

36. OTDK BIOLÓGIA SEKCIÓ

NÖVÉNYI ANTIOXIDÁNS VÁLASZOK KÜLÖNBÖZŐ TERMÉSZETES UV-KITETTSÉG SORÁN

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
BIOLÓGIA INTÉZET



Témavezető: Dr. CZÉGÉNY GYULA
adjunktus

Készítette: KOMJÁTI ANNA
BIOLÓGUS MSc
2. évfolyam

PÉCS, 2023

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
1.1 Fotoszintézis	3
1.2 Fotoreceptorok.....	5
1.3 A növényi redox rendszerek.....	7
2. Célkitűzések	9
3. Anyagok és módszerek	10
3.1 Növénynevelés.....	10
3.2 A klorofill-fluoreszcencia paraméterek meghatározása.....	11
3.3 A levelek CO ₂ -asszimilációjának meghatározása	12
3.4 Pigmenttartalom mérések	12
3.5 Antioxidáns enzimaktivitások meghatározása	13
3.6 A levelek hidroxilgyök semlegesítő képességének meghatározása.....	13
3.7 A levél polifenol tartalmának meghatározása folyadékkromatográfiával	14
3.8 Statisztika.....	14
4. Eredmények és megvitatásuk.....	14
4.1 A levelek fotoszintetikus hatásfoka.....	14
4.2 Pigmenttartalom.....	18
4.3 A levelek antioxidáns képessége.....	22
5. Összefoglalás.....	25

1 Bevezetés

Napjaink egyik aktuális kutatási témája, hogy a Föld felszínét elérő fény mennyisége és minősége milyen mértékben befolyásolja egyes növények fejlődését. Ezen kutatások választ adhatnak arra, hogy a növények hogyan tudnak alkalmazkodni az őket érő fény dinamikus változásához.

A Napból érkező sugárzás földfelszínre jutó mennyiségét több tényező is befolyásolja, mint például: a szélességi kör, az évszakok, a felhőzet eloszlása, vagy a tengerszint feletti magasság, az ultraibolya-sugárzás (UV, 100-400 nm) esetében pedig az ózonréteg is (*Bornman és mtsai. 2019*). Az ózonréteg a fotoszintetikusan aktív sugárzást (PAR, 400-700 nm) teljesen, viszont az UV-sugárzást már csak korlátozott mennyiségben engedi át. Az UV-sugárzást a tudomány három tartományra osztja fel: UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) és UV-C (100-280 nm) tartományokra (*Castronuovo és mtsai. 2014, Gonzalez és mtsai. 1996*). A sztratoszférikus ózonrétegben történő abszorpciónak köszönhetően csak a 290 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú sugarak érik el a Föld felszínét. Tehát amíg az UV-A sugárzás teljes mértékben, az UV-B részlegesen jut át az ózonpajzson, az UV-C sugárzást viszont már teljes mértékben abszorbeálja az ózonréteg (*McKenzie és mtsai. 2003*).

1.1 Fotoszintézis

A fotoszintézis során a növények képesek a napfény energiáját kémiai energiává alakítani. A folyamat során a kloroplasztisban szén-dioxidot (CO_2) fixálnak, illetve melléktermékként oxigént szabadítanak fel (*Amthor és Baldocchi 2001*). A kloroplasztisz kiterjedt tilakoid membránrendszerrel rendelkezik, amihez klorofillok és egyéb pigmentek kapcsolódnak. A tilakoid membránrendszerben megy végbe a fényenergia kémiai energiává való átalakítása (*Dekker és Boekema 2005*).

A fotoszintézis folyamata négy részre osztható fel:

1. fényelnyelés és energia transzfer a reakció centrumba (antenna rendszereken keresztül)
2. elemi töltésszétválás (fényenergia $\rightarrow$ kémiai energia)
3. töltésszabályozás (elektrontranszport)
4. exportálható termékek szintézise

Az első három pont a fotoszintézis fényszakaszában, a negyedik pedig a sötét szakaszban játszódik le. A fényszakaszban a CO_2 redukció energetikai feltételei (ATP) és redukálószer

(NADPH) termelődik, míg a sötét szakaszban megtörténik a CO₂ szénhidráttá való redukálása (*Blankenship 2014*).

