



36. OTDK

Biológiai szekció



A szalicilsav szerepe UV-A indukálta növényi alkalmazkodási válaszok kialakulásában

Készítette: Katona Zoltán

Biológus MSc hallgató

Témavezetők:

Dr. Rác Arnold

tudományos munkatárs

PTE TTK Biológiai Intézet

Növénybiológiai Tanszék

Pécs, 2023.

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. Bevezetés.....	4
1.1. UV sugárzás hatásai növényekre	4
1.2. A növényekben kialakuló reaktív oxigén formák (ROS)	5
1.3. A H ₂ O ₂ szerepe a növényiéletlen folyamatokban	6
1.4. Az SA szerepe a növényi védelmi válaszokban	7
2. Célkitűzések	8
3. Anyag és módszer	9
3.1 Növénynevelési körülmények és UV kezelés	9
3.2 Fotoszintetikus elektron transzport mérések	10
3.3 Pigmenttartalom meghatározása	10
3.4 Mintaelőkészítés	11
3.5 Peroxidáz aktivitás meghatározása	11
3.7 Szuperoxid-dizmutáz aktivitásának meghatározása	12
3.8 Nem enzimatis H ₂ O ₂ semlegesítés	12
3.9 Statisztikai adatelemzés	12
4. Eredmények és megvitatásuk	13
4.1. Az UV-A kezelés nem okoz szignifikáns különbséget a besugárzott levelek méretben	13
4.2. Az UV-A kezelés nem volt szignifikáns hatással a levelek pigment tartalmára	13
4.3. Az UV-A kezelés serkentő hatással volt a PSII hatékonyságra	16
4.4. Az UV-A sugárzás indukálja a peroxidáz aktivitás mértékét.....	17
4.5. A szuperoxid-dizmutáz aktivitása eltérő a két genotípus között	18
4.6. Genotípusos különbség a nem enzimatis kioltásban	19
4.7. Peroxidáz aktivitás gátlása.....	19
5. Összefoglalás.....	21
Köszönetnyilvánítás	22
Irodalomjegyzék.....	23

Rövidítések jegyzéke

ABTS	2,2'-azino- di-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav
DNS	dezoxiribonukleinsav
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
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
H ₂ O ₂	hidrogén-peroxid
•OH	hidroxilgyök
PAR	fotoszintetikusán aktív sugárzás
POD	III-as peroxidáz
PSI	I-es fotokémiai rendszer
PSII	II-es fotokémiai rendszer
ROS	reaktív oxigén származék
SA	szalicilsav
SOD	szuperoxid-dizmutáz
UV	ultraviolett
Y(II)	PSII hatékonysága
Y(NO)	nem regulált nem-fotokémiai kioltás
Y(NPQ)	regulált nem-fotokémiai kioltás

1. Bevezetés

A Napból érkező ultraibolya-sugárzás (UV) 280-400 nm tartományának csak egy része éri a Föld felszínét az ózon réteg és a felhőzet szűrő hatásának köszönhetően. Az UV sugárzás élőlényekre gyakorolt negatív és pozitív hatásait a besugárzásdózisa határozza meg. Míg a magas dózisú UV-B sugárzás sejtkárosító hatást fejthet ki a növényekre, addig alacsony dózisban kulcsfontosságú szabályozó faktora lehet növekedési folyamatoknak. Továbbá az UV-A sugárzás kisebb energiájú dózisait a növények képesek hasznosítani is, ezzel növelve a fotoszintetikus hatékonyságukat.

A növények helyt ülő életmódot folytatnak így nem képesek elkerülni a káros környezeti hatásokat vagy a megnövekedett UV sugárzást. Védelmük érdekében a növényekben kialakultak olyan enzimatis és nem enzimatis folyamatok, amik segítségével képesek elkerülni a károsító hatásokat. Az UV-B sugárzáshoz köthetően két kulcsfontosságú enzimet emelhetünk ki: a szuperoxid-dizmutázokat (SOD) és a peroxidázokat (POD). A nem enzimatis védelmi folyamatokban pedig számos antioxidáns tulajdonságú vegyület is fontos szerepet játszik.

A káros környezeti hatások elkerülése érdekében a növények növekedésük szabályozásával is képesek védekezni, melyhez életfolyamataikat vezérlő hormonokat termelnek. A biotikus és az abiotikus stresszválaszok kialakításában szalicilsavnak (SA) van kiemelten fontos szerepe. Kulcsfontosságú funkcióját a stresszor által kiváltott válasz növényen belüli szisztémás továbbításában rejlik. A szalicilsav azonban nem képes sejtről sejtre terjedni ezért szüksége van egy hírvivő molekulára, ami továbbítja az információt minden sejt számára. A hírvivő szerepét a hidrogén peroxid (H_2O_2) játsza el, mely könnyedén szállítható a sejtek közötti aquaporinokon keresztül.

1.1. UV sugárzás hatásai növényekre

A Napból érkező fotoszintetikusan aktív sugárzás mellett (PAR, 400-700 nm) a növényeket más sugárzások is érik ilyen az UV-A, és az UV-B és az infravörös sugárzás. Az UV sugárzás a Napból érkező alacsony hullámhosszú sugárzás, amit hullámhossz tartomány alapján 3 részre oszthatjuk. Az UV-C (180-280 nm) nem tud áthatolni az ózon rétegen, így nem éri el a Föld felszínét. Az UV-B (280-315 nm) egy bizonyos része képes átjutni az ózon rétegen és elérni a földfelszínt, ezzel a természetben a legnagyobb energiájú sugárzás, ami képes

sejtkárosodási folyamatokat indukálni. Az UV-A (315-400 nm) a legalacsonyabb energiájú UV sugárzás, ami teljes egészében eléri a földfelszínt (Björn és mtsai, 2002, Jansen és mtsai. 2019).

Az UV-B dózisának növekedésével és a PAR csökkenésével a teljes biomassza mennyisége és a növény mérete is lecsökken. Korábbi vizsgálatokból kiderült, hogy azok a fajok, amik nagyobb UV dózis alatt növekedtek azok jobban ellen álltak a későbbi UV kezelésnek. Szabadtéri kísérletekből is bebizonyították, hogy genotípusos különbség van a növények UV-B érzékenységben. Az UV-B sugárzásnak az egyszikű fajok jobban ellenállnak, mint a kétszikűek, valamint az őshonos fajok ellenállóbbak a haszonnövényekkel szemben. Rizs (*Oryza sativa* L.) esetében az UV-B által okozott gátló hatások nem érvényesültek, ha természetközeli PAR érte a növényt. Alacsony PAR-on nevelkedett szójabab (*Glycine max* L.) növényen az UV-B károsító hatásait mérsékelte az UV-A kezelés, valamint a magas PAR esetén még UV-A kezelésre sem volt szükség ehhez. Az UV-B fotonok közvetlen abszorpciója DNS-bázisok károsodását idézi elő, mely károsodásokat a fotoliázok javítják ki UV-A és kék fény energiájának felhasználásával; a folyamatot fotorepairnek nevezik (Krizsek és mtsai. 2004).

Az UV-B növényekre gyakorolt hatásairól részletes kísérleti adatokat találhatunk a szakirodalomnak köszönhetően, azonban UV-A-ról jelentősen kevesebb információ áll a rendelkezésünkre. Kísérletünkben arra törekedtünk, hogy természet közeli dózisu UV sugárzások ériék a növényeinket, ezáltal megismerve az UV-B és UV-A kezelésekre adott eltérő növényi válaszokat.

