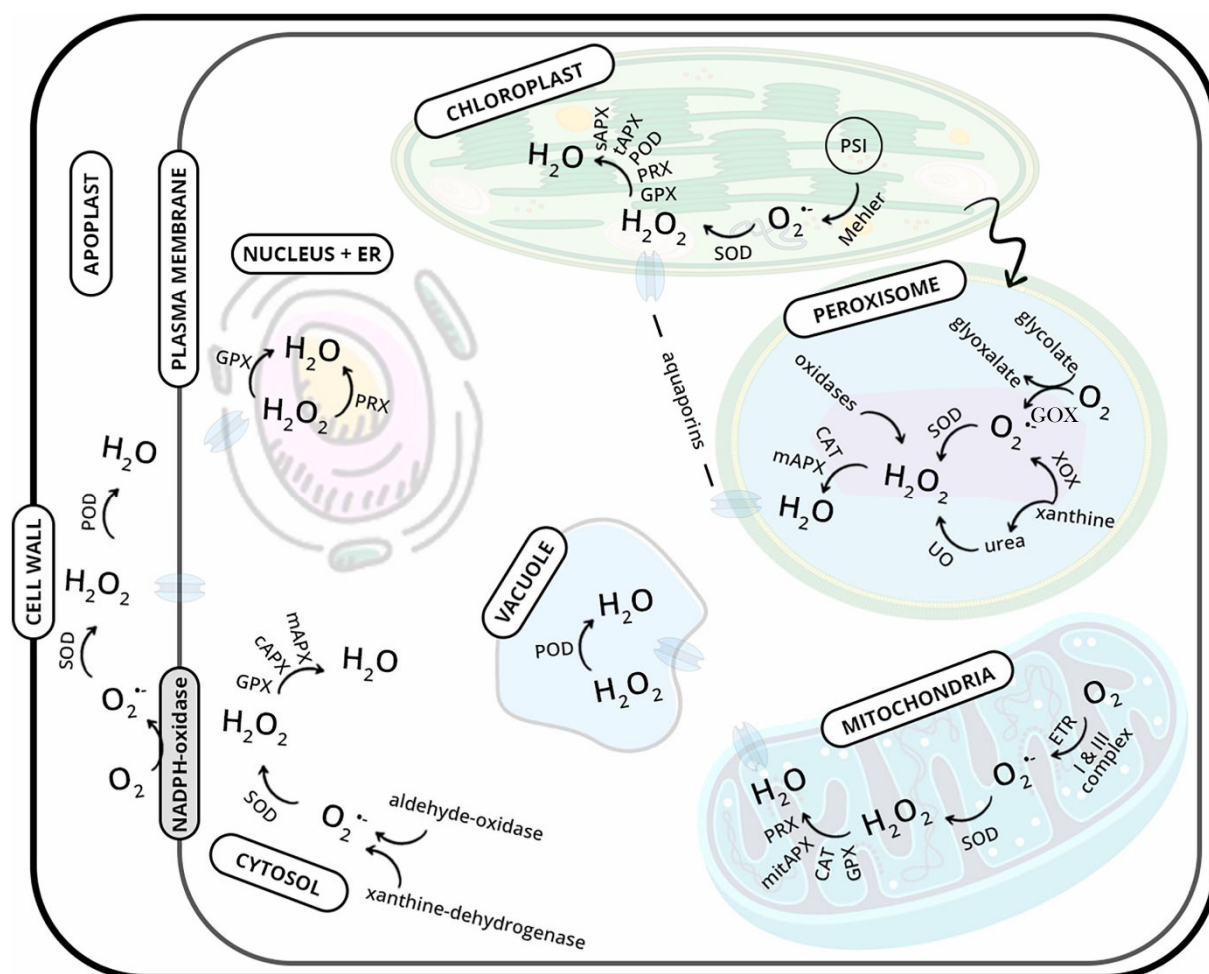
Az UV-B sugárzás egyik legjelentősebb hatása a ROS molekulák, például a szuperoxid-anion ($O_2^{\bullet-}$), a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a hidroxil-gyök ($OH^{\bullet}$) megnövekedett termelése (Asada 2006). Ezen molekulák egyensúlya kritikus a növényi sejtek számára, mivel a túlzott ROS-termelés oxidatív stresszt és sejtkárosodást okozhat (Apel és Hirt 2004).

A szuperoxid-dizmutázok (SOD-ok) az antioxidáns enzimek közé tartoznak, amelyek a szuperoxid-aniont hidrogén-peroxiddá alakítják, így ez a folyamat kulcsfontosságú a ROS-szintek szabályozásában, hozzájárul a sejtek oxidatív károsodásának minimalizálásához (Barta és mtsai. 2004). A SOD-enzimeket fém-kofaktoraik alapján csoportosíthatjuk: mangán (Mn), vas (Fe) és réz/cink (Cu/Zn) SOD-enzimekre. A Mn-SOD a mitokondriumokban és a peroxiszómákban, a Fe-SOD a kloroplasztiszokban és a peroxiszómákban, a Cu/Zn-SOD pedig a kloroplasztiszokban, a peroxiszómákban, a citoszólban és az apoplasztban fordul elő (Természet Világa 152. évf. 2. sz. 2021.).

A hidrogén-peroxid (H_2O_2) különleges helyet foglal el a reaktív oxigénszármazékok között, mivel kettős szerepet játszik. Egyrészt károsító ágensként, nagy koncentrációban a H_2O_2 oxidatív károsodást (oxidatív stresszt) okozhat a fehérjékben, membránlipidekben és más sejtkomponensekben, végül pedig programozott sejthalálhoz vezethet, így a növények ennek az ellensúlyozására enzimatis és nem-enzimatis antioxidáns védelmi rendszereket alakítottak ki. Másrészt alacsony koncentrációban fontos jelzőmolekulaként működik a H_2O_2 , amely számos védelmi mechanizmust aktivál (Czégény és mtsai. 2014) és különböző fiziológiai folyamat szabályozásában részt vevő géneket aktiválja (Habibi 2014).

A környezeti stressz ROS-termelődéshez vezet, amelyből H_2O_2 is keletkezik. Különleges tulajdonsága, hogy képes szabadon diffundálni a sejtmembránokon keresztül, ami nemcsak a károsodás elterjedését, hanem a stresszre adott válaszok együttes irányítását is lehetővé teszi.

Emellett viszonylag hosszú élettartamának köszönhetően központi szerepe van a stresszhez kapcsolódó jelátviteli útvonalakban (Møller és mtsai. 2007). A növények H_2O_2 -érzékelése lehetővé teszi a gyors válaszreakciókat, például az antioxidáns enzimek szintézisét.



2. ábra Enzimatisz hidrogén-peroxid (H_2O_2) tartalmat szabályozó útvonalak növényi sejtekben (módosítva Czégény & Rácz (2023))

A peroxidázok (POD) a hidrogén-peroxid lebontását végzik, amely során vízzé és oxigénné alakítják. Cosio és Dunand (2009) tanulmányukban rámutattak arra, hogy a peroxidázok génjei és expressziós mintázata szorosan szabályozott, ami lehetővé teszi a növények számára, hogy hatékonyan reagáljanak az UV-B által kiváltott oxidatív stresszre.

Már hosszú ideje ismert, hogy a glikolát-oxidáz (GOX) a peroxiszómákban található enzim, amely a glikolátot glioxiláttá oxidálja, miközben hidrogén-peroxid (H_2O_2) keletkezik melléktermékként. Ez a reakció kulcsfontosságú a fotorespiráció során, amely a növények anyagcseréjének része.

A kataláz (CAT), mint antioxidáns enzim jelentős szerepet játszik a H_2O_2 hatékony lebontásában, melyet vízre és oxigénre bont. Ez az enzim megtalálható a mitokondriumokban, citoszolban, kloroplasztiszokban, de különösen aktív a peroxiszómákban. A kataláz

tevékenysége hozzájárul az oxidatív stressz mérsékléséhez, különösen olyan stresszorok, mint az UV sugárzás hatására (Sharma és mtsai. 2014).

Szisztémás hatás

A növényekben a szisztémás hatás olyan válaszreakció, amelyben egy adott inger vagy stresszhatás nemcsak a közvetlenül érintett sejtekben, hanem a távolabbi, nem érintett szövetekben is védelmi mechanizmusokat aktivál. Ez a folyamat lehetővé teszi a növény számára, hogy hatékonyabban reagáljon a környezeti kihívásokra, például biotikus (Alvarez és mtsai. 1998; Bolwell és mtsai. 2002) vagy abiotikus stresszre (Zandalinas és mtsai. 2020). A növényekben a H_2O_2 közvetíti a szisztémás szerzett rezisztenciát (SAR), amely során a lokális fertőzés hatására az egész növényben fokozódik a védekezőképesség (Kuzniak és mtsai. 2000; Orozco-Cardenas és mtsai. 1999).

Komplex környezeti kölcsönhatások

Az UV-B sugárzás hatásai gyakran komplex kölcsönhatásban állnak más környezeti tényezőkkel, például a fényintenzitással és a hőmérséklettel. Jansen és mtsai. (2019) kiemelték, hogy ezek a kölcsönhatások kritikus szerepet játszanak a növények fiziológiai válaszaiban. Az ilyen komplex hatások megértése nélkülözhetetlen a jövőbeli mezőgazdasági stratégiák tervezéséhez.

UV priming a mezőgazdasági gyakorlatban

Az UV-B sugárzás használata egyre inkább előtérbe kerül, mivel segíthet növelni a növények tápértékét és stressztűrő képességét. Kutatások kimutatták, hogy az UV-B sugárzás hatására a növények több antioxidáns, például flavonoidokat termelnek, amelyek nemcsak az emberi egészség szempontjából hasznosak, hanem a növények védekezésében is fontos szerepet játszanak. Emellett az UV-B kezelés javítja a fotoszintézis hatékonyságát, növeli a növények ellenálló képességét a kórokozókkal szemben, és segíti őket a környezeti stresszhatások leküzdésében (Castagna et al., 2017; Neugart & Schreiner, 2018; Rodríguez-Calzada et al., 2019).

Az UV-B sugárzással képesek vagyunk előidézni az úgynevezett primingot. Ez azt jelenti, hogy a növényeket egy enyhe stresszhatás – például UV-B kezelés – "felkészíti" egy későbbi, erősebb stresszre. A priming során a növények gyorsabban és hatékonyabban aktiválják a védelmi mechanizmusait, például a reaktív oxigénszármazékok (ROS) semlegesítésében részt vevő antioxidáns enzimeket (például POD, SOD). Ez a folyamat segít megvédeni a növény sejtjeit az oxidatív károsodástól, és megnöveli a stressztűrő képességüket. Összességében az UV-B sugárzás nemcsak közvetlen hatásával javítja a növények védekezését, hanem a priming révén hosszabb távú előnyöket is nyújt. Az UV-B kezelés így hozzájárulhat a

fenntartható mezőgazdasági gyakorlatok kialakításához. Az UV-B sugárzás megfelelő alkalmazása révén csökkenthető a kémiai növényvédő szerek használata és vegyszermentes kezelési formák létrehozása válik lehetségessé, valamint növelhető a termények minősége és hozama.

3. Célkitűzések

A kutatásunk célja annak feltárása, hogy az UV priming miként befolyásolja a növények alkalmazkodási válaszainak részét képező fotoszintetikus folyamatokat, pigmentek bioszintézisét és a védelmi mechanizmusok, például a pro- és antioxidáns rendszerek indukálhatóságát. Kísérleteink során modellszervezetként veteménybabot alkalmaztunk, kiemelt figyelmet fordítva a sziklevelek és a kifejlett lombszelevek közötti eltérésekre, valamint a kezelt és kezeletlen növények összehasonlítására. Az eltérő levéltípusok közötti kommunikációt, így az UV által kiváltott szisztémás válaszokat, mind a besugárzott sziklevelek és az UV naiv lombszelevek, valamint a besugárzott lombszelevek és az UV naiv sziklevelek között is megvizsgáljuk. Kísérleteink során mindkét levéltípus esetében kiértékeljük az UV sugárzás lehetséges növényi fitness-fokozó hatását, figyelembe véve az alkalmazkodási mechanizmusok sokféleségét és azok eltérő indukálhatóságát.

Az alábbi szempontok alapján kívánjuk feltárni a bemutatott kutatási téma fő kérdéseit:

- Az UV-kezelés hatására kialakuló szisztémás válaszok vizsgálata eltérő korú levelekben az alábbi szempontok alapján:
 1. Epidermális pigmenttartalmak meghatározása,
 2. Fotoszintetikus aktivitás vizsgálata klorofill-fluoreszcencia méréseken alapuló hatékonysági mutatók (PAM) és CO₂ hasznosításon alapuló (IRGA) módszerek használatával,
 3. A pro- és antioxidáns tartalmak fotometriás meghatározása.

Kísérleti elrendezésünk lehetőséget nyújt annak tesztelésére, hogy a kiegészítő UV sugárzásnak ki nem tett levelek képesek-e szisztémás válasz formájában kifejezni a direkt UV hatására megfigyelt alkalmazkodási válaszokat. Továbbá lehetőségünk nyílik a szisztémás válaszok irányának a jellemzésére is a különböző korú levelek között.

Eredményeink várhatóan hozzájárulnak a növények stressztűrő képességét serkentő, különösen az UV indukálta eustressz folyamatainak részletesebb megismeréséhez.

4. Anyagok és módszerek

Kutatásunk során modellszervezetként veteménybabot (*Phaseolus vulgaris* L.) alkalmaztunk, mivel ez egy széles körben használt modellnövény például a stresszélettani vizsgálatokhoz, köszönhetően gyors növekedésének és a levelek fejlődési szakaszainak jól elkülöníthető jellemzőinek. Egyik fő előnye számunkra, hogy levelei ideális pozícióban nőnek a felülről érkező UV kezeléshez, mely nagy felületen biztosít egyenletesen besugárzott levélmintákat. A kísérletek célja az UV sugárzás által kiváltott szisztémás alkalmazkodási mechanizmusok tanulmányozása volt, különös tekintettel a fotoszintetikus aktivitásra, a pigment-bioszintézisre, valamint a pro- és antioxidáns rendszerek ebben betöltött szerepére.