A fényelnyelést követően a klorofillmolekulák gerjesztett állapotba kerülnek, majd az antennakomplexből a gerjesztési energia a reakciócentrumba jut, ahol megtörténik a töltésszétválás. Az antennakomplexek (LHC) a kloroplasztisz tilakoid membránjaiban találhatóak, fő feladatuk a fény begyűjtése. Az LHC-ben a klorofill és kísérő pigmentek abszorbeálják a fényt, majd továbbadják a gerjesztési energiát a többi klorofill molekulának, amíg végül el nem jut a reakciócentrumba (*Kühlbrandt, Wang és Fujuyoshi 1994*). A gerjesztési energia az energiaátvitel során mindig a magasabb energiájú pigmentektől az alacsonyabb energiájú pigmentek felé halad. Az antennarendszerek képesek fokozni a fényabszorpció hatásfokát, ami alapvetően kedvező a növények számára, azonban stresszhatás esetén ez a fokozott fényelnyelés a felhasználás lehetséges limitációi miatt kockázatos is lehet. Ez fotoinhibícióhoz vezethet, amelynek elkerülésére/szabályozására az antennarendszerek védelmi és javítási mechanizmusokkal rendelkeznek (*Ballottari és mtsai. 2007*).

A reakciócentrum egy a tilakoid membránban található, több fehérje alegységből álló központi rész, ahol az elemi töltésszétválás megvalósul. Az elektronátviteli folyamatokban részt vesznek a reakciócentrumokban található klorofilok, karotinoid pigmentek és egyéb kofaktorok is (pl. kinonok) (*Blankenship 2014*).

A növények két fotokémiai komplexszel rendelkeznek, melyek az egyes és kettes fotokémiai rendszer (PSI és PSII). A PSII donor oldalán történő vízbontásból származó töltéskülönbség a citokróm b₆f komplexen keresztül a PSI-be kerül, ahol egy köztes elektronakceptor (NADP⁺) redukálásával NADPH keletkezik. A folyamat során melléktermékként oxigén szabadul fel, illetve protonok jutnak a tilakoid lumenbe, mely által generált protonmotor energiát ATP előállítására használják fel a növények (*Anderson 1992*).

A fotoszintézis utolsó lépéseként nagy energiájú molekulák szintézise és exportálása történik, különböző sejtfolyamatok működtetésére. A PSI működése során kialakult NADPH-t és az ATP foszfátkötési energiáját felhasználva képes a növény cukorra redukálni a széndioxidot. Ezt követően a foszforilált cukrok exportálódnak a fotoszintetikus szervezetekbe. A szén-asszimilációs és redukációs reakciók a kloroplasztisz sztrómájában játszódnak le (*Sharkey és mtsai. 2007*).

1.2 Fotoreceptorok

A növények a fény különböző hullámhossz tartományait fotoreceptorok segítségével tudják érzékelni. Jól ismert, hogy a fotomorfogén válaszokat a fitokróm fotoreceptorok közvetítik, melyek a vörös és távoli vörös fényt detektálják (Smith 2000). A fototropinok a kék fény elnyelésére képesek, míg a kriptokrómok a kék fény mellett az UV-A-t is érzékelik (Möglich és mtsai. 2010). Az élővilágban egyedül a növények képesek az UV-B-sugárzás érzékelésére, ezt egy specifikus UV-B fotoreceptor, az UVR8 protein segítségével végzik (UV RESISTANCE LOCUS 8) (Rizzini és mtsai. 2011). Az alábbiakban a két ultraibolya abszorpcióra képes fotoreceptor típust mutatom be részletesebben.