1.2. A növényekben kialakuló reaktív oxigén formák (ROS)

Fénylégzés során (fotorespiráció) az nagy energiájú elnyelt sugárzás hatására energia felesleg keletkezhet, ami ROS-ok keletkezését eredményezi. A felesleges fényenergia, egy része hőenergiává alakulva emittálódhat, a megmaradt része pedig a klorofill molekulákról átkerülhet egy oxigén molekulára és szinglet oxigén keletkezhet. Az így felhalmozódó reaktív oxigén formák fotooxidatív stressz kialakulásához vezethet (Máthé és mtsai. 2022). A ROS-ok két párosítatlannal elektronnal rendelkező, triplet állapotú oxigénből ($^3\text{O}_2$) alakulnak ki. Elektronátadással képződnek a szuperoxidgyök-anionok (O_2^-), elektron és proton felvétellel a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a hidroxilgyök ($^{\bullet}\text{OH}$). Energiaátadás során pedig a szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$) keletkezik triplet oxigénből (Asada 2006). Koncentrációjuk emelkedése a növényi szövetekben valamilyen stressz folyamat kialakulását jelzi. Oxidatív válaszokat váltanak ki az abiotikus (környezeti körülmények) vagy biotikus (kórokozók) streszorok, valamint az öregedési folyamatok is (Máthé és mtsai. 2022).

A ROS-ok károsító hatásuk mellett, szabályozó és hírvívő molekula szerepet is betölthetnek. UV-B besugárzott növényekben megemelkedik a PR-1 (pathogenesis-related fehérje) szintje. N-acetil-L-ciszteinnel (NAC) és pirrolidin-ditiokarbamát (PDTC) kezelt levelek esetében viszont nem emelkedett meg a PR-1 fehérje szintje, mivel az antioxidánsok meggátolták a ROS-ok termelődését (Green & Fluhr 1995). Hírvívő molekula szerepük mellett, más fontos élettani feladatokat is elláthatnak. A ROS-ok Ca^{2+} csatornák nyitásával megemelik a Ca^{2+} koncentrációját a sejtekben, ami védelmi folyamatokat indukál és még több ROS felszabadulását és a patogének elpusztítását eredményezi. Kórokozók elpusztítása mellett a ROS-ok a növény saját sejtjeit is képesek elpusztítani (programozott sejthalál), ezzel megállítva a fertőzés tovább terjedését. Továbbá, a ROS-ok kiemelten fontos szerepet töltenek be a szerzett rezisztencia válasz kialakulásában is (Máthé és mtsai. 2022).

1.3. A H_2O_2 szerepe a növényi élettani folyamatokban

A H_2O_2 a legstabilabb ROS, képes az aquaporin csatornákon keresztül átdiffundálni az egyik sejtből a másikba, így képes betölteni a hírvívő molekula szerepét alacsony koncentrációban (Vestergaard és mtsai., 2012). Az emelkedő H_2O_2 szint megváltoztatja a növényi sejtmembrán szerkezetét, ezzel annak áteresztőképességét, így beindulnak azok a védelmi funkciók, amik elősegítik a patogének elpusztítását, beindítva a SA koncentráció emelkedését. A SA egyrészt beindítja a védekezési folyamatokat, másrészt indukálja H_2O_2 termelését, ezzel megemelve a saját koncentrációját a növényi szövetekben (Green 1995; Máthé és mtsai., 2022). Szerepet játszik élettani folyamatok szabályozásában is, mint a sejtmegnyúlás és a sztomatomozgások (Liszkay és mtsai., 2004; He és mtsai, 2013). A megemelkedett H_2O_2 koncentráció a DNS károsítását eredményezheti, ezzel a növényi sejthalált okozva (Gechev és Hille, 2005; Liao és mtsai., 2016). H_2O_2 speciális esetekben (pl.: fotorespiráció), sugárzásból fennmaradt energiafeleslegből is keletkezhet (Máthé és mtsai. 2022). A H_2O_2 koncentrációjának változása a szövetekben a növényt érő környezeti hatásokra válaszol (Mittler, 2002; Suzuki és mtsai., 2011; Wu és Baldwin, 2010). Endogén jelként, a szalicilsav is képes megemelni a koncentrációját, valamint a különböző stressz folyamatok és az UV-B sugárzással együttes jelenléte is. A szuperoxid-anion akár spontán is át tud alakulni H_2O_2 -á, ezzel növelve a koncentrációját, de a folyamatot a szuperoxid-dizmutáz aktivitása fel is tudja gyorsítani (Alscher és mtsai., 2002). A peroxidáz ezzel szemben a H_2O_2 koncentrációját csökkenti. A kataláz is képes semlegesíteni H_2O_2 -ot vízzé és oxigénné bontva (Nicholls, 2012), de aktivitásához nagymennyiségű H_2O_2 jelenlétére van szükség (Deisseroth és Dounce, 1970).

1.4. Az SA szerepe a növényi védelmi válaszokban

A szalicilsav (SA, 2-hidroxi-benzoészav) elsősorban a szerzett szisztémás válasz (SAR) kialakításában játszik fontos szerepet. Másrészt ismert abiotikus stresszfaktorok elleni védekezésben betöltött szerepe is. A szalicilsav mennyisége a növényekben néhány $\mu\text{g/g}$ friss tömegre tehető, de fertőzés során a koncentrációja megemelkedik. Bioszintézise fenilalaninból indul, ami transz-fahéjsavvá és végül benzoészavvá alakul és végül hozzá kapcsolódik hidroxilcsoport. Növényi szövetekben előfordulhat szabad, illetve kötött formában is (Horváth és mtsai. 2002). A szalicilsav az auxin antagonistája, az SA-val kezelt növények esetén megfigyelhető volt a kisebb méret és a I-es fotokémia rendszer (PSI) aktivitásának csökkenése is.

Az SA hozzákötődik az NPR1 (Nonexpresser of PR genes) fehérjéhez, ami beindítja a PR gén átírását, melynek hatására PR-1 (pathogenesis-related) fehérje képződik (Vernooij és mtsai. 1994). A patogenezishez köthető fehérjék a növényi rezisztencia válaszok fontos effektor molekulái. PR-1 expressziója folyamatos lenne, ha valami nem szabályozná a termelődést, ezt az NPR3 és 4 gátlása végzi el. Amikor biotikus vagy abiotikus distressz éri a növényt, aminek hatására az SA szintje megemelkedik, majd hozzákapcsolódik az NPR fehérjéhez, feloldva a gátlást és megindul a PR-1 szintézis (Máthé és mtsai 2022).

Vizsgálataink során dohány (*Nicotiana tabacum* L.) két genotípusát használtuk: a Xanthi-t, ami egy vad típus és a NahG-t, ami egy SA-mutáns. A NahG növények szalicilát-hidroxilázt termelnek, ami a szalicilsavat katekolaminná bontja, így a mutáns nem képes a szalicilsav felhalmozásra. A NahG-ban lévő hidroxiláz enzim elbontja a szalicilsavat és így nem indul meg a PR-1 fehérje termelése. Azonban amikor distressz éri a növényt a hirtelen nagy mennyiségben felszabaduló szalicilsavat már nem tudja lebontani a hidroxiláz és elindulnak a növényi védekezési mechanizmusok.

Amikor vírusok, gombák vagy baktériumok támadják meg a növényeket, akkor számos folyamat indukálódik a fertőzés helye körül a növényekben. Beindul a programozott sejthalál, ami meggátolja a kórokozók tovább terjedését, megerősödik a sejtfal és antimikrobiális anyagok is termelődnek. A növény nem fertőzött részei ellenállóbbá válnak a kórokozókkal szembeni további fertőzések esetén. Ezt a nem specifikus rezisztencia jelenséget szisztémás szerzett rezisztenciának (SAR) nevezik. Kutatások bebizonyították, hogy az UV-B-vel besugárzott növényekben a PR-1 szintje megemelkedik, melyet a SA tesz lehetővé. koncentrációjának megemelkedésével. Szintén megfigyelhető van, hogy sugárzás hatására

szisztémás válasz alakult ki a növényekben, de a PR-1 felhalmozódás csak a sugárzásnak kitett levelekben volt megfigyelhető (Green et al. 1995).