4.1 Növénynevelés és az UV kezelés paraméterei

A veteménybab (*Phaseolus vulgaris* L.) növények növénynevelő kamrában nőttek (Fitotron, SGC 120 Plant Growth Chamber, Weiss Technik UK, Loughborough, UK) általános virágföldben és hosszúnappalos körülmények között, ez naponta 16 órás megvilágítási időt jelentett $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoszintetikusan aktív sugárzással (PAR), melyet hideg és meleg fényű csövek együttes használata biztosított (Polylux XL F36W/840 Cool White 4000K és F36W/865 Daylight 6500K, GE-Tungsram, Hungary).

A kísérlet során 76 db növényrel dolgoztunk 4 különböző csoportra bontva, mindegyik csoportban 19 db növényrel, melyek leveleit 3 hetes korukban gyűjtöttünk be.

A kezelési csoportjaink a következők voltak:

- Egész életük során kontroll körülmények között (UV naív) nevelt,
- Egész életükben kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt,
- 2 hét UV kezelés után kontroll körülmények közé helyezett,
- 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzásnak kitett.

Ezeket a csoportokba tartozó mintáinkat a szik- és lomblevelek elkülönítése után a következő kódokkal láttuk el:

C-W-SZ: Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény sziklevele

C-W-N: Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény első náduszán lévő levele (lomblevele)

UV-W-SZ: Egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény sziklevele

UV-W-N: Egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény első náduszán lévő levele (lomblevele)

C-H-SZ: 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény sziklevele

C-H-N: 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény első náduszán lévő levele (lomblevele)

UV-H-SZ: 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény sziklevele

UV-H-N: 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény első náduszán lévő levele (lomblevele)

A lomblevelek a 14. napon fejlődtek ki és nyíltak ki teljesen, ezért ekkor történtek meg a csoportok közötti növénycserék. A kiegészítő UV kezelés napi 3 órás volt, amit a fényperiódusuk közepén kaptak meg a növények, mely $\sim 6.9 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ biológiailag effektív UV dózisnak felelt meg, mely egy átlagolt érték a két levélszint alapján. Az UV kezeléshez UV-B és UV-A sugárzást is tartalmazó fénycsőket használtunk (Panel UVB-313EL tubes, Q-Lab Ltd., Bolton, UK). A kezelt növények esetében a 280 nm alatti hullámhosszúságú sugárzás kizárására cellulóz-diacetát szűrőt (Courtaulds Chemicals, Derby, UK), a kontroll növények esetében pedig UV szűrő fóliát alkalmaztunk (R3114, Roscolab, London, UK).

4.2 Epidermális pigmenttartalom meghatározása

A levelek klorofill-, flavonoid- és antocián tartalmának non-invazív mérését DUALEX® SCIENTIFIC készülékkel végeztük. A műszer a klorofill index meghatározásához a levelek transzmisszióját (T) két hullámhosszon, 650 nm-es vörös és 940 nm-es infravörös fénnel mérte:

$$\text{klorofill index} = \frac{(T \text{ infravörös} - T \text{ vörös})}{T \text{ vörös}}$$

Az epidermális flavonoidok UV-sugárzást elnyelő képessége miatt a flavonoid index meghatározására fluoreszcencia fluoreszcencia intenzitásokat alkalmaz az eszköz (F), melyeket UV-tartományú, valamint vörös (650 nm) és zöld fény gerjesztésével mér A flavonoid- és antocián indexeket az alábbi képletek segítségével tudtuk meghatározni Overbeck és mtsai. munkája alapján (2018):

$$\text{flavonoid index} = \log \frac{\text{vörös fény gerjesztette infravörös } F}{\text{UV fény gerjesztette infravörös } F}$$

$$\text{antocián index} = \log \frac{\text{vörös fény gerjesztette infravörös } F}{\text{zöld fény gerjesztette infravörös } F}$$

A Dualex készülék a pigmenttartalom becslésére és a különböző levelek gyors összehasonlítására szolgál. Ennek megfelelően a levelek összehasonlítása a fent említett epidermális indexek alapján történik, nem pedig abszolút értékek (koncentrációk) meghatározásával.

A dolgozatban csak a kísérleti növényeink adaxiális levéloldalán mért pigmenttartalmakat értékeltük ki, mivel a klorofill indexnél és az antocianin indexnél is ugyanazokat az eredményeket kaptuk, mint az abaxiális oldalon. Továbbá a mért abaxiális flavonoid indexeknél a mérőműszer érzékenysége alatti értékeket kaptunk, így ezek sem értékeltük ki.

4.3 Fotoszintézis vizsgálat

A növények fotoszintézisének mérését infravörös gázanalizátor (IRGA) és egy ráhelyezett PAM fej (Multiphase Flash™ Fluorometer) segítségével végeztük el. A mérésekre napközben, 11:00 és 15:00 óra között (UTC +2) került sor az IRGA (LI-6800, LI-COR Biosciences GmbH, Bad Homburg, Németország) használatával a kijelölt leveleken. Az IRGA mérőkamrájában telítő impulzust alkalmaztunk a leveleken a minimális és maximális

fluoreszcencia értékek (F_0 : az impulzus előtt; F_m : az impulzus után) mérésére. A II-es fotokémiai rendszer (PSII) maximális kvantumhatásfokát ezekből az adatokból számítottuk ki (Genty és mtsai. 1989.) az alábbi képlet alapján:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{(F_m - F_0)}{F_m}$$

Az F_v/F_m adatokat nem tüntettük fel a dolgozatban, mivel a kezelés okozta lehetséges károsodások jellemzésére egyéb fotokémiai paramétereket használtunk. A levelekben a PSII hatékonyságát $Y(II) = (F'_m - F) / F'_m$, a nem regulált nem-fotokémiai kioltást $Y(NO) = F / F_m$ és a regulált nem-fotokémiai kioltást $Y(NPQ) = F / F'_m - Y(NO)$ KLUGHAMMER és SCHREIBER (2008) alapján számoltuk ki.

Az IRGA beállításai során a következő fényteltődési görbét használtuk ($PAR = 0; 110; 530; 925; 1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), amelyet vörös-kék LED fényforrással hoztunk létre (90:10). A levélkamrában a páratartalom 60%-os volt, a kontroll kamrában a szén-dioxid koncentrációja pedig $400 \mu\text{mol m}^{-1}$ volt. A hőmérsékletet a pontosabb mérés érdekében nem szabályoztuk (22°C). A non-invazív mérési eredmények közül a dolgozatban csak a sztóma konduktanciát (gsw) és a fotoszintetikus szén-dioxid asszimilációt (A) elemeztük, növényenként egy sziklevelel és egy lomblevelen.

4.4 Mintafeltárás

A fent említett, nem beavatkozó jellegű méréseket követően a bableveleket cseppfolyós nitrogénben porrá őröltük. Ezután a mintákat kálium-foszfát pufferben (50 mM, pH 7.2, 1 mM hozzáadott EDTA-val) homogenizáltuk. A levélkivonatokat centrifugáltuk ($24.400 \times g$, 30 perc, 4°C , Hettich Rotina 380 R), és a felülúszókat használtuk fel az enzimaktivitások meghatározásához. A mintákat felhasználásig -60°C -on tároltuk.

4.5 Antioxidáns- és prooxidáns tartalmak meghatározása

A mintaelőkészítés után a minták fehérjetartalmát a standard Bradford-módszerrel határoztuk meg, amely az enzimaktivitások egységesítéséhez volt szükség (Bradford és mtsai. 1976).

4.5.1 H₂O₂-tartalom meghatározása

A levelek H₂O₂-szintjét egy fotometriás méréssel becsültük meg (Mátai & Hideg 2017.), amely az H₂O₂ által indukált abszorpcióváltozáson alapul 125 μ M xylenol orange jelenlétében, 6% (V/V) triklórecetsavban (TCA). Ehhez a méréshez a mintákat a már eldörzsölt és lefagyasztott levélporból mértük ki és a csövekben lévő por tömege alapján kiszámoltuk a hozzáadandó TCA térfogatát. Ezek után homogenizáljuk a csövek tartalmát, majd centrifugáltuk (24.400 $\times$ g, 10 perc, 4 °C, Heraeus Fresco 17 centrifuga, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). A xylenol orange hozzáadása után a felülúszókat 30 percig inkubáltuk, mielőtt az 560 nm-es abszorpciót meghatároztuk. A levelek H₂O₂-tartalmát kalibrációs görbék alapján, nM mg⁻¹ FW (fresh weight/friss tömeg) egységben adtuk meg.

4.5.2 Szuperoxid-dizmutáz aktivitás meghatározása

A mérés a 0,1 mM nitroblue-tetrazolium (NBT) redukciójának gátlásán alapul, melyhez a riboflavin (0,27mM) generál szuperoxid-anionokat, amit az enzim semlegesít (Sun és mtsai. 1988). A reakcióelegyet kálium-foszfát pufferben (50 mM, pH 7.2, 1 mM hozzáadott EDTA-val) oldottuk, majd plate reader-t (Multiskan FC Microplate) használtunk az abszorbanciák méréséhez 560nm-en, a wellbe az egyes mintákból 3; 5 és 7 μ L-t helyeztünk. Az enzimaktivitást a Bradford eredmények alapján U SOD μ g⁻¹ fehérje egységben adtuk meg.

4.5.3 Szuperoxid-dizmutáz izoformák meghatározásához gélelektroforézis

A SOD izoformák elkülönítésének módszerét Majer és mtsai. (2014) által leírtak szerint végeztük, kisebb módosításokkal. Az enzim aktivitásának meghatározásához a mintákat először SDS-mentes, natív 10%-os gélen futtatuk meg. A szétválasztás után a géleket desztillált vízben mostuk, majd sötétben inkubáltuk 30 percig egy 50 mM nátrium-foszfát pufferben (pH 7,8), amely 1 mM EDTA-t, 0,05 mM riboflavint, 0,1 mM NBT-t és 0,3% N,N,N'',N''-tetrametil-etilén-diamint (TEMED) tartalmazott. Ezt követően a géleket 2 percig megvilágítottuk, hogy a SOD aktivitásokat mutató szintelen sávok a sötétlila festésű gélben láthatóvá váljanak. A különböző SOD izoformák szétválasztásához vagy 2 mM KCN-t (a Cu/Zn-SOD izoforma

gátlója), vagy 2 mM H_2O_2 -t (az FeSOD és a Cu/Zn-SOD izoforma gátlója) adtunk a festőoldathoz. A géleket a színtelen sávok megjelenése alapján értékeltük, csak kvalitatív összehasonlítással.

4.5.4 Kataláz aktivitás meghatározása

A kataláz aktivitását úgy határoztuk meg, hogy követtük a H_2O_2 koncentráció csökkenését a 240 nm-es abszorbancián (Aebi és mtsai. 1984). A reakcióelegy 100 mM H_2O_2 -t és 1 mM EDTA-t tartalmazó 50 mM-os kálium-foszfát pufferben (pH 7,2) zajlott. A reakciót 50 μL levélmintával indítottuk el és az aktivitásokat a szubsztrát oxidációjából származó moláris extinkciós együttható ($43,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) alapján számítottuk ki, és a Bradford eredmények alapján $\mu\text{U CAT } \mu\text{g}^{-1}$ fehérje egységben adtuk meg.

4.5.5 III-as típusú peroxidáz aktivitás meghatározása

A III-as típusú peroxidáz aktivitását savas reakcióelegyben (50 mM foszfát-citrát puffer, pH 5,0) mértük, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-szulfonsav (ABTS) szubsztrát felhasználásával, ahogy Rácz és mtsai. (2020) leírták, kisebb módosításokat végezve a módszeren. A reakció 15 μL levélminta hozzáadásával indítottuk el, az enzimaktivitást a szubsztrát oxidációját követve határoztuk meg 651 nm-en, plate reader-rel (Multiskan FC Microplate). Az aktivitásokat a szubsztrát oxidációjából származó moláris extinkciós együttható ($11,23 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) alapján számítottuk ki, és a Bradford eredmények alapján U POD μg^{-1} protein egységben adtuk meg.

4.5.6 Glikolát-oxidáz aktivitás meghatározása

A glikolát-oxidáz enzim aktivitását bázikus körülmények között mértük, 0,5M tris(hidroximetil)aminometán (TRIS) pufferben (pH 8,5), 19,43mM ABTS, 200mM glikolsav és 100 unit torma peroxidáz felhasználásával (Manchenko 2002). A reakciót 10 μL levélmintával indítottuk, a szubsztrát oxidációját követve határoztuk meg az enzimaktivitást 651 nm-en, plate reader-rel (Multiskan FC Microplate). A szubsztrát oxidációjából származó moláris extinkciós együttható ($11,23 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) alapján számítottuk ki, és a Bradford eredmények alapján U GOX μg^{-1} protein egységben adtuk meg.

4.6 Statisztikai adatelemzés

Minden méréshez a növények egy sziklevelét és egy lomblevelét használtuk fel, kísérleti csoportonként $n = 19$ növényt vizsgáltunk így. Az eredményeket a grafikonokon átlag $\pm$ szórás mutatjuk. A szignifikáns különbségeket egyutas variancianalízissel (ANOVA) és Tukey's pairwise post-hoc teszttel határoztuk meg, $p < 0,05$ szignifikanciaszint mellett. A statisztikai analíziseket a Past programmal végeztük el (Hammer és mtsai. 2001).