2. Célkitűzések

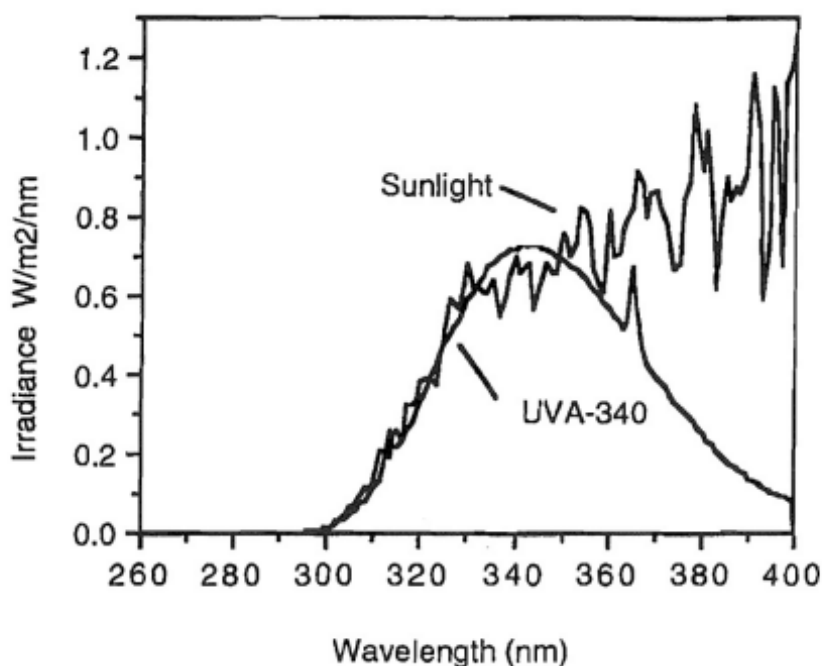
Napjaikban egyre elterjedtebb váltak a különböző beltéri növénytermesztési formák, mivel már rendelkezésre állnak olyan fénycsövek és LED izzók, melyek természetközeli sugárzást képesek kibocsátani. Az UV-B hatásairól már rengeteg szakirodalmi adat áll a rendelkezésünkre, melyek felhasználhatóak mezőgazdasági alkalmazott kutatásokban, ellenállóbb növényfajták kialakítása érdekében. Az UV-A biológiai hatásairól kevesebb információ áll a rendelkezésünkre ezért tűztük ki célul, hogy megismerjük az UV-A indukálta növényi válaszokat. Ha UV-B kezelés során kiváltott alkalmazkodási válaszokat, a kevésbé invazív UV-A sugárzással is ki tudnánk váltani, akkor kiküszöbölhetnénk az UV-B potenciális káros hatásait. A következő kérdésekre kerestük a válaszokat:

- Az UV-A-nak milyen eltérő hatásai vannak UV-B-vel szemben a kísérleti növényeinkre?
- Milyen UV hatások figyelhetőek meg szalicilsavat nem felhalmozó növények esetében?

3. Anyag és módszer

3.1 Növénynevelési körülmények és UV kezelés

A dohánynövényeket (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi és NahG) növénynevelő kamrákban növekedtek (Fitotron, SGC 120 Plant Growth Chamber, Weiss Technik UK, Loughborough, UK), általános virágföldben nőttek. Hosszúnappalos körülmények között: 16 órás napi megvilágítás mellett ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fotoszintetikusan aktív sugárzás, PAR) és 65% páratartalom. A csíranövények háromhetes korukban 12 cm átmérőjű cserepekbe, általános virágföldbe ültették. A kiegészítő UV-A kezelést a fényperiódus közepén alkalmaztuk napi 4 órán keresztül. A kezelés alatt természet közeli biológiailag effektív UV-A dózis (Panel UVA-340 tubes, Q-Lab Ltd., Bolton, UK) érte a növényeket. A megvilágításhoz Philips TL20 W/01RS fénycsövet (Philips Electronics, Roosendaal, Hollandia) használtunk. A 315 nm alatti hullámhosszúságú sugárzás kizárására poliészter szűrőt alkalmaztunk (Autostat CT-5 MacDermid Autotype, Wantage, UK). A kísérlet során felhasznált kifejlett leveleket a növények negyedik náduszáról gyűjtöttük.



1. ábra: UV-A fénycsövek és a napfény spektrum összehasonlítása (Reference: Fedor, G. R., and Brennan, P. J, 1996.)

3.2 Fotoszintetikus elektron transzport mérések

A klorofill fluoreszcencia méréseket Imaging-PAM (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) műszerrel végeztük el. Először 30 perces sötétadaptáció után megmértük a fluoreszcencia hatékonyságot telítő fényimpulzus előtt és után (F_0 és F_m). A PSII maximális kvantumhatásfokát az:

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

képlet felhasználásával számítottuk. Utána 5 percen keresztül $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR-nak megfelelő kék aktinikus megvilágítás végén újból elvégeztük a mérést, meghatározva az F és F'_m értékeket. A megvilágított levelekben a PSII hatékonyságát:

$$Y(II) = \frac{(F'_m - F)}{F'_m}$$

a nem szabályozott nem-fotokémiai kioltást:

$$Y(NO) = \frac{F}{F_m}$$

és a szabályozott nem-fotokémiai kioltást:

$$Y(NPQ) = \frac{F}{F'_m} - \frac{F}{F_m}$$

KLUGHAMMER és SCHREIBER (2008) alapján számoltuk ki.

3.3 Pigmenttartalom meghatározása

A levelek noninvazív klorofill, flavonoid és antocián tartalom mérésére a DUALEX® SCIENTIFIC készüléket (ForceA, Orsay, Franciaország) használtuk (Goulas és mtsai. 2004). Megmértük az abaxiális és adaxiális felszín pigmenttartalmát. A klorofill index meghatározásához a levelek transzmisszióját (T) két hullámhosszon, 650 nm-es vörös és 940 nm-es infravörös fénnel határoztuk meg:

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

Az epidermális flavonoidok elnyelik az UV sugárzást, így a flavonoid index meghatározásához a klorofill fluoreszcencia gerjeszthetőségét használjuk. A fluoreszcencia

intenzitását (F) az UV tartományban és vörös (650 nm) fénnel gerjesztve is megmértük, és a flavonoid és antocián indexet a következő képlet alapján határoztuk meg:

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

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

A Dualex készüléket relatív pigment tartalom mérésre, különböző levelek gyors összehasonlítására tervezték, így a levelek összehasonlítása a fenti indexek és nem abszolút érték (klorofill/flavonoid koncentráció) alapján történik.

A közeli infravörös klorofill fluoreszcenciát az első referencia gerjesztő fényben mérik, amelyet nem abszorbeálnak a polifenolok. Második mintavételezéssel összehasonlítják a polifenolok által elnyelt specifikus fénnel (zöld) az antocianinok esetében

3.4 Mintaelőkészítés

A non-invazív mérések után a dohánylevelek feltárása következett. Cseppfolyós nitrogén segítségével porítottuk leveleket, majd a mintákat Na-foszfát pufferben (50 mM, pH 7.0, 1 mM hozzáadott EDTA-val) homogenizáltuk. A levélkivonatokat centrifugáltuk ($15.000 \times g$, 45 perc, 4 °C, Hettich Rotina 380 R) és a felülúszókat használtuk fel az enzimaktivitás meghatározásához. A mintákat felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

3.5 Peroxidáz aktivitás meghatározása

A minták peroxidáz aktivitásának meghatározását torna peroxidáz (EC 1.11.1.7., HRP, horseradish peroxidase, Sigma) aktivitásához viszonyítva végeztük el. A HRP működése során két mól vízzé bont szét egy mól hidrogén-peroxidot, miközben oxidál egy hozzá kapcsolódó szubsztrátot, melynek oxidációját abszorpció változás kíséri. A méréshez Multiskan FC plate reader-t (Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína) használtunk. A fényelnyelést 735 nm-en végeztük. A levélkivonatok POD aktivitásának vizsgálatát ABTS szubsztráttal végeztük, CHILDS & BARDSLEY (1975) módszerével, 50 mM foszfát-citrát pufferben (pH 5.0) 10% ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfonsav) jelenlétében 10 mM hozzáadott H₂O₂ mellett. A reakció elegy előállításához a ABTS-t feloldottam a pufferben, a koncentrációja 0,1 mg/ml volt, 190 µl foszfát-citrát pufferhez, 8 µl H₂O₂ és 2 µl minta került.