5. Eredmények és megvitatásuk

Az eredmények ábrázolása során is a már leírt kódrendszert használtuk:

C-W-SZ: Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény sziklevele

C-W-N: Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény első nóduszán lévő levele (lomblevele)

UV-W-SZ: Egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény sziklevele

UV-W-N: Egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény első nóduszán lévő levele (lomblevele)

C-H-SZ: 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény sziklevele

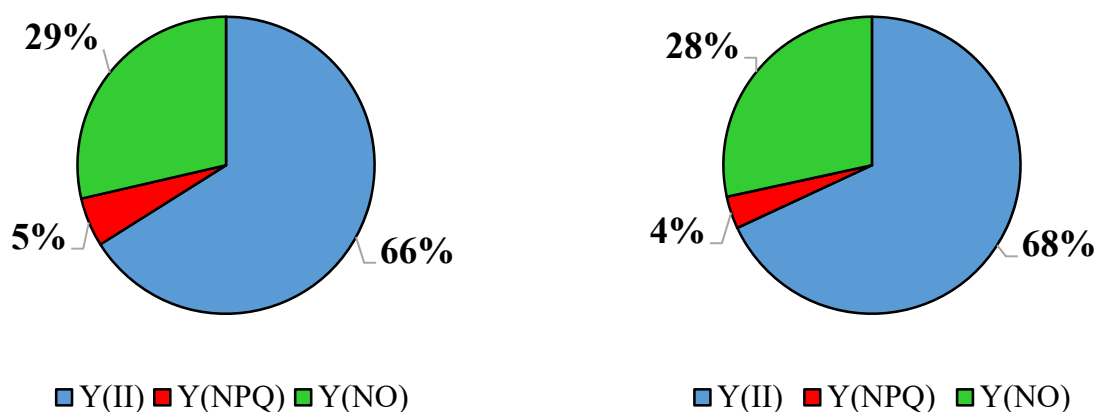
C-H-N: 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény első nóduszán lévő levele (lomblevele)

UV-H-SZ: 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény sziklevele

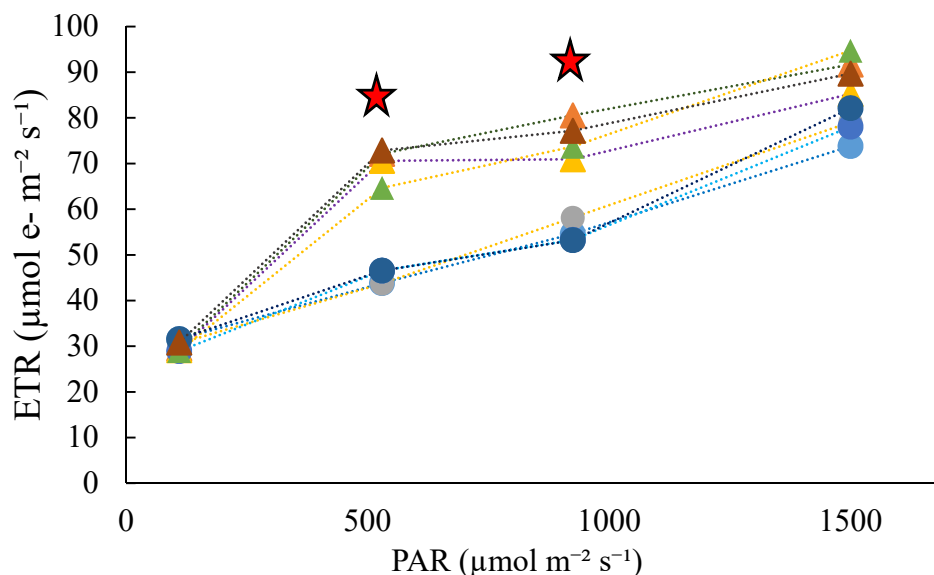
UV-H-N: 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény első nóduszán lévő levele (lomblevele)

5.1 Fotoszintézis vizsgálat

A bablevelek fotoszintetikus aktivitásának értékeléséhez négyféle klorofill fluoreszcencián alapuló paramétert (ETR, Y(II), Y(NPQ), Y(NO)) és két, infravörös gázanalizátorral mért paramétert (A, gsw) vizsgáltunk. A fotoszintézis hatékonyságát meghatározó hozamok kapott arányai alapján ($1 = Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO)$, $100\% = \sim 65\% + \sim 30\% + \sim 5\%$) elmondható, hogy sem a kontroll, sem az UV-kezelt növények esetében nem történt károsodás a kezelés hatására.



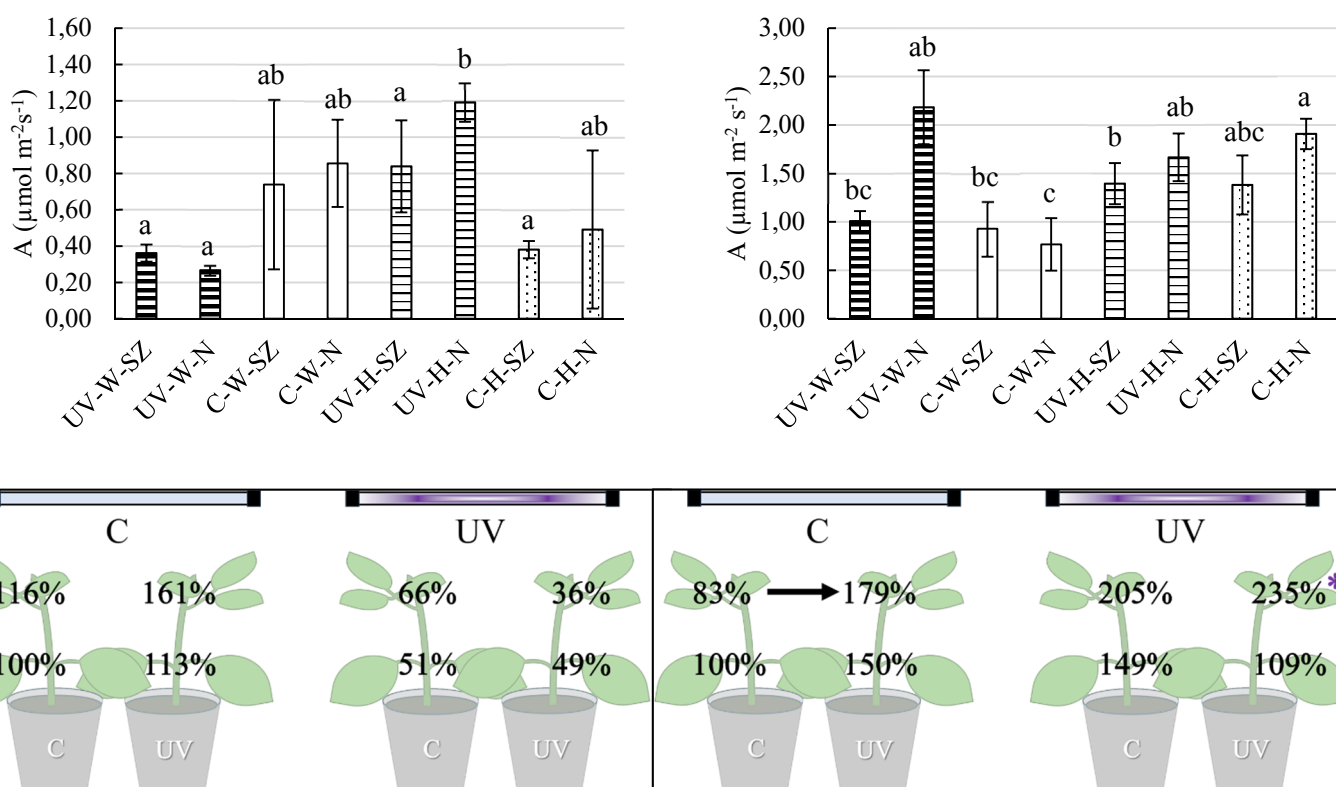
3. ábra A fotoszintézis hatékonyságát mutató mérések nevelőfényen (110 PAR) (Bal oldalt kontroll, jobb oldalt UV-kezelt)



4. ábra Fénygörbék különböző fényviszonyok alatt, a nyolc csoport esetén. A növekvő fényviszonyok mellett a következő mérési pontok alapján: 110 PAR, 535 PAR, 925 PAR, 1500 PAR határoztuk meg az ETR hatékonyságát. A háromszögek a lombleveleket, a körök a szikleveleket jelölik. A sziklevel csoportoktól szignifikánsan különböző lomblevel csoportokat együttesen csillaggal jelöltük.

Megfigyeltük, hogy 110 PAR alatt egységes az ETR hatékonysága az összes csoport között, mivel ezen fényviszony mellett növekedett az összes csoport növénye. Az 535 PAR-on és 925 PAR-on a sziklevek és a fiatal lombszelevek szétválnak, szignifikánsan magasabb ETR értékekkel szerepelnek a lombszelevek (kezeléstől függetlenül), mint a sziklevek. Ez az elkülönülés viszont megszűnik a nevelőfény több mint 10-szeresén, 1500 PAR-on. Az ETR eredmények is alátámasztják, hogy a kiegészítő UV kezelés egyik levélszinten sem okozott károsodást a növények között.

A klorofill fluoreszcencia mérésekkel párhuzamosan megtörtént a levelek gázcseréjén alapuló fiziológiai paraméterek felvétele is. Elsőként a nettó fotoszintetikus aktivitást vizsgáltuk, mely a sejtek által elnyelt CO₂ hasznosulásán alapszik, ezzel a PAM által vizsgált fotoszintézis fényszakasz hatékonysága mellett, a sötét szakasz hatékonyságát is jellemezhetjük. A következőkben csak a nevelőfényen (110 PAR) és a 925 PAR-on mért eredményeket mutatjuk be.

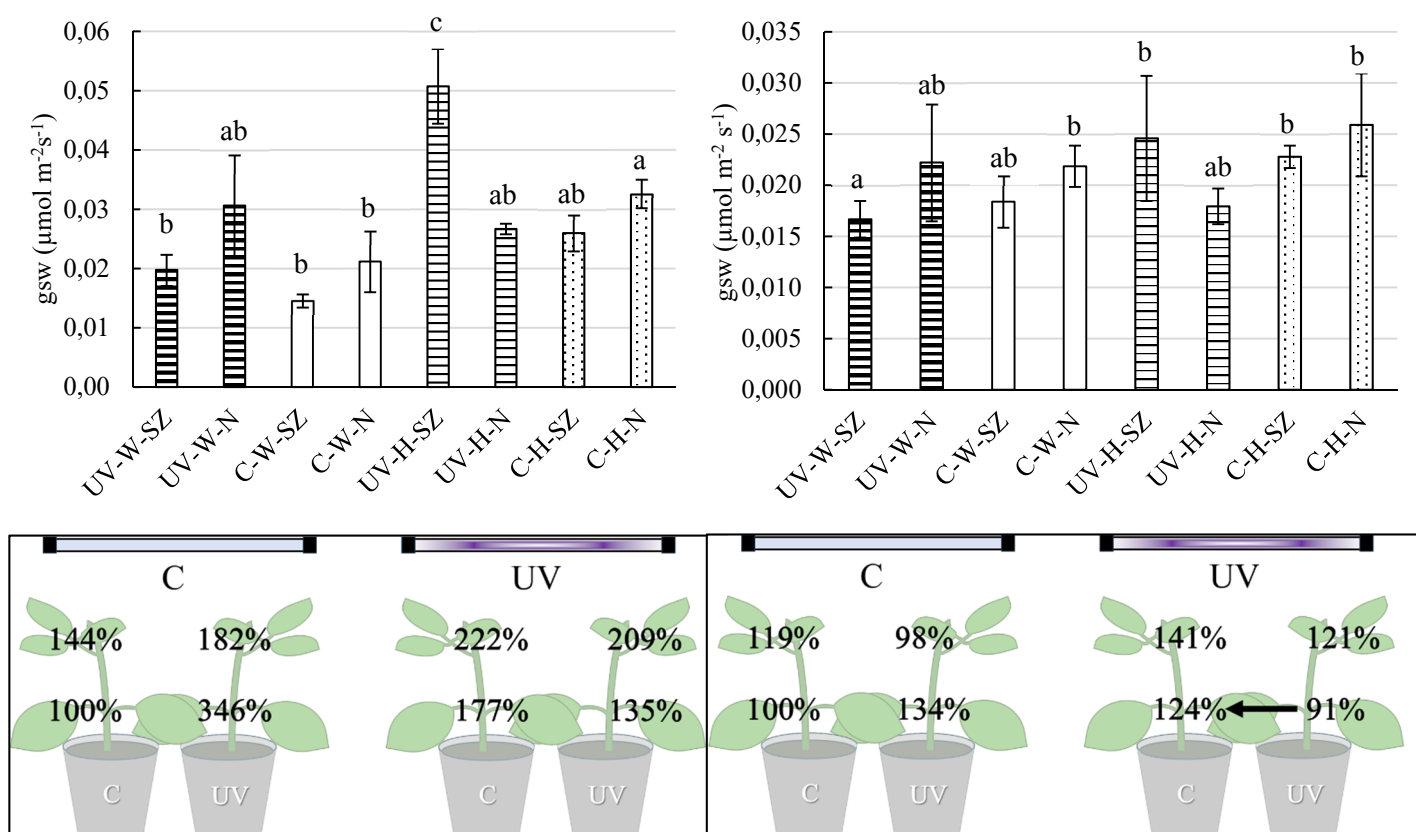


5. ábra Az asszimilációs ráta csoportonkénti átlagértékei oszlopdiagramon ábrázolva (felső ábra) és százalékos értékekben kifejezve (alsó ábra), ahol a kontroll sziklevel abszolút értékét tekintettük 100%-nak. A baloldali ábrák a 110 PAR-on, a jobb oldali ábrák 925 PAR-on mért értékeket mutatják be

→: szignifikáns szisztémás hatás

*: szignifikáns direkt UV-hatás

110 PAR-on sem direkt UV hatásként, sem szisztémás hatásként sem tapasztaltunk szignifikáns változásokat az asszimilációs ráta értékeiben. Viszont magasabb, a természetes fényviszonyokhoz közelebb, 925 PAR-on mind a direkt UV-hatására, mind szisztémás válasz részeként is megemelkedett a nettó fotoszintetikus aktivitás, de csak a lombleveleknél. Eredményeink alapján magasabb PAR mellett kiegészítő UV sugárzásnak kitett sziklevek képesek szisztémás válasz részeként a fotoszintetikus aktivitás serkentése a lomblevelekben.



6. ábra A sztoma konduktancia eredmények csoportonkénti átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon (felső ábra) és százalékos értékekben kifejezve (alsó ábra), ahol a kontroll sziklevel abszolút értékét tekintettük 100%-nak.