3.7 Szuperoxid-dizmutáz aktivitásának meghatározása

A módszerben riboflavint használunk, ami megvilágítás hatására ROS-okat termel és ezek enzim általi semlegesítését detektáljuk. A reakcióelegy 50 mM Na-foszfát pufferhez (pH 7,5) adott NBT-t és riboflavint tartalmaz. Az NBT végkoncentrációja 4,1 mg/ml, a riboflaviné 0,5 mg/ml és a hozzá adott 0,3 mM EDTA meggátolja a kelátok képződését. A mintáink túl tömények lettek ezért hatszoros hígítást végeztünk rajtuk (5 µl növényi mintához 25 µl kivonó puffert adtunk). A méréshez Multiskan FC plate reader-t (Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína) használtunk. Az abszorpciós maximumokat 560 nm-en regisztráltuk, kétszer. Először a komponensek összekeverése után közvetlenül, majd a mintákat megvilágítottuk 1 percen keresztül és ezek után még egyszer megmértük (Giannopolitis & Ries 1977)

3.8 Nem enzimatis H₂O₂ semlegesítés

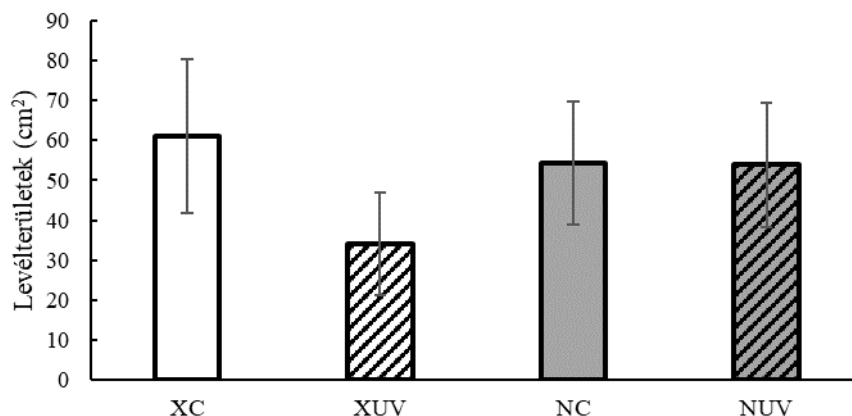
A mintáinkhoz 70% etanolt adtunk 1:2 arányban, mellyel inaktívtuk a mintában lévő enzimeket. A nem enzimatis H₂O₂ semlegesítő antioxidáns kapacitás meghatározást Csepregi és Hideg (2016) alapján végeztük el. A mérés során a kálium-jodid (KI) reakcióba lép a H₂O₂-al és jód (I₂) keletkezik, ez fotometriásan detektálható és nyomon követhető a H₂O₂ koncentrációjának csökkenése. 100 mM kálium-foszfát pufferhez (pH 7,0) adtunk KI-t, melynek végkoncentrációja 0,85 M lett. 140 µl-be került bele az etanolos minta a következő kalibrációs sor alapján: 2 µl, 4 µl, 6 µl, 8 µl, 10 µl, és végül 50 µl 1 mM-os H₂O₂. A méréshez Multiskan FC plate reader-t (Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína) használtunk. Az abszorpciós maximumokat 405 nm-en detektáltuk, kétszer. Először a komponensek összekeverése után közvetlenül, majd 3 perc elteltével. A nem enzimatis H₂O₂ semlegesítési értékeket µM aszkorbát ekvivalensként adtuk meg.

3.9 Statisztikai adatelemzés

A méréseinkhez 15 NahG és 14 Xanthi genotípusú növényt használtunk biológiai ismétlésként, egy levelet gyűjtöttünk be növényenként. Ezekből egyenként készítettünk kivonatokat és a mérések levelenként három technikai ismétlésben történtek. Egy mintát az egy genotípus (Xanthi, NahG) egyféle megvilágítást (PAR vagy PAR+UV) kapott levelek adatai képeztek (n=8). Az átlagolt adatsorok közötti eltéréseket ANOVA módszerrel határoztuk meg, a különbségeket $p < 0.05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatok a PAST program segítségével történtek (Hammer és mtsai. 2001)

4. Eredmények és megvitatásuk

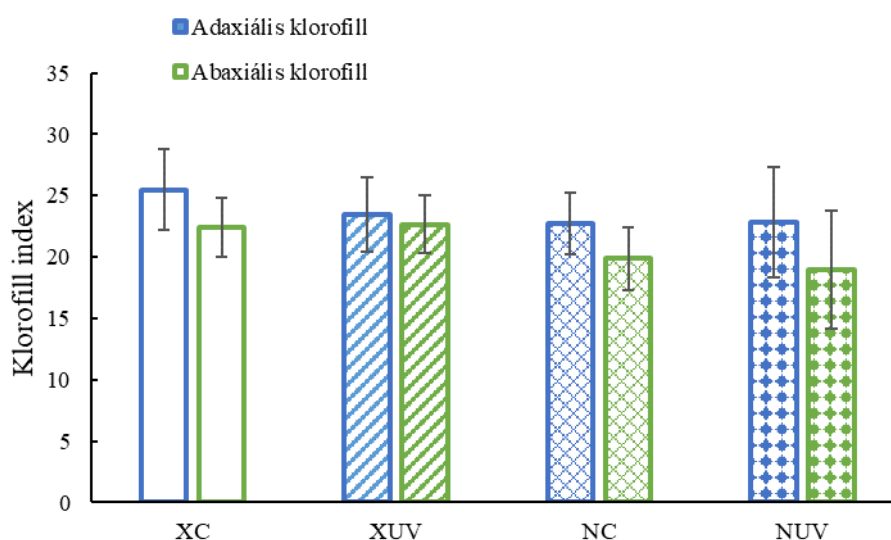
4.1. Az UV-A kezelés nem okoz szignifikáns különbséget a besugárzott levelek méretben



2. ábra: Levelek méretének változása UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik.

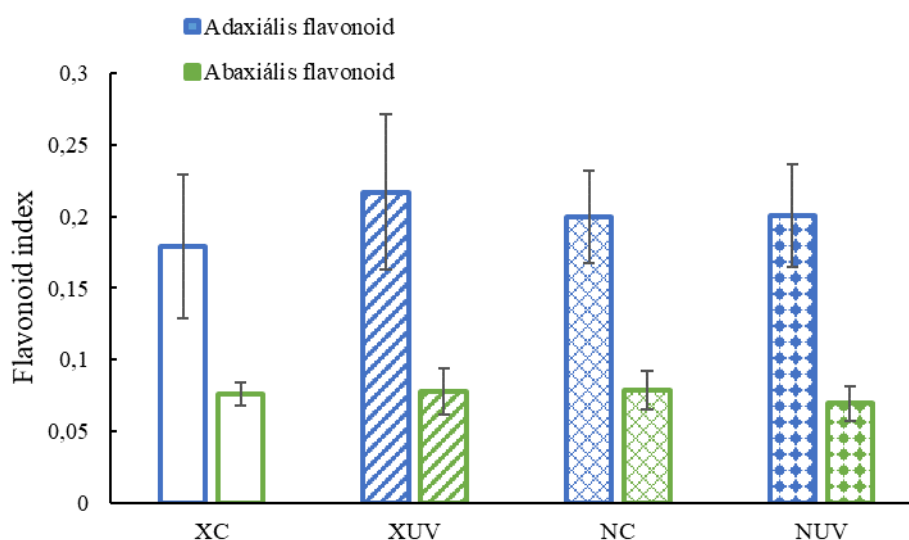
A kísérletünk során alkalmazott UV-A kezelés nem változtatta meg szignifikánsan a dohánylevelek méretét. A két genotípus esetében sem tapasztaltunk szignifikáns különbséget, azonban a vadtípusnál marginális csökkenés figyelhető meg. Megállapíthatjuk, hogy az UV-B sugárzás indukálta méretcsökkenést az UV-A kezelésünk nem váltotta ki.