A baloldali ábrák a 110 PAR-on, a jobb oldali ábrák 925 PAR-on mért értékeket mutatják be

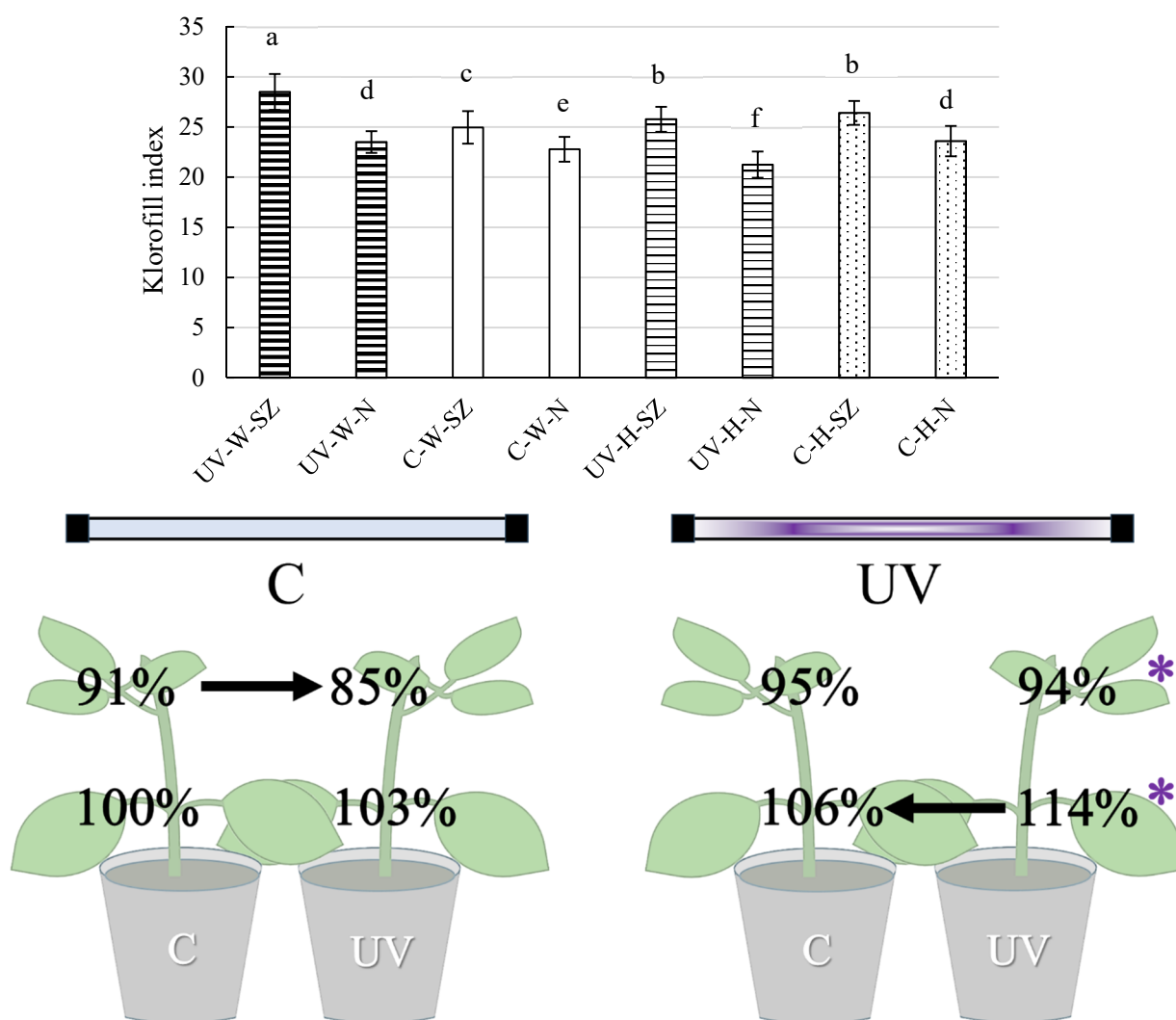
→: szignifikáns szisztémás hatás

*: szignifikáns direkt UV-hatás

A sztoma konduktancia eredmények a szén-dioxid asszimilációs értékekhez hasonlóan nem mutattak szignifikáns különbségeket 110 PAR-on, sem szisztémás, sem direkt UV-hatására. Szintén csak 925 PAR-on kaptunk szignifikáns eltéréseket, viszont csak a sziklevek esetében. Direkt UV-hatásként nem, csak szisztémás hatásként a sziklevek megemelték a sztoma konduktancia értékeiket, ezzel nyitottabbá téve a sztómáikat.

5.2 Epidermális pigmenttartalmak

Noninvazív méréseink közül az utolsó az epidermális pigmenttartalmak meghatározása volt, mivel a levélpigmentek megváltoztatása a levelekben egy jól monitorozható UV-indukálta alkalmazkodási válasz. Elsőként a klorofill-indexet vizsgáltuk meg növényeinkben.

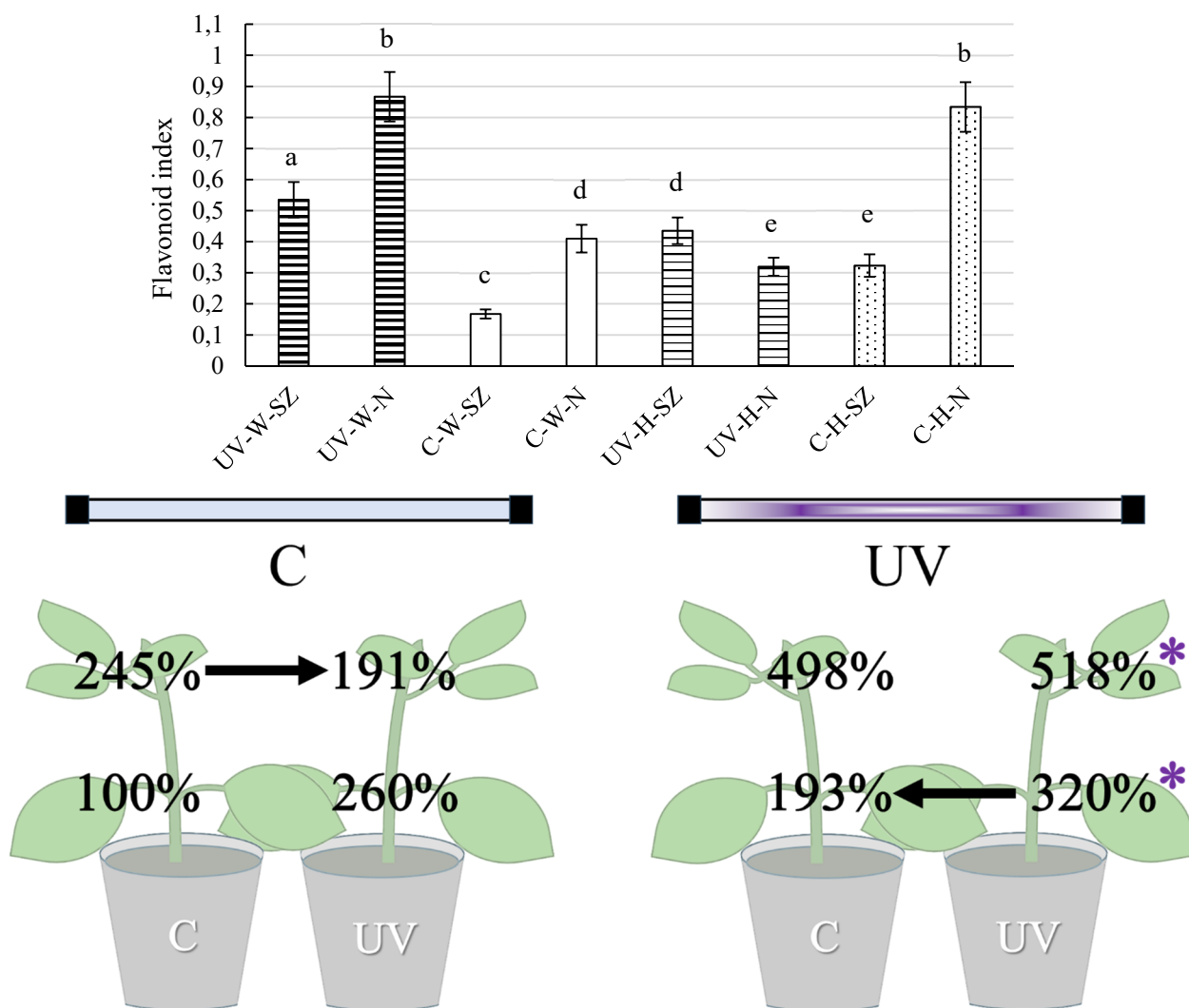


7. ábra Klorofill index eredmények csoportonkénti átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon (felső ábra) és százalékos értékekben kifejezve (alsó ábra), ahol a kontroll sziklevél abszolút értékét tekintettük 100%-nak.

→: szignifikáns szisztémás hatás *: szignifikáns direkt UV-hatás

A direkt UV-hatás lecsökkentette a klorofill-tartalmat sziklevél szinten és megemelte lombrevél szinten. Mindkét kicserélt csoportnál a direkt UV-val ellentétes szisztémás választ

tapasztaltunk, a lomblevelek lecsökkentették, míg a sziklevek megemelték a klorofill tartalmukat.



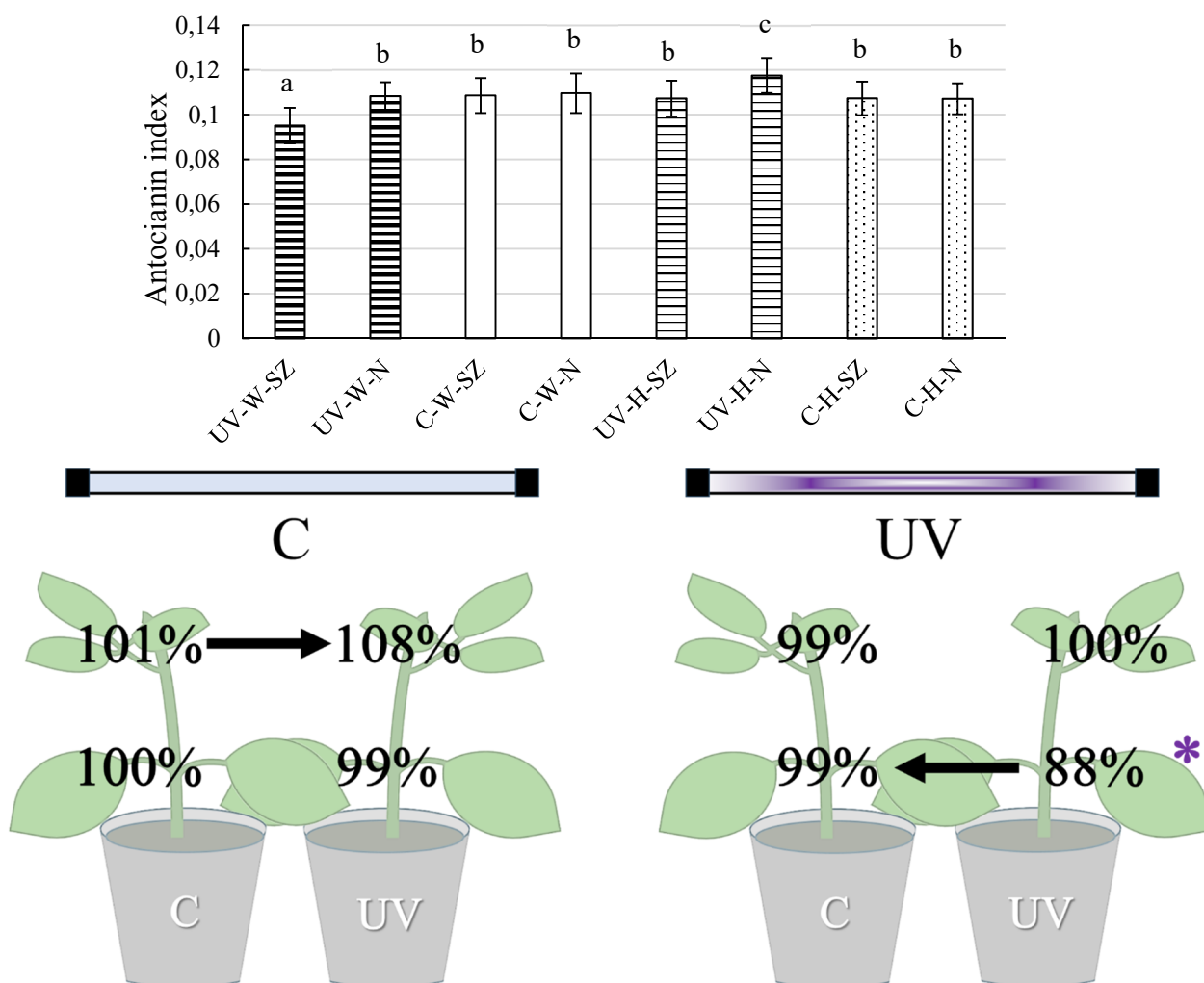
8. ábra Flavonoid index eredmények csoportonkénti átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon (felső ábra) és százalékos értékekben kifejezve (alsó ábra), ahol a kontroll sziklevel abszolút értékét tekintettük 100%-nak.

→: szisztémás hatás

*: direkt UV-hatás

Másodikként megmért pigment az UV-B-ben abszorbeáló flavonoidok voltak. Ez az index ismertén egy jól nyomon követhető UV indukálta növekedést mutat a levelekben. Az egész életében kontroll körülmények között nevelt növény sziklevelének jelentősen alacsonyabb volt a flavonoid tartalma a többihez képest. Megfigyeltünk direkt UV-hatást, ami emelte a flavonoid tartalmakat mindkét levélszinten. Szisztémás választ mindkét irányban

tapasztaltunk, pont, mint a klorofill esetében, a szisztémás válasz itt is ellentétes volt a direkt UV-válasszal, a levélszintek szisztémásan lecsökkentették a flavonoid tartalmakat



9. ábra Antocianin index eredmények csoportonkénti átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon (felső ábra) és százalékos értékekben kifejezve (alsó ábra), ahol a kontroll szikleveél abszolút értékét tekintettük 100%-nak

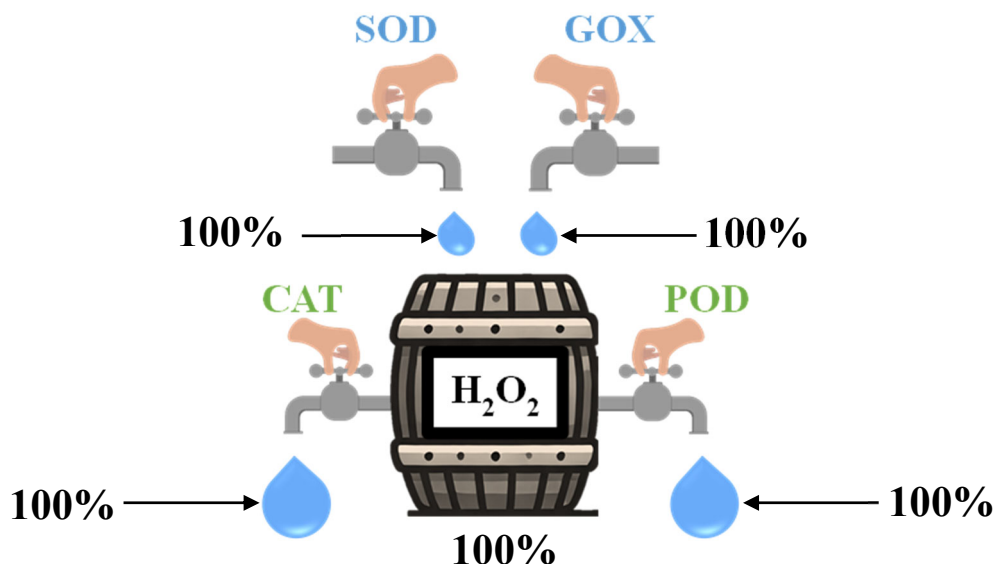
→: szisztémás hatás

*: direkt UV-hatás

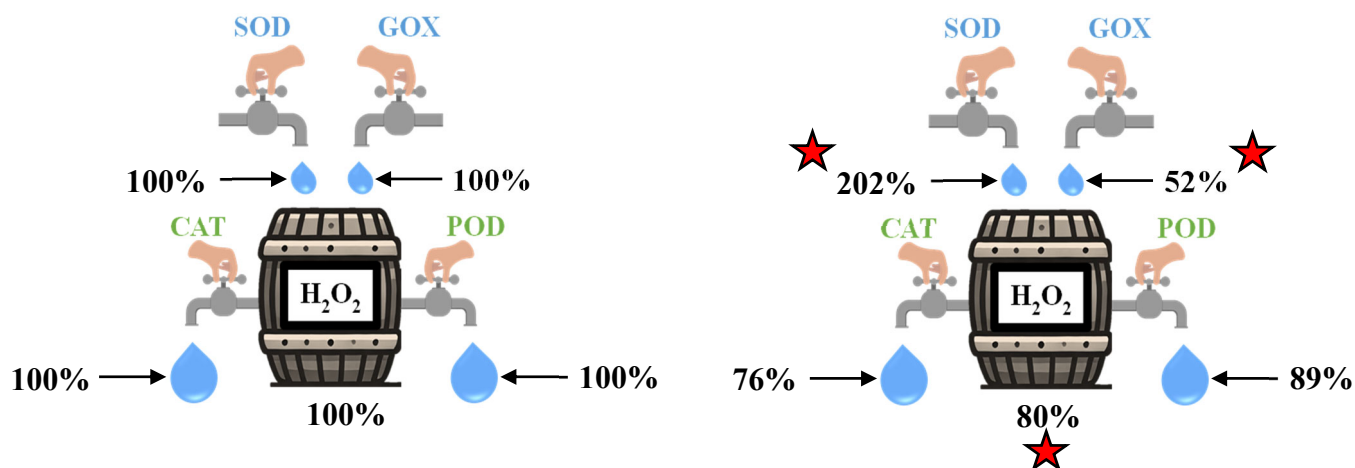
Végezetül a stresszindikátorként is ismert pigmentek, az antocianinok esetében direkt UV-hatást csak a sziklevelek esetében tapasztaltunk, mint csökkenést. Szisztémás választ mindkét irányban tapasztaltunk ugyanúgy, és itt is ellentétes volt a direkt UV-válasszal.

5.3 Anti- és prooxidáns tartalmak

A megmért antioxidáns és prooxidáns tartalmak átlagait az egész életében kontroll körülmények között nevelt növény szikleveléhez viszonyítottuk és százalékokban kifejezve ábrázoltuk a következőképp:

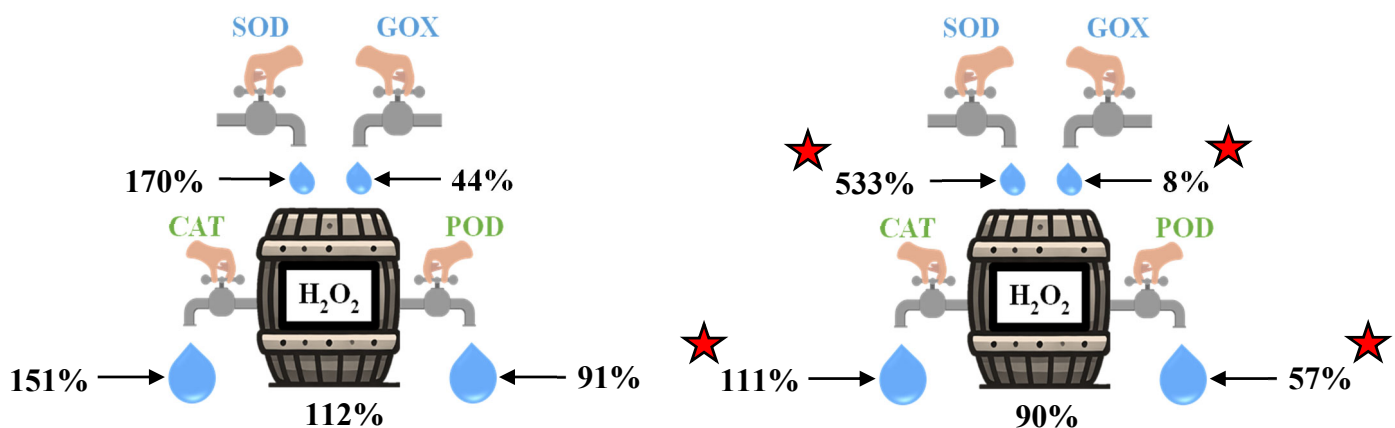


10. ábra A kontroll körülmények között nevelt növények szikleveleinek (C-W-SZ) átlagolt anti- és prooxidáns tartalmait bemutató ábra, ezen eredmények abszolútértékeit tekintettük 100%-nak a többi csoport vizsgálatakor



11. ábra Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény sziklevelének (C-W-SZ) és az egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény sziklevelének (UV-W-SZ) anti- és prooxidáns tartalmainak összevetése

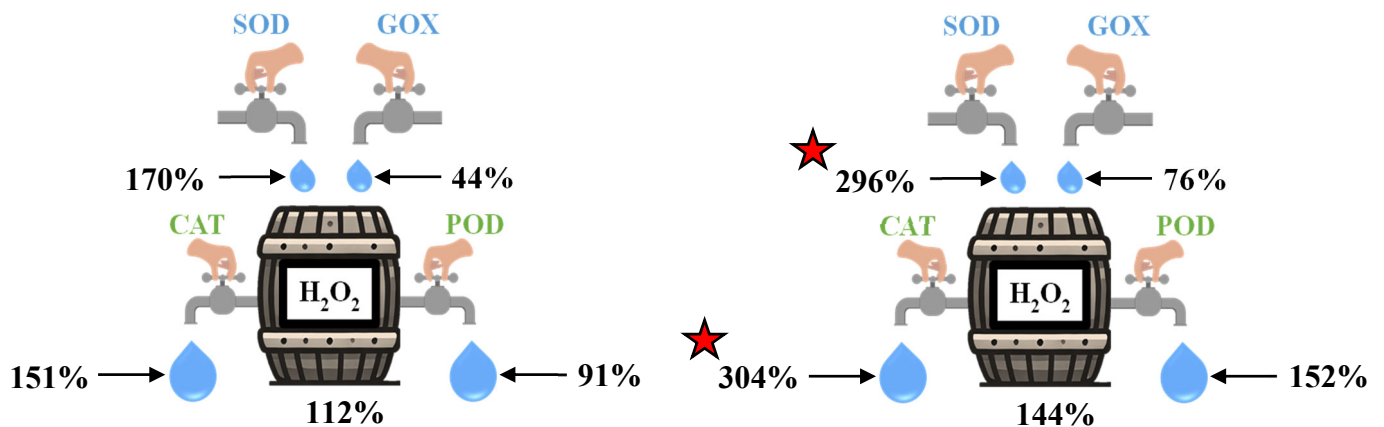
A két vizsgált csoport közötti szignifikáns eltérést csillaggal jelöltük



12. ábra Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény első lombleveleinek (C-W-N) és az egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény lombleveleinek (UV-W-N) anti- és prooxidáns tartalmainak összevetése
A két vizsgált csoport közötti szignifikáns eltérést csillaggal jelöltük

Első sorban a direkt UV-hatást szeretnénk volna meghatározni, ezt a teljes életét kontroll körülmények között töltő és a teljes életét kiegészítő UV sugárzás alatt töltő növények szik- és lombleveleit hasonlítottuk össze (11. ábra és 12. ábra). Direkt UV hatásként H₂O₂-tartalom csökkenést tapasztaltunk sziklevél szinten, a lombleveleken csökkent az UV-kezeltben a POD aktivitás és a CAT aktivitás, míg mindkét levélszinten GOX aktivitás csökkenést tapasztaltunk. Egyedül a SOD aktivitásnál tapasztaltunk aktivitás emelkedéseket, és ezt mindkét levélszinten.

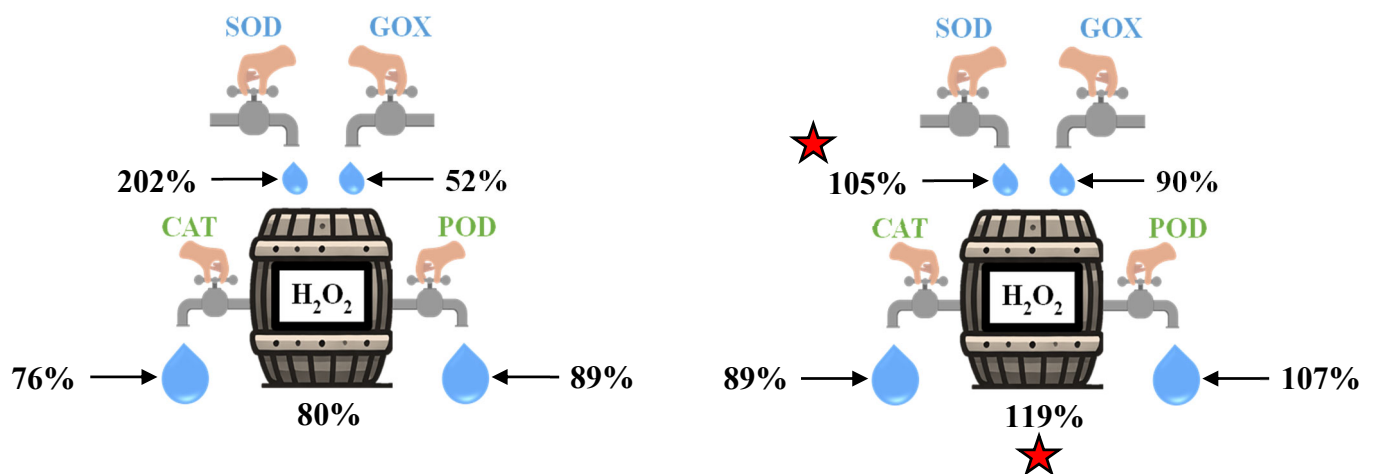
A szisztémás válaszokat sziklevél és lomblevél szinten is meghatároztuk úgy, hogy az egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény sziklelevelét (UV-W-SZ) és a 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény sziklelevelét (C-H-SZ), illetve az egész életében kontroll körülmények között nevelt növény első lomblevelét (C-W-N) és a 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény első lomblevelét (UV-H-N) hasonlítottuk össze.



13. ábra Egész életében kontroll körülmények között nevelt növény első lomblevelének (C-W-N) és 2 hét UV kezelés után kontroll körülményekbe áthelyezett növény első lomblevelének (UV-H-N) anti- és prooxidáns tartalmainak összevetése

A két vizsgált csoport közötti szignifikáns eltérést csillaggal jelöltük

A lombleveleknél nem tapasztaltunk szignifikáns változást sem H_2O_2 -tartalomban, sem GOX aktivitásban, ahogy a POD aktivitásban sem, viszont a SOD aktivitásnál és a CAT aktivitásnál növekedést tapasztaltunk.



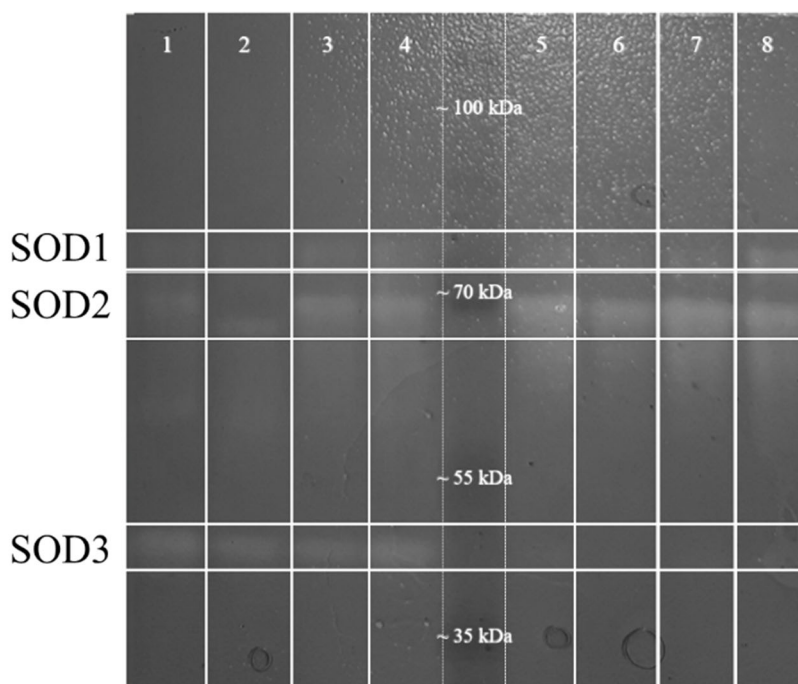
14. ábra Egész életében kiegészítő UV sugárzás alatt nevelt növény sziklelevelének (UV-W-SZ) és 2 hét kontroll körülmények közötti nevelés után UV sugárzás alá helyezett növény sziklelevelének (C-H-SZ) anti- és prooxidáns tartalmainak összevetése

A két vizsgált csoport közötti szignifikáns eltérést csillaggal jelöltük

Sziklevél szintén szisztémás hatásként tapasztaltunk H_2O_2 -tartalom növekedést, míg a POD-, CAT- és a GOX aktivitás nem változott, viszont a SOD aktivitás csökkenését tapasztaltuk.