4.2. Az UV-A kezelés nem volt szignifikáns hatással a levelek pigment tartalmára



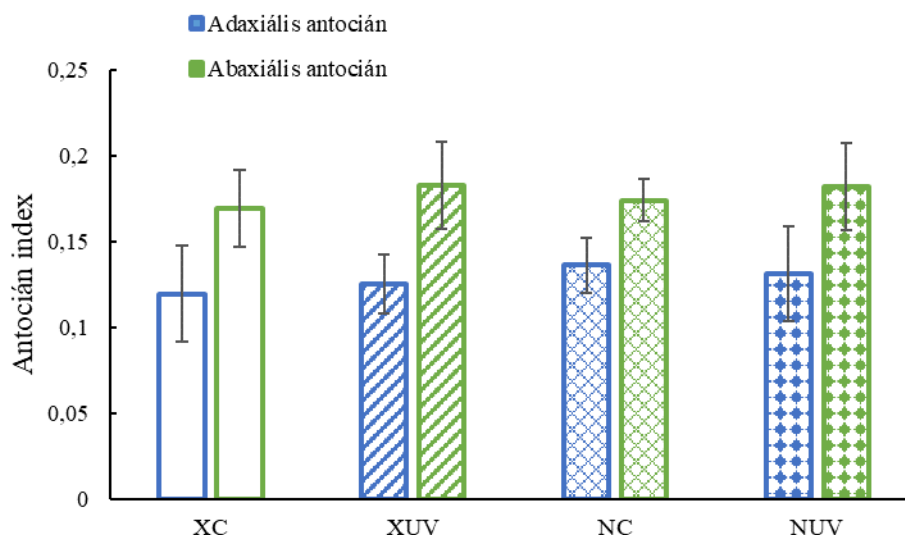
3. ábra: Levelek klorofill tartalom változása adaxiális és abaxiális oldalon UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik.

A levelek klorofill tartalmának mérése során nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést UV-A kezelés hatására, egyik levéloldal esetében sem. A genotípusos összehasonlítás során sem tapasztaltunk szignifikáns különbségeket egyik levéloldalon sem, a szalicilsav hiánya nem volt hatással a klorofill tartalomra (Qian és mtsai., 2021).



4. ábra: Levelek flavonoid tartalom változása adaxiális és abaxiális oldalon UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik.

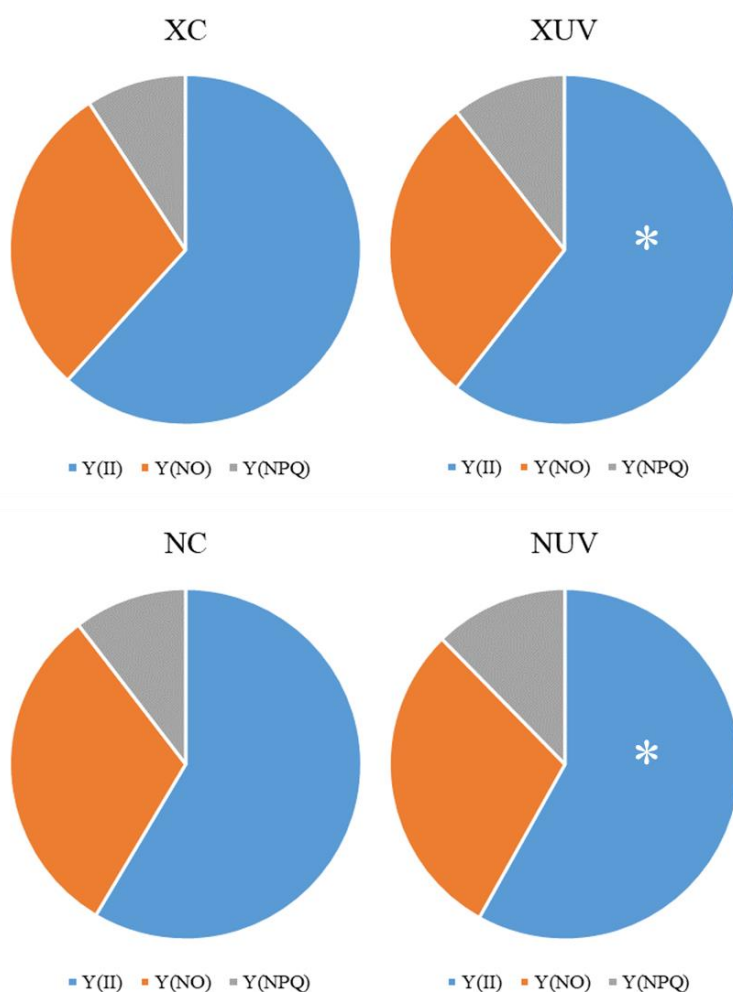
A levelek flavonoid tartalmának vizsgálata során megfigyeltük az UV szűrő pigmentek adaxiális oldali dominanciáját. Azonban a klorofill index értékeihez hasonlóan, itt sem találtunk szignifikáns eltéréseket, sem az UV-A kezelés hatására, sem a genotípusok között (Ruuhola és mtsai., 2018).



5. ábra: Levelek antocián tartalom változása adaxiális és abaxiális oldalon UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik.

A dohánylevelek antocián tartalmának becslése során a flavonoid indexnél tapasztaltakkal ellentétben, abaxiális dominanciát figyeltünk meg. Szignifikáns eltéréseket azonban itt sem tudtunk regisztrálni a non-invazív pigment tartalom becselő műszerünk használatával. Eredményeink alapján megállapítható, hogy az UV-A kezelésünk, az UV-B besugárzással ellentétben, nem befolyásolja a levelek epidermális pigmentösszetételét. Továbbá eredményeink rámutatnak arra is, hogy a szalicilsav jelenléte vagy hiánya sincs közvetlen hatással a levelek pigmenttartalmára.

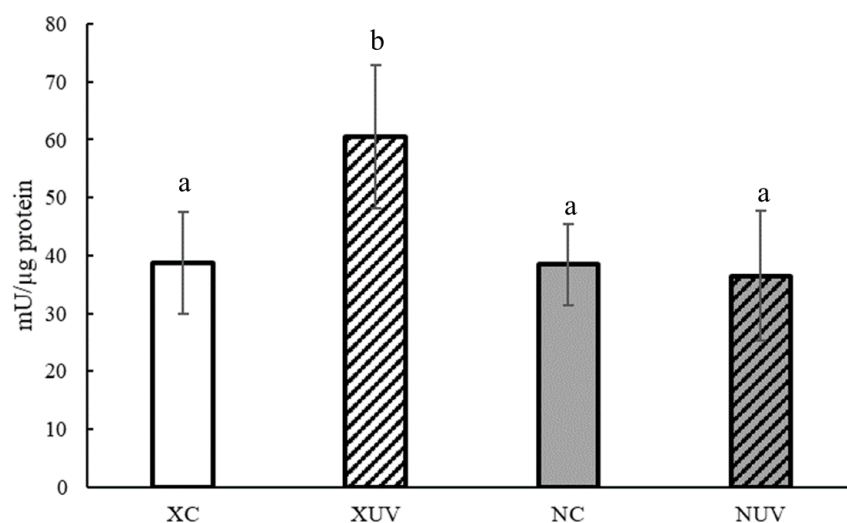
4.3. Az UV-A kezelés serkentő hatással volt a PSII hatékonyságra



6. ábra: Levelek fotoszintetikus elektron transzport változása UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). A szignifikáns különbséget csillaggal jelöltük ($p < 0,05$).