5.4 Natív gélelektroforézis

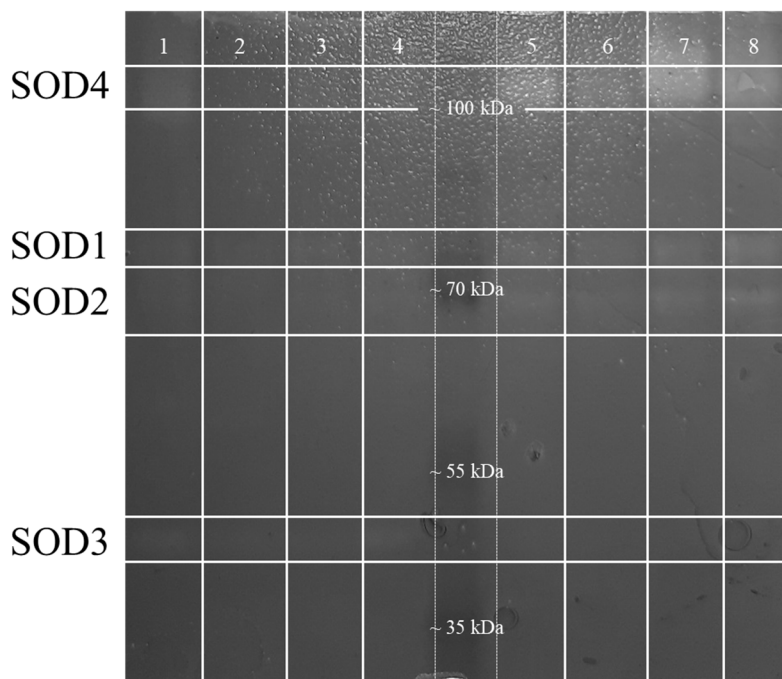
A spektrofotometriás szuperoxid-diszmutáz (SOD) eredményeink a levélminták totál SOD aktivitását jellemezték, a módszer hiányossága, hogy nem tudjuk vele elkülöníteni az egyes SOD izoformákat, így azok lehetséges aktivitásbeli eltéréseit sem. Az SOD izoformák szeparált aktivitásainak ismerete hozzásegíthet a H₂O₂ tartalmakban bekövetkezett változások pontosabb magyarázatához, mivel az izoformák eltérő lokalizációval rendelkeznek a növényi sejten belül. A SOD enzimesaládon belüli izoformák elkülönítése a fém kofaktoraik alapján történik meg. Annak ellenére, hogy minden SOD izoforma nukleárisan kódolt, a géntermékek a sejt különböző kompartmentjeiben találhatóak meg. Nicotiana fajokban a mangán SOD (Mn-SOD) a mitokondriumban, a vas-SOD (Fe-SOD) a kloroplasztisztban, a réz/cink-SOD (Cu/Zn-SOD) pedig a citoplazmában és a kloroplasztisztban található meg (Tsang és mtsai. 1991; Van Camp és mtsai. 1997). A SOD izoformák elkülönítésére használt natív gélelektroforézis módszerével csak kvalitatív összehasonlításokat végeztünk el.



15. ábra Natív gélelektroforézis kontroll (SOD gátlás nélküli) eredményének fotója NBT vizualizálással. Az ábrán lévő sorszámok az egyes mintavételi csoportokat jelzik: 1, C-W-SZ; 2, C-H-SZ; 3, UV-W-SZ; 4, UV-H-SZ; 5, C-W-N; 6, C-H-N; 7, UV-W-N; 8, UV-H-N. A molekulásúly marker esetében csak az izoformáinkat tartalmazó tartomány sávjait (~35 kDa, ~55 kDa, ~70 kDa, ~100 kDa) jeleztem az ábrákon. A SOD1, SOD2, SOD3 és SOD4 az egyes izoformákat jelentik.

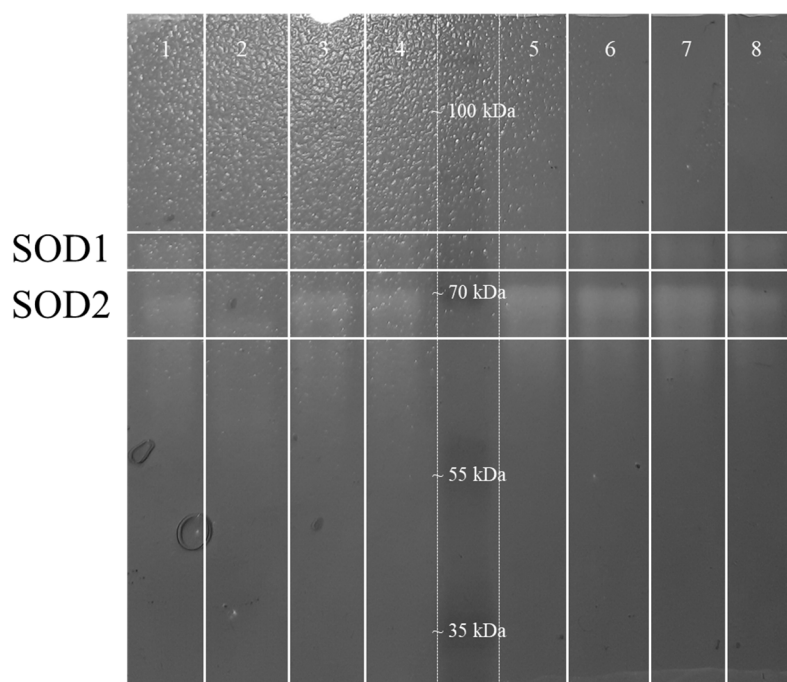
Az első gélen három különböző molekulásúlyú SOD izoforma sávjai különíthetők el, kettő 70 kDa közeli értékkel (SOD1 és SOD2), egy pedig 45 kDa közeli értékkel (SOD3). A

SOD1 esetében a gyenge detektálhatóság miatt nem tudtunk különbségeket megállapítani az egyes kezelési csoportok között. A SOD2 sávok esetében viszont egységesen a lomblevelek mintáinál (5-8) láthatóak erőteljesebb sávok. A SOD3 izoforma esetében fordított a helyzet, csak a sziklevelek mintáinál (1-4) láthatóak sávok a gélen.



16. ábra Natív gélelektroforézis H_2O_2 -dal gátolt SOD eredményének fotója NBT vizualizálással. Az ábrán lévő sorszámok az egyes mintavételi csoportokat jelzik: 1, C-W-SZ; 2, C-H-SZ; 3, UV-W-SZ; 4, UV-H-SZ; 5, C-W-N; 6, C-H-N; 7, UV-W-N; 8, UV-H-N. A molekulásúly marker esetében csak az izoformáinkat tartalmazó tartomány sávjait (~35 kDa, ~55 kDa, ~70 kDa, ~100 kDa) jeleztem az ábrákon. A SOD1, SOD2, SOD3 és SOD4 az egyes izoformákat jelentik.

Az egyes izoformák lokalizáció szerinti elkülönítésre kétféle SOD gátló festési módszert használtunk. A második gél azonos mintapool-okat tartalmaz, mint az első, de a festőpufferhez H_2O_2 -t tettünk, melyre érzékeny a Fe-SOD és a Cu/Zn-SOD izoforma is, de a Mn-SOD izoforma rezisztens. Mind a három (SOD1, SOD2, SOD3) izoformát jelölő sáv detektálhatósága lecsökkent, tehát a gátlás hatásos volt, de nem teljes. A módszer önmagában nem alkalmas a Fe-SOD és a Cu/Zn-SOD izoformák elkülönítésére, de a két domináns izoforma legátlásával valószínűsíthetően detektálhatóvá vált a harmadik csoport. SOD4 jelöléssel, közel 100 kDa molekulásúllyal megjelent a gátlás hatására a Mn-SOD izoforma is, mely erősebb aktivitást mutat a lomblevél minták esetében, kifejezetten azokban a csoportokban (5 és 7), melyek növényeit nem cseréltük ki, hanem az egész kísérlet ideje alatt azonos körülmények között voltak.



17. ábra Natív gélelektroforézis KCN-dal gátolt SOD eredményének fotója NBT vizualizálással. Az ábrán lévő sorszámok az egyes mintavételi csoportokat jelzik: 1, C-W-SZ; 2, C-H-SZ; 3, UV-W-SZ; 4, UV-H-SZ; 5, C-W-N; 6, C-H-N; 7, UV-W-N; 8, UV-H-N. A molekulatömeg marker esetében csak az izozimainkat tartalmazó tartomány sávjait (~35 kDa, ~55 kDa, ~70 kDa, ~100 kDa) jeleztem az ábrákon. A SOD1, SOD2, SOD3 és SOD4 az egyes izozimokat jelentik.

A harmadik gélen a festőoldathoz KCN gátlószert adtunk, melynek hatására csak a SOD1 és SOD2 sávok maradtak detektálhatóak. Az eredmény alapján a SOD3 jelöli a Fe-SOD izozimokat, melyek a másik két izozimával szemben érzékenyek a KCN-el történő gátlásra.

6. Diskusszió

Első hipotéziseink alapján, ha nem tapasztalunk direkt UV hatásként változást, szisztémás választ sem várhatunk. Ennek azonban ellentmondó eredményeket kaptunk, mivel több esetben is sikerült szisztémásan változást tapasztalnunk, direkt UV hatás hiányában.

A növényfiziológia vizsgálataink alapján elmondható, hogy a kísérlet során használt kiegészítő UV sugárzáshoz sikeresen alkalmazkodtak a növények, nem történt károsodás, tehát az UV dózis alkalmas volt a direkt UV besugárzás hatásainak jellemzésére. Annak ellenére, hogy a 110 PAR-os nevelőfényen történt klorofill fluoreszcencián és a levelek gázcseréjén alapuló mérési módszereink eredményei sem mutattak szignifikáns eltéréseket (sem sziklevelel, sem lomblevelel szinten), a kísérleti elrendezésünk teljesítette az elvárt célkitűzéseinket.

A babtermesztés során a fóliasátrakban vagy üvegházakban történő növénynevelési körülmények sokkal magasabb fényviszonyok között zajlanak, melyek a polikarbonát üvegházak esetén a napfény 90%-át is képesek átengedni. A 925 PAR-on történt méréseink ehhez a fényviszonyhoz közelítő körülményeket hoztak létre és a kezelésünk hatására nem csak direkt, de szisztémás pozitív hatásokat is tapasztaltunk a növények fotoszintetikus aktivitásában. A klorofill fluoreszcencián alapuló értékeink esetében, melyek a fotoszintézis fényszakaszában lejátszódó folyamatok hatékonyságát jellemzik, továbbra sem tapasztaltunk direkt UV besugárzásra változást. Azonban az IRGA által detektált sztómamozgásokon alapuló fotoszintézis sötétszakaszában lejátszódó folyamatok esetében már megemelkedett nettó széndioxid asszimilációs (A) értékeket kaptunk. Az A paraméterben történt szignifikáns emelkedést csak lomblevelek esetén tapasztaltuk, mind direkt UV kezelés hatására, mind szisztémás válasz részeként is. Ezek alapján elmondható, hogy a kiegészítő UV sugárzás hatására sikeresen megemelkedett az UV naiv levelek fotoszintetikus hatékonysága, tehát a „zöld memória” sikeresen alkalmazható a fotoszintézis sötétszakaszának indukálására.

Az UV sugárzásnak kitett növények epidermális pigmenttartalmában bekövetkező változások jól jelzik az UV hatására bekövetkező káros vagy előnyös változások kialakulását. A Dualex® műszerünk által megbecsült pigmenttartalmak közül a klorofill index esetében direkt UV hatásként klorofill tartalom növekedést tapasztaltunk a sziklevek esetén. A lomblevelek szintjén viszont csökkenést tapasztaltunk, mely ellentmond más kutatócsoportok által tapasztalt megfigyelésekkel (Jovanić és mtsai. 2022; Begum és mtsai. 2021; Palma és mtsai. 2021). Az általunk tapasztalt csökkenés magyarázata lehet, hogy az UV-nak kitett levelekben átrendeződtek a kloroplasztiszok, hogy minimalizálják a károsodás lehetőségét (Dutta és mtsai. 2015). A plasztiszok az UV forrás irányába egymás alá csoportosultak, melyet a Dualex® műszerünk csökkenésként detektált. Szisztémás válasz részeként mindkét levélszint esetében klorofill csökkenést tapasztaltunk, mely szintén magyarázható a plasztiszmozgásos hipotézisünkkel, mivel a lecsökkent klorofill index ellenére nem tapasztaltuk a fotoszintetikus aktivitás csökkenését.

A direkt UV sugárzásnak kitett levelek egyik legáltalánosabb indikátora az epidermális flavonoidok szintjének megemelkedése. Az eredményeink alapján mindkét levélszint esetében szignifikáns növekedéseket tapasztaltunk a flavonoid index értékekben, melyet megerősítenek a korábbi kutatási eredmények is (Ferreira és mtsai. 2021; Li és mtsai. 1993; Lois és mtsai. 1994; Schreiner és mtsai. 2017). A direkt UV hatásával ellentétes szisztémás válaszokat tapasztaltunk, mindkét levélszint esetén a flavonoid tartalmak csökkenését. Az ellentétes válasz lehetséges magyarázata az lehet, hogy az antocianinokkal közös szintézisútjuk (Holton és mtsai.