A klorofill fluoreszcencia mérési eredményeink alapján a nem szabályozott nem fotokémiai kioltás (Y(NO)) és a szabályozott nem fotokémiai kioltás (Y(NPQ)) UV-A kezelés hatására nem változott meg (Qian és mtsai., 2021; Miernicka és mtsai., 2022). A PSII hatékonyságát jellemző paraméter (Y(II)) szignifikánsan megemelkedett a kezelésünk hatására. Ennek magyarázata az lehet, hogy az UV-A fénycsöveink bizonyos mennyiségű kék fényt is kibocsátanak, melyet kísérleti növényeink hasznosítani tudtak, ezáltal megnövelve a PSII hozamukat. A Y(II) növekedését mindkét genotípus esetén is tapasztaltuk, tehát az UV-A sugárzáshoz történő alkalmazkodás fotoszintetikus reakció szalicilsav független folyamatok.

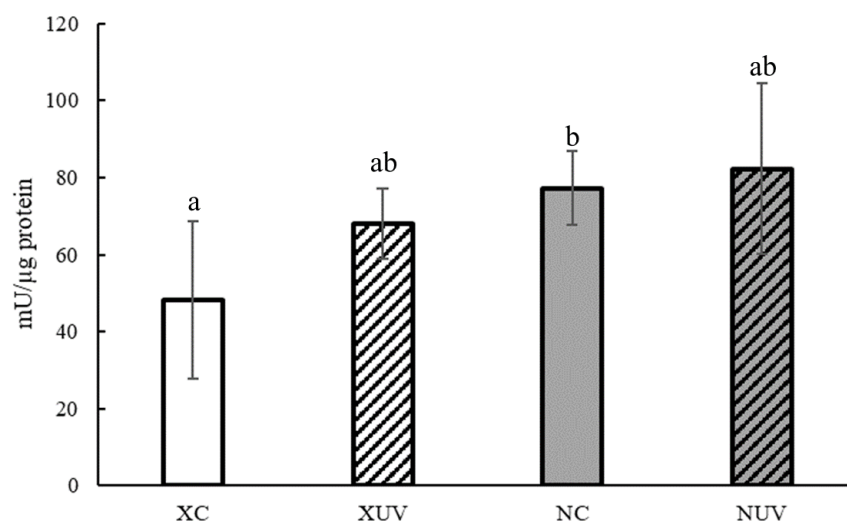
4.4. Az UV-A sugárzás indukálja a peroxidáz aktivitás mértékét



7. ábra: Peroxidáz aktivitás változása UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik. A szignifikáns különbséget kisbetűkkel jelöltük ($p < 0,05$).

A hármas típusú peroxidázok aktivitásuk során az UV-B besugárzás hatására megemelkedő H_2O_2 koncentrációját szabályozzák. Az UV-A sugárzás hatására is túllépi a szöveti H_2O_2 tartalom a hírvivő molekula szerepéhez szükséges mennyiséget, így a POD-ok aktivitása a mi kísérletünkben is megemelkedett (Mariz-Ponte és mtsai., 2018; Miernicka és mtsai., 2022). Ezt a változás nem volt megfigyelhető NahG növények UV-A kezelése során. Az aktivitás változatlanságát, azzal magyarázhatjuk, hogy SA hiányában nem indukálódik a szisztémás válaszhoz is szükséges H_2O_2 termelés. A potenciális stresszor jelenlétét jelző, megemelkedett H_2O_2 koncentráció kialakításához a NahG növények nem aktiválhatják POD enzimeiket, mivel ezek semlegesítenék a hírvivő molekulákat. Kísérleti elrendezésünk során sikerült olyan UV-A besugárzást használnunk, mely képes volt aktiválni a növények kulcsfontosságú enzimátikus védelmi válaszát, azonban ehhez szükség volt a szalicilsav jelenlétére.

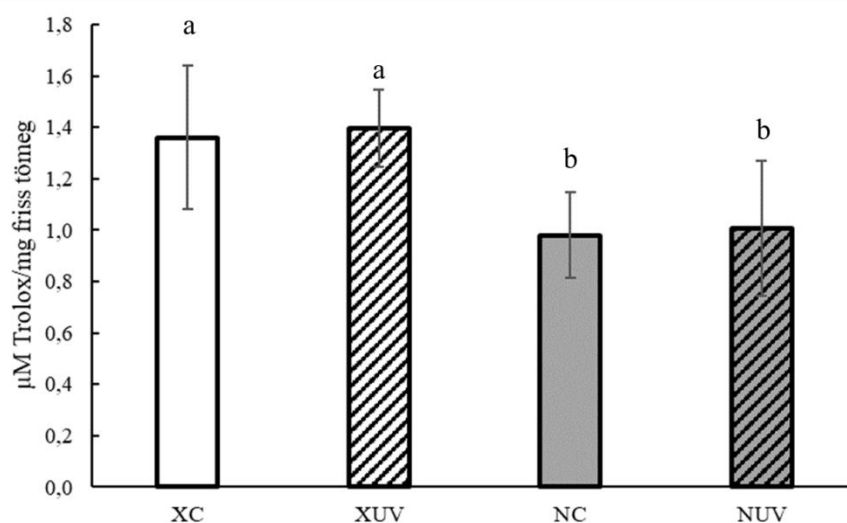
4.5. A szuperoxid-dizmutáz aktivitása eltérő a két genotípus között



8. ábra: Szuperoxid-dizmutáz aktivitás változása UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik. A szignifikáns különbséget kisbetűkkel jelöltük ($p < 0,05$).

A szuperoxid-dizmutáz funkciójából adódóan megemeli a szöveti koncentrációját a H_2O_2 -nak, a szuperoxid gyök H_2O_2 -á alakítása során. A tanszék korábbi eredményei alapján már több esetben is leírtuk a kiegészítő UV-B kezelés hatására bekövetkező SOD aktivitás csökkenését (Rácz és mtsai., 2020). Ezzel szemben az UV-A kezelés egyik genotípus esetében sem változtatta meg szignifikánsan a SOD aktivitást (Chen és mtsai., 2021). Miernicka és munkatársai (2022) ezzel ellentétben SOD aktivitás növekedését tapasztalták rövid idejű UV-A kezelés hatására. Az UV-A kezelésünk, feltehetően azért nem befolyásolta az enzim aktivitását, mert növényeink nem kaptak olyan dózisú UV-A besugárzást, ami szuperoxid gyök keletkezéshez vezethetett volna. A megfigyelt genotípusos különbség, azaz a NahG kontroll növények szignifikánsan magasabb értékei, a szalicilsav hiányával magyarázható, ami gátolná az SOD aktivitását.