1995) közepén elhelyezkedő flavonoidokat esetleg tovább alakíthatták antocianinokká, mivel a levelek nem voltak kitéve károsító UV-sugárzásnak sem a lomblevelek szintjén, sem az általuk beárnyékolt sziklevelek szintjén sem.

A műszerünk által detektált harmadik pigmentcsoport, az antocianinok esetében direkt UV hatására csak a sziklevelek szintjén figyeltünk meg csökkenést, mely ellentmond a szakirodalomban leírt emelkedésnek (O'Hara és mtsai. 2019; Rai és mtsai. 2019). Ennek magyarázata szintén a kísérletünk során alkalmazott alacsony UV dózis lehet. Szisztémás válasz részeként mindkét levélszint esetében növekedést kaptunk az antocián indexben, mely összhangban van a flavonoid indexnél felállított elméletünkkel, azaz a szisztémás levelek végig vitték a bioszintézis útvonalat, ezáltal több antocianin képződött.

A növények leveleinek prooxidáns tartalmát a kísérletünk során a hidrogén-peroxid tartalmak mérésével vizsgáltuk, mivel mind a direkt UV hatására, mind szisztémás válasz részeként is kulcsfontosságú másodlagos hírvivő molekula szerepét tölti be. A H_2O_2 -tartalom meghatározása jelentős részét képezi a dolgozatnak, mivel már rengeteg cikkben megmérték biotikus vagy szárazságstressz hatására kialakuló szisztémás válasz részeként (Alvarez és mtsai. 1998; Bolwell és mtsai. 2002; Zandalinas és mtsai. 2020), viszont UV hatására kialakuló szisztémás jelként még nem vizsgálták.

Sziklevelek szintjén direkt UV hatására szignifikánsan lecsökkent a levelek H_2O_2 -tartalma, melyre bab esetében nem találtunk szakirodalmi utalást. A csökkenést nem magyarázzák a H_2O_2 -szintet szabályozó enzimatis mérési eredményeink, így feltételezzük, hogy a már említett flavonoid szint emelkedés lehet a hidrogén-peroxid csökkenés hátterében, mivel ezen molekulák kiemelten jó direkt antioxidánsai a H_2O_2 -nak.

Lomblevél szinten nem volt direkt UV hatására változás a H_2O_2 -tartalomban, annak ellenére, hogy a POD-aktivitás lecsökkent (felére), a GOX-aktivitás is lecsökkent (negyedére), a CAT-aktivitás szintén lecsökkent, míg a SOD aktivitás megemelkedett (háromszorosára). Az előbb felsorolt enzimaktivitások alapján nagymértékű hidrogén-peroxid tartalom növekedésre számíthatunk, amit szakirodalmi adatok is alátámasztanak (Rácz és mtsai. 2020; Jansen és Bornman 2012). A növekedés hiányának magyarázata szintén a nem-enzimatis antioxidáns tartalmak lehetnek, mint a lomblevél szinten ötszörösére emelkedett flavonoidok, melyek nem csak direkt antioxidánsként csökkenthették a hidrogén-peroxid tartalmat, de UV szűrő pigment funkciójuk is hozzájárulhatott ehhez.

Mindezek ellenére kísérletünk során a H_2O_2 valóban hírvivő molekula szerepet töltött be, mivel a szisztémás válasz részeként emelkedését tapasztaltuk sziklevelek szintjén. Ez a fiatalabb levelektől induló szisztémás válasz, mely kevésbé alkalmazható mezőgazdasági

szempontból (nem zöld memória), de így is szisztémás válasznak minősül. Eredményünk fontosságát mutatja, hogy a szakirodalom nagyobb része szerint csak felfelé működik a szisztémás hatás (Garcia és mtsai. 2015), de ezt mi sikeresen megcáfoltuk.

Az enzimatisz eredményeink magyarázó erejének hiánya a POD esetében a nem megfelelő szubsztrát használatával magyarázható, méréseinket egy mesterséges, azaz a növényben természetes módon nem található szubsztrátot használva végeztük el. A bab leveleinek másodlagos anyagcseretermékei közül a jövőben megvizsgáljuk, hogy melyik lehet alkalmas POD-szubsztrátnak, ezáltal a hidrogén-peroxid szintet ténylegesen befolyásoló POD izoformákról gyűjthetünk információkat. A kataláz esetében kevés szakirodalmi bizonyítékot találtunk fontosságára a bab esetében (Cakmak és mtsai. 1992). Kísérletes eredményeinket alátámasztva (sziklevél szinten) nem találtunk UV hatására vagy szisztémás válasz részeként változó kataláz aktivitás eredményeket babnövényben.

Az általunk zöld memóriaként nevezett szisztémás válasz a direkt UV-nak kitett sziklevek és az UV naiv lomblevek közötti kommunikációt írja le. A H_2O_2 tartalmak esetében nem tapasztaltunk ennek megfelelő szisztémás választ. Ennek ellenére a H_2O_2 szintet befolyásoló enzimek eredményei alapján kimutattuk, hogy mind a kataláz, mind a SOD aktivitások szignifikánsan megemelkedtek a szisztémás válasz részeként. A zöld memória részeként háromszorosára emelkedett a kataláz aktivitás az UV naiv lomblevekben, mely nemcsak magyarázata lehet a H_2O_2 szint emelkedésének hiányára, de alátámasztja azon elméletünket, hogy az UV priming hatására serkenthetjük az antioxidáns enzimeket az UV-nak ki nem tett levelekben is.

A levelek totál SOD aktivitásának emelkedését részletesebben is megvizsgáltuk, gélelektroforézis során elkülönítettük az egyes SOD izoformákat és jellemeztük azok aktivitásbeli eltéréseit (Tsang és mtsai. 1991; Bridges és mtsai. 1981; Miszalski és mtsai. 1998; Chen és mtsai. 2024). A SOD izoformák gélen történő szeparálása sikeresen kibővítette a teljes SOD aktivásról szerzett ismereteinket. A H_2O_2 gátlással, azaz a termék általi gátlással (16. ábra) a gátolatlan gélen nem látható sávok jelentek meg, melynek magyarázata, hogy a H_2O_2 rezisztens Mn-SOD izoformákat (SOD4) sikerült elkülönítenünk. A két másik dominánsabb izoforma egyaránt érzékeny a H_2O_2 -re, de azok aktivitásbeli hiányában, képesek voltak a kezeletlen gélen (15. ábra) nem megjelenő izoforma detektálására is. A második gél alapján elmondható, hogy a mitokondriális lokalizációjú Mn-SOD izoformák a lomblevekben mutattak nagyobb aktivitást. A KCN gátlásával elkészült gélnek (17. ábra) köszönhetően sikerült a Fe-SOD izoformákat is szeparálnunk a többitől, melyek az SOD3 jelöléssel láthatóak a két másik gélen. A csak kloroplasztisz lokalizált Fe-SOD izoformák a Mn-SOD-al ellentétben, a

sziklevelekben mutattak nagyobb aktivitást. A gélelektroforézis eredményei összhangban vannak a fotometriás SOD aktivitás eredményeinkkel, a lomblevél szintjén leírt szisztémás aktivitásuk emelkedéséért a Mn-SOD és a Cu/Zn-SOD izoformák a felelősek. Valamint a szikleveleknél tapasztalt SOD aktivitás csökkenést szintén a kisebb sávokkal reprezentált Mn-SOD és Cu/Zn-SOD izoformákkal magyarázhatjuk (17. ábra).

A kísérletünk során néhol ellentmondó szisztémás válaszok lehetséges magyarázata még az lehet, hogy ezek a szisztémás válaszok egy általános abiotikus stresszre adott válaszok, nem kizárólag UV specifikus válaszok. Ezen hipotézisünk jövőbeli igazolása alátámaszthatja azon koncepciónkot, hogy egy nem károsító, a növény csak egy részét érő UV kezeléssel kiválthatunk egy univerzális stressz elleni védekezési választ a növény egészén.

Kísérleteink eredményeként utat nyitottunk afelé, hogy az UV-sugárzás, mint vegyszermentes kezelési forma felhasználható legyen fiatal növények stressztűrésének fokozására (szisztémás UV priming) és a kifejlett növények védelmi válaszainak serkentésének elősegítésére a mezőgazdaságban. Ez fenntartható módon növelheti a növények túlélési esélyeit és a termés hozamukat, miközben csökkentheti a vegyszerek használatát.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Rácz Arnold témavezetőmnek a sok segítségért és szakmai tanácsaiért, valamint a laboratóriumi munkám során nyújtott útmutatásáért, amelyet a TDK dolgozatom végzése során tett. Továbbá hálás köszönettel tartozom a Növénybiológiai Tanszék munkatársainak is. Ez a dolgozat a Pécsi Tudományegyetem Kriszbacher Ildikó Tehetséggondozó Program 2024/2025. tanévi támogatásával készült.

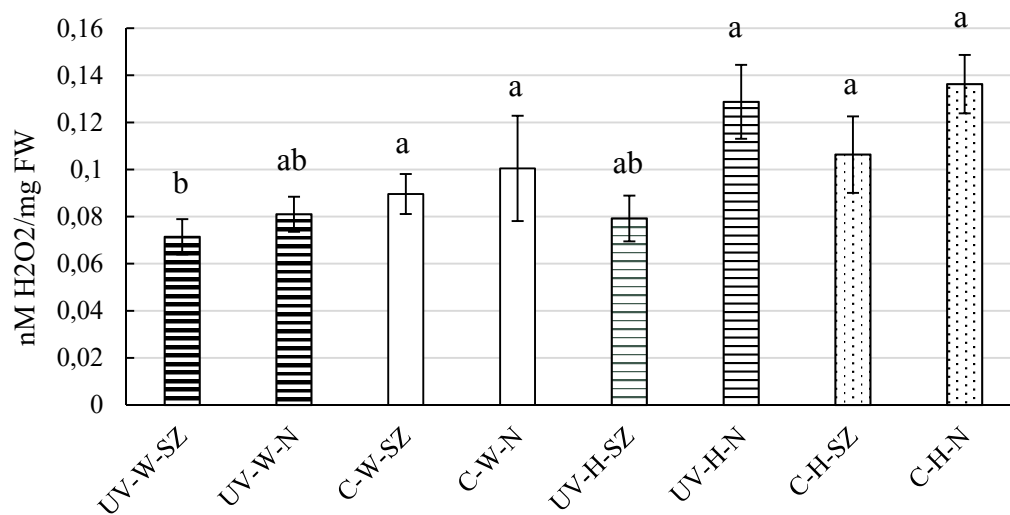
Irodalomjegyzék

- Hideg, É., Jansen, M. A., & Strid, Å. (2013). UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates?. *Trends in plant science*, 18(2), 107-115.
- Pastor, V., Luna, E., Mauch-Mani, B., Ton, J., & Flors, V. (2013). Primed plants do not forget. *Environmental and experimental botany*, 94, 46-56.
- Ibrahim, E. A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of plant physiology*, 192, 38-46.
- Abid, M., Tian, Z., Ata-Ul-Karim, S. T., Liu, Y., Cui, Y., Zahoor, R., ... & Dai, T. (2016). Improved tolerance to post-anthesis drought stress by pre-drought priming at vegetative stages in drought-tolerant and-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 218-227.
- TT, D. T., & Puthur, J. T. (2017). UV radiation priming: A means of amplifying the inherent potential for abiotic stress tolerance in crop plants. *Environmental and Experimental Botany*, 138, 57-66.
- Harris, C. J., Amtmann, A., & Ton, J. (2023). Epigenetic processes in plant stress priming: Open questions and new approaches. *Current Opinion in Plant Biology*, 75, 102432.
- Barnes, P.W., Williamson, C.E., Lucas, R.M. et al. (2019) Ozone depletion, ultraviolet radiation, climate change and prospects for a sustainable future. *Nat Sustain.* 2: 569–579.
- Aphalo, P.J., 2018. Exploring temporal and latitudinal variation in the solar spectrum at ground level with the TUV model. *UV4Plants Bull.* 2018, 45–56.
- Jansen, M.A.K., Bornman J.F. 2012. UV-B radiation: from generic stressor to specific regulator. *Physiol. Plant.* 145, 501–504.
- Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol.* 141: 391-396.
- Apel, K., Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- Barta, Cs., Kálai, T., Hideg, K., Vass, I., Hideg, É. (2004) Differences in the ROS-generating efficacy of various ultraviolet wavelengths in detached spinach leaves. *Funct. Plant Biol.* 31: 23-28.
- Természet Világa 152. évf. 2. sz.
- Czégény, G., & Rácz, A. (2023). Phenolic peroxidases: Dull generalists or purposeful specialists in stress responses?. *Journal of Plant Physiology*, 280, 153884.
- Habibi, G. (2014). Hydrogen peroxide (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 557-584). Academic Press.
- Møller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58(1), 459-481.
- Czégény, G., & Rácz, A. (2023). Phenolic peroxidases: Dull generalists or purposeful specialists in stress responses?. *Journal of Plant Physiology*, 280, 153884.
- Cosio, C., Dunand, C. (2009) Specific functions of individual class III peroxidase genes. *J. Exp. Bot.* 60: 391-408.
- Sharma, I., & Ahmad, P. (2014). Catalase: a versatile antioxidant in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 131-148). Academic press.
- Alvarez, M. E., Pennell, R. I., Meijer, P. J., Ishikawa, A., Dixon, R. A., & Lamb, C. (1998). Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. *Cell*, 92(6), 773-784.
- Bolwell GP, Bindschedler LV, Blee KA, Butt VS, Davies DR, Gardner SL, Gerrish C, Minibayeva F (2002) The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *J Exp Bot* 53: 1367–1376.
- Zandalinas, S. I., Fichman, Y., Devireddy, A. R., Sengupta, S., Azad, R. K., & Mittler, R. (2020). Systemic signaling during abiotic stress combination in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(24), 13810-13820.