4.6. Genotípusos különbség a nem enzimatiszus kioltásban

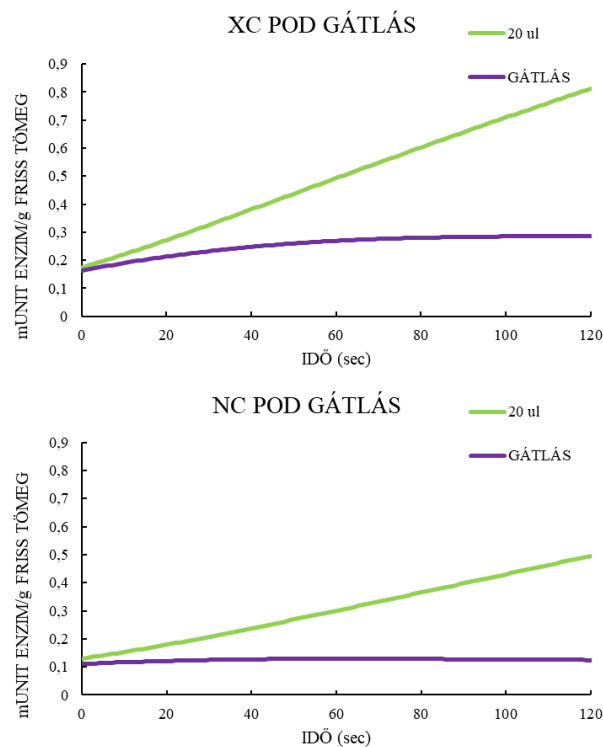


9. ábra: Nem enzimatiszus H_2O_2 semlegesítés változása UV-A kezelés hatására (kezeletlen xanthi kontroll, XC; UV-A kezelt xanthi, XUV; kezeletlen NahG kontroll, NC; UV-A kezelt NahG kontroll, NUV). Az oszlopok magassága az átlagokat, a hibasávok a szórásokat jelképezik. A szignifikáns különbséget kisbetűkkel jelöltük ($p < 0,05$).

Az enzimatiszus védelmi útvonalak mellett, a nem enzimatiszus H_2O_2 semlegesítési kapacitásokat is megvizsgáltuk. Rácz és munkatársai (2020) alapján tudjuk, hogy a kiegészítő UV-B kezelés nincs hatással a besugárzott levelek nem enzimatiszus kapacitásokra. Kísérletünkben az UV-A kezelés sem okozott változást a kapacitási értékekben, egyik genotípus estében sem. A NahG növényeknél tapasztalható szignifikáns csökkenés magyarázata, ismét a szalicilsav hiánya lehet. Az SA gátolja az enzimatiszus H_2O_2 semlegesítő utakat, de a NahG növényekben az enzim működése nincs legátolva, így nincsenek rászorulva a nem enzimatiszus védelmi utak aktiválására (Roy és mtsai., 2021).

4.7. Peroxidáz aktivitás gátlása

A szalicilsav deficiens kísérleti növényeink használatával lehetőségünk nyílt a peroxidázok és a szalicilsav kapcsolatának vizsgálatára is. Szakirodalomban leírt tény, hogy a szalicilsav képes gátolni a III típusú peroxidázokat (Cheeseman, 2007).



10. ábra: POD enzim gátlása szalicilsavval (XC POD GÁTLÁS: kezeletlen Xanthi kontroll POD gátlása; NC POD GÁTLÁS: kezeletlen NahG kontroll POD gátlása). A POD aktivitását a zöld vonal, a 40 μ l szalicilsav hozzáadásával gátolt POD aktivitását a lila vonal jelöli.

A két genotípusú kontroll növényeink (Xanthi kontroll és NahG kontroll) esetében kísérletes módon igazoltuk a szakirodalomban leírt SA általi POD gátlást. A növényi mintáinkban lévő POD aktivitást sikerült teljesen megállaitanunk, azonban ehhez a növényi szövetekben megtalálható SA koncentrációnál sokkal töményebb enzimre volt szükségünk. Az gátló hatást kiváltó koncentrációt több előzetes mérés során határoztuk meg, azok adatai nem szerepelnek a dolgozatban. A 10. ábra felső grafikonján egy enyhe görbülettel kezdődik a teljes enzim gátlódása (lila vonal), mivel a Xanthi növényben már alaptól jelen lévő SA miatt kevésbé érzékeny a külsőleg hozzáadott SA. Az alsó grafikonon ez nem jelenik meg, mivel a NahG növények érzékenyebbek az exogén SA-ra.

5. Összefoglalás

Méréseink során eltérő változásokat tapasztaltunk a szakirodalomban leírt UV-B és a kezelésünk során használt UV-A sugárzáshoz történő alkalmazkodási válaszokban. Az UV-B kezelés hatására a levél mérete lecsökken, kísérleti eredményeink alapján az UV-A kezelés hatására nem változik a levél méret. A két genotípus (Xanthi és NahG) között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. A levelek pigmenttartalmában bekövetkező változások ideális indikátorai az UV sugárzáshoz történő alkalmazkodási válaszok vizsgálatában. UV-B kezelés hatására megemelkedik az antociánok és a flavanoidok koncentrációja a levél szöveiben, mivel antioxidáns és UV-szűrő hatásaikat elsődleges védelmi vonalként használják fel a növények. Eredményeink alapján azonban UV-A kezelés hatására a pigment tartalom sem változott szignifikánsan. A két genotípus (Xanthi és NahG) között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget.

A klorofill fluoreszcencia mérések három paraméterének szakirodalmi adatai alapján elmondható, hogy UV-B kezelés hatására a PSII hatékonysága ($Y(II)$) csökken, a nem szabályozott nem fotokémiai kioltás (NO) növekszik és a szabályozott nem fotokémiai kioltás (NPQ) is növekszik. Eredményeink alapján az UV-A kezelés hatására szignifikáns növekedést tapasztaltunk a PSII hatékonyságában. Ami amiatt is tapasztalható mert az UV csöveink kék fényt is bocsátanak magukból, amit a növény képes hasznosítani. Az NO, ami a növény stressz indikátor paramétere és az NPQ, ami a stressz sikeres elkerülését jelölő paramétere nem mutatnak szignifikáns különbséget, amiből arra következtethetünk, hogy a kiegészítő UV kezelésünk nem érte stresszorként a növényeinket. Minden a kísérlet során tapasztalt változás a sikeres alkalmazkodási válaszok részét képezték. A két genotípus (Xanthi és NahG) között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget.

UV-B kezelés hatására a hármas típusú peroxidázok (POD) aktivitása megemelkedik. Az UV-A kezelésünk hatására is tapasztaltuk ezt a POD aktivitásnövekedést.

A Xanthi genotípus esetében szignifikáns emelkedést tapasztaltunk, de NahG genotípusnál ez a hatás nem volt megfigyelhető. A szalicilsav deficiens növényekben nem keletkezett elegendő hidrogén-peroxid, ami aktiválhatta volna a POD-okat.

A szuperoxid-dizmutáz (SOD) aktivitása az UV-B kezelés hatására lecsökken azonban UV-A kezelés hatására nem tapasztalunk szignifikáns csökkentést egyik genotípus esetében sem. NahG növényeknél azonban a SOD aktivitás szignifikánsan magasabb volt a vadtypushoz képest. A SOD által megemelkedő H_2O_2 szint hatására a szalicilsav koncentráció is

megemelkedik, mely legátolhatja a SOD aktivitást, azonban a NahG növényekben nincs szalicilsav és így a hormon gátló hatása sem.

A növényekben léteznek nem enzimatis H₂O₂ semlegesítő útvonalak is, melyek UV-B sugárzás hatására nem változnak meg. Kísérleti eredményeink alapján pedig kimutattuk, hogy UV-A kezeléssel sem indukálhatóak ezen útvonalak. Vizsgálatunk során azonban megfigyeltünk genotípusos különbségeket, a Xanthi növények esetén magasabb kapacitásokat mértünk, mint NahG-k esetében. Hipotézisünk szerint a vad típusú növények szalicilsav tartalma gátolja az enzimatis védelmi utakat, így a nem enzimatis semlegesítő képességre kell hagyatkozniuk a képződő ROS-ok ellen.

Kísérleti eredményeink rámutatnak arra, hogy a szalicilsav vezérelte szisztémás válaszok fontos részét képezik mind az UV-B, mind az UV-A sugárzáshoz történő alkalmazkodási válaszok kialakulásában.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Rác Arnold témavezetőmnek a dolgozatom megírásában nyújtott szakmai tanácsaikért, valamint a laboratóriumi munkám során nyújtott útmutatásáért és segítségéért, valamint Dr. Hideg Évának segítségért és tanácsaiért. Továbbá szeretnék köszönetet mondani Major Gyöngyinek és a Növénybiológiai Tanszék munkatársainak is.

Irodalomjegyzék

- Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* 53, 1331–1341. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331>.
- Asada, K., 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol.* 141, 391–396. <https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>.
- Björn, L.O., Widell, S., Wang, T., 2002. Evolution of UV-B regulation and protection in plants. *Adv. Space Res.* 30, 1557–1562. [https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(02\)00371-X](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(02)00371-X).
- Cheeseman, J.M., 2007. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. *Plant Stress* 1, 4–15.
- Chen, Y., Fanourakis, D., Tsaniklidis, G., Aliniaiefard, S., Yang, Q., Li, T. 2021. Low UVA intensity during cultivation improves the lettuce shelf-life, an effect that is not sustained at higher intensity. *Postharvest Biology and Technology* 172 111376 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111376>.
- CHILDS, R. E. & BARDSLEY, W. G. 1975: The steady-state kinetics of peroxidase with 2,2'-Azino-di-(3-ethyl- benzthiazoline-6-sulphonic acid) as chromoge. *Biochemical Journal* 145: 93-103.
- Csepregi, K., Hideg, É. (2016) A novel procedure to assess the non-enzymatic hydrogen-peroxide antioxidant capacity of metabolites with high UV absorption. *Acta Biol. Hung.* 67: 447-450.
- Deisseroth, A., Dounce, A.L., 1970. Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol. Rev.* 50, 319–375. <https://doi.org/10.1152/physrev.1970.50.3.319>.
- Donald T. Krizek (2004) Influence of PAR and UV-A in Determining Plant Sensitivity and Photomorphogenic Responses to UV-B Radiation *Photochemistry and Photobiology*, 2004, 79(4): 307-315

- Fedor, G. R., and Brennan, P. J., "Comparison Between Natural Wathering and Fluorescent UV Exposures: UVA-340 Lamp Test Results," Durability Testing of Non-Metallic Materials, ASTM STP 1294, Robert J. Herling, Ed., American Society for Testing and Material, Philadelphia, 1996.
- Gechev, T.S., Hille, J., 2005. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J. Cell Biol.* 168, 17–20. <https://doi.org/10.1083/jcb.200409170>.
- Giannopolitis C. N. & Ries S. K. 1977 Superoxide Dismutases. *Plant Physiol.* 59,309-314.
- Goulas, Y., Cerovic, Z.G., Cartelat, A., Moya, I. (2004) Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. *Appl Opt* 43: 4488-4496.
- Green R, Fluhr R (1995) UV-B-induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species. *Plant Cell* 7: 203-212.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4: 9
- He, J.-M., Ma, X.-G., Zhang, Y., Sun, T.-F., Xu, F.-F., Chen, Y.-P., Liu, X., Yue, M., 2013. Role and interrelationship of Ga protein, hydrogen peroxide, and nitric oxide in ultraviolet B-induced stomatal closure in *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiol.* 161, 1570–1583. <https://doi.org/10.1104/pp.112.211623>.
- Horváth E, Janda T, Szalai G, Páldi E (2002) In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: Differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Sci.* 163: 1129-1135.
- Jansen, M.A.K., Bilger, W., Hideg, É., Strid, Å., 2019. UV4Plants Workshop Participants, Urban, O. Editorial: interactive effects of UV-B radiation in a complex environment. *Plant Physiol. Biochem.* 134, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.021>.
- KLUGHAMMER, C. & SCHREIBER, U. 2008: Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. *PAM Application Notes* 1: 27 -35.

- Leslie Friedrich, Bernard Vernooij, Tom Gaffney, Alison Morse & John Ryals (1995) Characterization of tobacco plants expressing a bacterial salicylate hydroxylase gene, *Plant Molecular Biology* 29, 959-968.
- Liao, W., Wang, G., Li, Y., Wang, B., Zhang, P., Peng, M., 2016. Reactive oxygen species regulate leaf pulvinus abscission zone cell separation in response to water-deficit stress in cassava. *Sci. Rep.* 6, 21542 <https://doi.org/10.1038/srep21542>.
- Liszak, A., van der Zalm, E., Schopfer, P., 2004. Production of Reactive Oxygen Intermediates ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , and $\cdot OH$) by Maize roots and their role in wall loosening and elongation growth. *Plant Physiol.* 136, 3114–3123. <https://doi.org/10.1104/pp.104.044784>.
- Mariz-Ponte, N., Mendes, R.J., Sario, S., Melo, P., Santos, C. 2018. Moderate UV-A supplementation benefits tomato seed and seedling invigoration: a contribution to the use of UV in seed technology. *Scientia Horticulturae* 235 357-366. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.025>.
- Máthé Csaba (2022): Növényi sejtbiológia, Kontraszt Plusz Kft., Pécs
- Miernicka, K.; Tokarz, B.; Makowski, W.; Mazur, S.; Banasiuk, R.; Tokarz, K.M. 2022. The Adjustment Strategy of Venus Flytrap Photosynthetic Apparatus to UV-A Radiation. *Cells* 11, 3030. <https://doi.org/10.3390/cells11193030>
- Miernicka, K.; Tokarz, B.; Makowski, W.; Mazur, S.; Banasiuk, R.; Tokarz, K.M. The Adjustment Strategy of Venus Flytrap Photosynthetic Apparatus to UV-A Radiation. *Cells* 2022, 11, 3030. <https://doi.org/10.3390/cells11193030>
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).
- Nicholls, P., 2012. Classical catalase: ancient and modern. *Arch. Biochem. Biophys.* 525, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.01.015>.
- Qian, M., Rosenqvist, E., Prinsen, E., Pescheck, F., Flygare, A-M., Kalbina, I., Jansen, MAK., Strid, Å. 2021. Downsizing in plants—UV light induces pronounced morphological changes in the absence of stress. *Plant Physiology* 187(1) 378–395, <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab262>.

- Rácz, A., Czégény, Gy., Csepregi, K., Hideg, É., 2020. Ultraviolet-B acclimation is supported by functionally heterogeneous phenolic peroxidases. *Sci Rep* 10, 16303. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73548-5>.
- Roy, U.K.; Nielsen, B.V.; Milledge, J.J. Antioxidant Production in *Dunaliella*. *Appl. Sci.* 2021, 11, 3959. <https://doi.org/10.3390/app11093959>.
- Ruuhola, T., Nybakken, L., Randriamanana, T., Lavola, A., Julkunen-Tiitto, R. 2018. Effects of long-term UV-exposure and plant sex on the leaf phenoloxidase activities and phenolic concentrations of *Salix myrsinifolia* (Salisb.) *Plant Physiology and Biochemistry* 126 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.025>.
- Saskia C. M. VAN Wees, Jane Glazebrook, 2003. Loss of non-host resistance of *Arabidopsis NahG* to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* is due to degradation products of salicylic acid, <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113X.2003.01665.x>
- Suzuki, N., Miller, G., Morales, J., Shulaev, V., Torres, M.A., Mittler, R., 2011. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 691–699. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.07.014>.
- Vernooij B, Friedrich L, Morse A, Reist R, Kolditz-Jawhar R, Ward E, Uknes S, Kessmann H, Ryals J (1994) Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell* 6: 959-965.
- Vestergaard, C., Flyvbjerg, H., Møller, I., 2012. Intracellular signaling by diffusion: can waves of hydrogen peroxide transmit intracellular information in plant cells? *Front. Plant Sci.* 3, 295. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00295>.
- Wu, J., Baldwin, I.T., 2010. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annu. Rev. Genet.* 44, 1–24. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163500>.