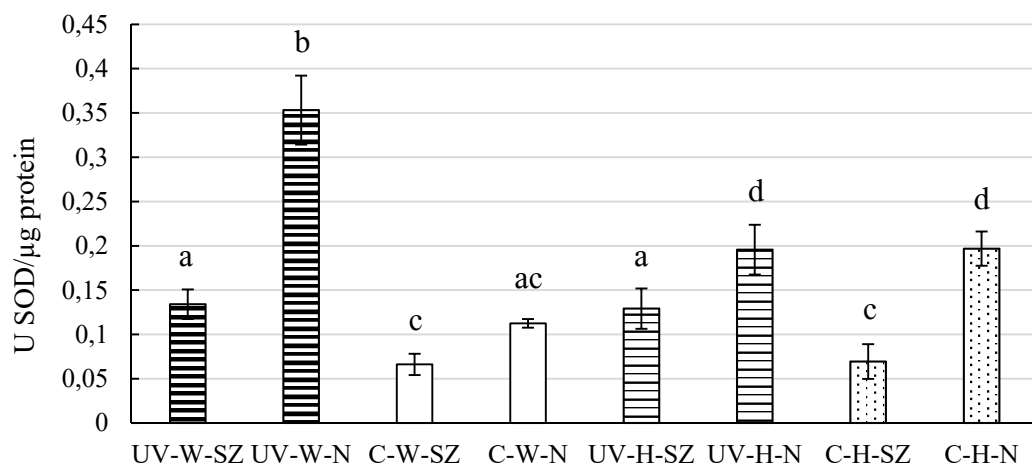
- Kuźniak, E., & Urbanek, H. (2000). The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. *Acta physiologiae plantarum*, 22, 195-203.
- Orozco-Cardenas M, Ryan CA. Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 May 25;96(11):6553-7. doi: 10.1073/pnas.96.11.6553. PMID: 10339626; PMCID: PMC26920.
- Jansen, M.A.K., Bilger, W., Hideg, É., Strid, Å., UV4Plants Workshop Participants, Urban, O. 2019. Interactive effects of UV-B radiation in a complex environment. *Plant Physiol. Biochem.* 134, 1–8.
- Castagna, A., Csepregi, K., Neugart, S., Zipoli, G., Večeřová, K., Jakab, G., ... & Hideg, É. (2017). Environmental plasticity of Pinot noir grapevine leaves: A trans-European study of morphological and biochemical changes along a 1,500-km latitudinal climatic gradient. *Plant, Cell & Environment*, 40(11), 2790-2805.
- Neugart, S., & Schreiner, M. (2018). UVB and UVA as eustressors in horticultural and agricultural crops. *Scientia Horticulturae*, 234, 370-381.
- Rodríguez-Calzada, T., Qian, M., Strid, Å., Neugart, S., Schreiner, M., Torres-Pacheco, I., & Guevara-González, R. G. (2019). Effect of UV-B radiation on morphology, phenolic compound production, gene expression, and subsequent drought stress responses in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 134, 94-102.
- Overbeck, V., Schmitz, M., Tartachnyk, I., & Blanke, M. (2018). Identification of light availability in different sweet cherry orchards under cover by using non-destructive measurements with a Dualex™. *European Journal of Agronomy*, 93, 50-56.
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990(1), 87-92.
- Schreiber, U., Klughammer, C., & Walz, H. (2008). Complementary PS II Quantum Yields Calculated from Simple Fluorescence Parameters Measured by PAM Fluorometry and the Saturation Pulse Method In Vivo Redox Changes of Ferredoxin, P700 and Plastocyanin View Project Assessment of Wavelength-Dependent Properties of Photosynthesis by Chlorophyll Fluorescence Measurements View Project Complementary PS II Quantum Yields Calculated from Simple Fluorescence Parameters Measured by PAM Fluorometry and the Saturation Pulse Method. 2008.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Mátai, A. & Hideg, É. A comparison of colorimetric assays detecting hydrogen peroxide in leaf extracts. *Anal. Methods* 9, 2357–2360 (2017).
- Sun, Y., Oberley, L. W. & Li, Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34, 497–500 (1988).
- Majer, P., Czégény, G., Sándor, G., Dix, P. J., & Hideg, É. (2014). Antioxidant defence in UV-irradiated tobacco leaves is centred on hydrogen-peroxide neutralization. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 239-243.
- Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121–126 (1984).
- Rácz, A., Czégény, G., Csepregi, K., & Hideg, É. (2020). Ultraviolet-B acclimation is supported by functionally heterogeneous phenolic peroxidases. *Scientific Reports*, 10(1), 16303.
- Manchenko, G. P. (2002). Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels. CRC press.
- Hammer, Ø, Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 9 (2001).
- Dutta, S., Cruz, J. A., Jiao, Y., Chen, J., Kramer, D. M., & Osteryoung, K. W. (2015). Non-invasive, whole-plant imaging of chloroplast movement and chlorophyll fluorescence reveals photosynthetic phenotypes independent of chloroplast photorelocation defects in chloroplast division mutants. *The Plant Journal*, 84(2), 428-442.
- Tsang, E. W., Bowler, C., Héroutart, D., Van Camp, W., Villarroel, R., Genetello, C., ... & Inzé, D. (1991). Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress. *The Plant Cell*, 3(8), 783-792.
- Van Camp, W., Inzé, D., & Van Montagu, M. (1997). The regulation and function of tobacco superoxide dismutases. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(3), 515-520.

- Jovanić, B. R., Radenković, B., Despotović-Zrakić, M., Bogdanović, Z., & Barać, D. (2022). Effect of UV-B radiation on chlorophyll fluorescence, photosynthetic activity and relative chlorophyll content of five different corn hybrids. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 10, 100115.
- Begum, H. A., Hamayun, M., Shad, N., Khan, W., Ahmad, J., Khan, M. E. H., ... & Ali, K. (2021). Effects of UV radiation on germination, growth, chlorophyll content, and fresh and dry weights of *Brassica rapa* L. and *Eruca sativa* L. *Sarhad J. Agric*, 37, 1016-1024.
- Palma, C. F. F., Castro-Alves, V., Morales, L. O., Rosenqvist, E., Ottosen, C. O., & Strid, Å. (2021). Spectral composition of light affects sensitivity to UV-B and photoinhibition in cucumber. *Frontiers in Plant Science*, 11, 610011.
- Ferreira, M. L. F., Serra, P., & Casati, P. (2021). Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. *Physiologia plantarum*, 173(3), 736-749.
- Li, J., Ou-Lee, T. M., Raba, R., Amundson, R. G., & Last, R. L. (1993). Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *The Plant Cell*, 5(2), 171-179.
- Lois, R. (1994). Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV-resistance in *Arabidopsis*. *Planta*, 194, 498-503.
- Schreiner, M., Wiesner-Reinhold, M., Baldermann, S., Hanschen, F. S., & Neugart, S. (2017). UV-B-induced changes in secondary plant metabolites. In *UV-B radiation and plant life: molecular biology to ecology* (pp. 39-57). Wallingford UK: CABI.
- O'Hara, A., Headland, L. R., Díaz-Ramos, L. A., Morales, L. O., Strid, Å., & Jenkins, G. I. (2019). Regulation of Arabidopsis gene expression by low fluence rate UV-B independently of UVR8 and stress signaling. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18, 1675-1684.
- Rai, N., Neugart, S., Yan, Y., Wang, F., Siipola, S. M., Lindfors, A. V., ... & Aphalo, P. J. (2019). How do cryptochromes and UVR8 interact in natural and simulated sunlight?. *Journal of Experimental Botany*, 70(18), 4975-4990.
- Garcia, T., Gutierrez, J., Veloso, J., Gago-Fuentes, R., & Diaz, J. (2015). Wounding induces local resistance but systemic susceptibility to *Botrytis cinerea* in pepper plants. *Journal of plant physiology*, 176, 202-209.
- Holton, T. A., & Cornish, E. C. (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 1071.
- Braber, J. M. (1980). Catalase and peroxidase in primary bean leaves during development and senescence. *Zeitschrift für pflanzenphysiologie*, 97(2), 135-144.
- Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant physiology*, 98(4), 1222-1227.
- Bridges, S. M., & Salin, M. L. (1981). Distribution of iron-containing superoxide dismutase in vascular plants. *Plant Physiology*, 68(2), 275-278.
- Miszalski, Z., Ślesak, I., Niewiadomska, E., Baczek-Kwinta, R., Lüttge, U., & Ratajczak, R. (1998). Subcellular localization and stress responses of superoxide dismutase isoforms from leaves in the C3-CAM intermediate halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant, cell & environment*, 21(2), 169-179.
- Chen, X., Li, D., Guo, J., Wang, Q., Zhang, K., Wang, X., ... & Zhang, J. (2024). Identification and Analysis of the Superoxide Dismutase (SOD) Gene Family and Potential Roles in High-Temperature Stress Response of Herbaceous Peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Antioxidants*, 13(9), 1128.

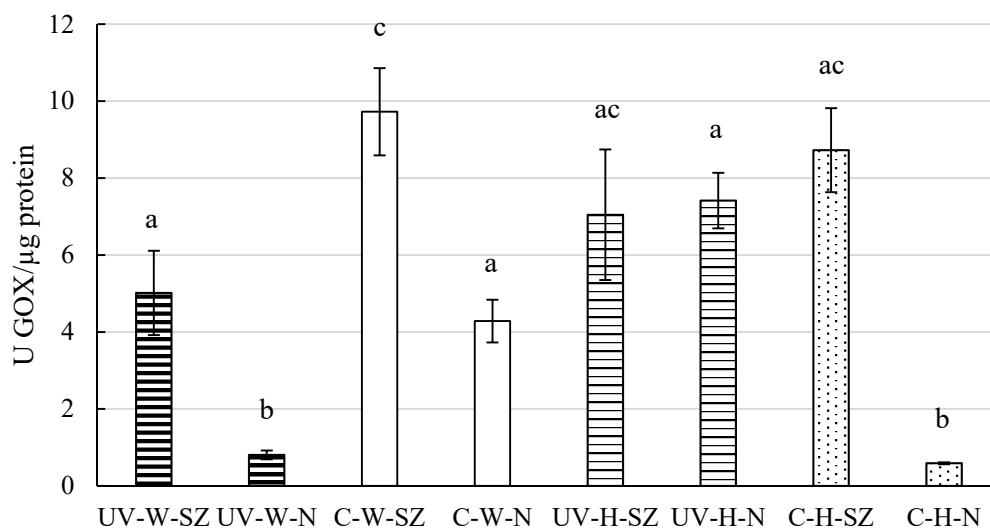
Függelék



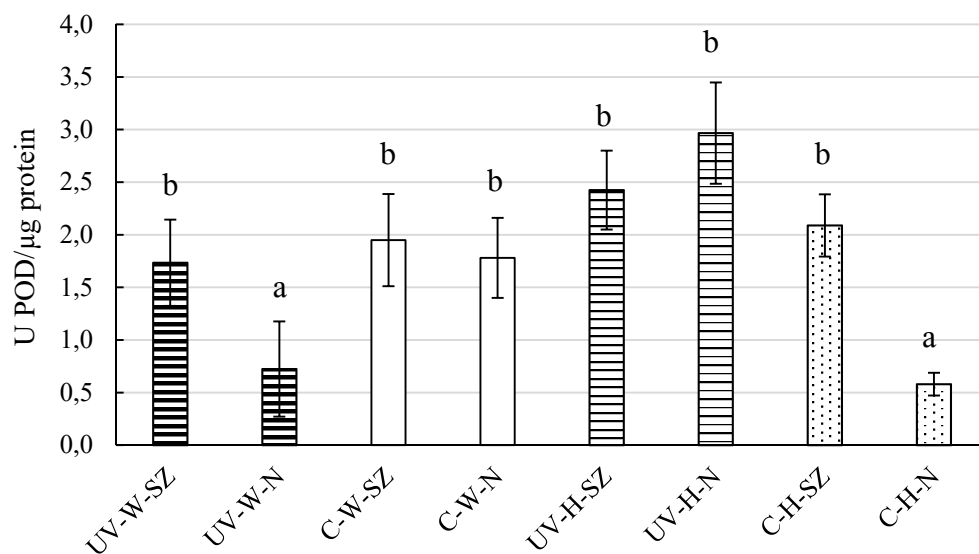
F1. ábra A vizsgált csoportok H₂O₂ tartalmainak átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon
Az ABC betűivel a szignifikáns különbségeket jelöltük az egyes csoportok között



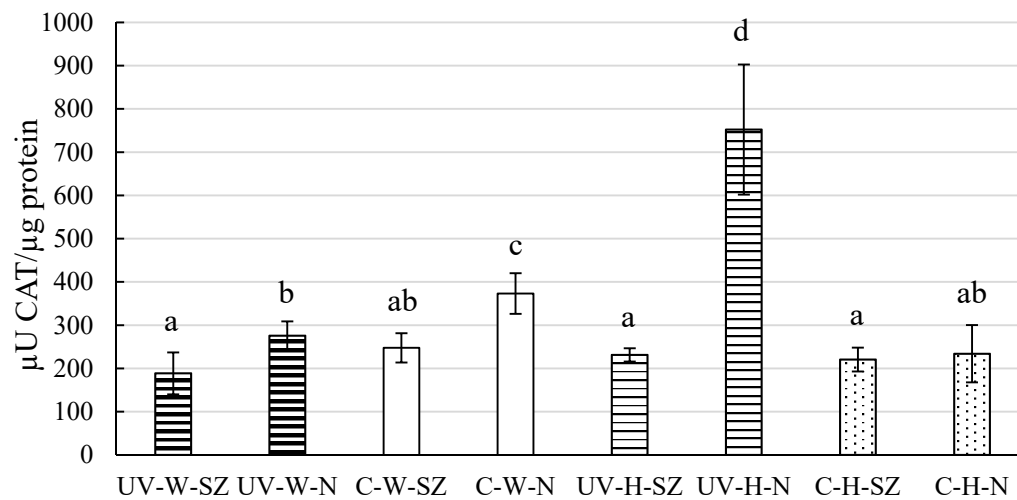
F2. ábra A vizsgált csoportok SOD aktivitásainak átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon
Az ABC betűivel a szignifikáns különbségeket jelöltük az egyes csoportok között



F3. ábra A vizsgált csoportok GOX aktivitásainak átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon
Az ABC betűivel a szignifikáns különbségeket jelöltük az egyes csoportok között



F4. ábra A vizsgált csoportok POD aktivitásainak átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon
Az ABC betűivel a szignifikáns különbségeket jelöltük az egyes csoportok között



F5. ábra A vizsgált csoportok CAT aktivitásainak átlagai szórással ábrázolva oszlopdiagramon
Az ABC betűivel a szignifikáns különbségeket jelöltük az egyes csoportok között