Növényekben a kriptokrómok fő szerepe a cirkadián óra és az általa indukált folyamatok szabályozása (pl. virágzás). A kriptokrómok a kék fény mellett a hosszú hullámhosszú (350-400 nm) UV-A sugárzást is képesek érzékelni (Rai és mtsai. 2020). Az UVR8 fotoreceptorokhoz hasonlóan a kriptokrómok is két elkülönülő domént tartalmaznak, a nagymértékben konzervált FAD-kötő fotoliáz homológ régió (PHR) domént és a különböző hosszúságú, eltérő CRY C-terminális kiterjesztés (CCE) domént (Partch és mtsai. 2005; Uversky 2019). Sötétben, alapállapotban monomerként vannak jelen, majd a fotonok elnyelését követően homooligomerizálódnak, ami megváltoztatja a kriptokrómok affinitását a receptorral kölcsönhatásba kerülni képes fehérjékhez, ez pedig különböző kriptokróm-komplexek kialakulásához vezet (Wang és Lin 2020). Szinte minden vizsgált magasabbrendű növénynek, két filogenetikailag elkülöníthető kládja van, a CRY1 és CRY2 (Lin és Shalitin 2003). A növényi kriptokrómok nukleocitoplazmatikus fehérjék. A CRY1 mind a sejtmagban, mind a citoplazmában jelen van (Wu és Spalding 2007), míg a CRY2 kizárólag nukleáris fehérje, amely a poszttranszlációs életciklusát a sejtmagban fejezi be (Yu és mtsai. 2007). A HY4/CRY1 gén által kódolt fehérje szekvencia hasonlóságot mutat a fotoliázokkal, melyek az UV által károsított DNS javítását közvetítő fehérjecsalád. A CRY1 fotoreceptor túltermelése növényekben hiperérzékenységet eredményez a kék/UV-A fénnel szemben (rövid hipokotil és magas antocián szint) (Li és Yang 2007). A CRY1 flavin-adenin-dinukleotidot (FAD) tartalmaz, mely a fotoliázok és kriptokrómok elsődleges kromofórja, de általában nem rendelkezik a fotoliázok DNS-javító enzimaktivitásával (Lin és mtsai. 1995). A CRY2 fő funkciója a virágzás megindulásának fotoperiodikus elősegítése (El-Din El-Assal és mtsai. 2001) és a hipokotil megnyúlásának kék fény általi gátlása (Mockler és mtsai. 1999).

Az UVR8 fotoreceptor egy hét lapátos β -propeller fehérje, ami homodimerként van jelen a növényekben. Az UV-B abszorpciót követően az UVR8 homodimer monomerizálódik, majd

elindít egy jelátviteli kaszkádot, ami bizonyos célgének transzkripció szabályozásához vezet. Az UVR8 proteinben a többi fotoreceptorral ellentétben nem található kromofór, a fény elnyelését tizennégy, erősen konzerválódott helyzetű triptofán végzi (O'Hara és Jenkins 2012), a receptor akciós maximuma 296 nm-nél található. Az UVR8 leginkább a növényi sejtek sejtmagjában aktív, de megtalálható a citoszolban is. Az UV-B által aktivált UVR8 kölcsönhatásba lép a COP1 (CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC1) fehérjével, ami egy E3 ubiquitin ligáz (Yin és mtsai., 2016). Az UVR8 az egyetlen olyan fotoreceptor, ami képes közvetlenül fényfüggő kölcsönhatásba lépni a COP1-gyel. A COP1 fehérje képes a HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5), transzkripció faktor gátlására, ami a fotomorfogenikus UV-B válaszokban részt vevő géneket szabályozza. Ezért ha a COP1 aktivitása csökken, akkor a HY5 fotomorfogenezist serkentő funkciói jobban érvényesülnek (Huang és mtsai. 2013). Az UVR8 fotoreceptorok képesek inaktiválódni, tehát inger hiányában visszatérnek az alapállapotukba. Ebben a folyamatban a RUP 1 és 2 (REPRESSOR OF UV-B PHOTOMORPHOGENESIS) fehérjék játszanak szerepet (Ulm és Jenkins 2015).

Az UVR8 működése alatt kb. 70 olyan gén létezik amelyet az UV-B stimulál (Brown és mtsai. 2005). A legtöbb ilyen gén kulcsfontosságú szerepet tölt be a növények UV elleni védelmében, beleértve a DNS fotoliázokat és több enzimet melyek a flavonoid bioszintézisben játszanak fontos szerepet, illetve kiemelt szerepük van az oxidatív stressz és a fotooxidatív károsodások okozta problémák enyhítésében. Ez bizonyítja, hogy az UVR8 fontos szerepet játszik a károsító UV-B-nek kitett növények védelmében (Jenkins 2009), azonban a szerepe nem csak erre korlátozódik, mivel az UV-B-re adott morfológiai válaszokat is közvetíti (Robson és mtsai. 2015). Az UV-B-sugárzás közvetlen és közvetett módon is képes befolyásolni a növények egyedfejlődését. A flavonoidok bioszintézise az egyik legjellemzőbb UV-B-re adott fotomorfogenikus válasz (Jenkins 2014).

Az UV képes közvetlenül befolyásolni a növények fejlődését, növekedését és morfológiáját (Robson és mtsai. 2015), emellett reaktív oxigénszármazékok (ROS) indukálásán keresztül egyéb jelátviteli útvonalaknak is fontos szabályozója lehet (Czégény és Rácz 2023). Természetes körülmények között UV-sugárzáshoz köthető stresszválasz csak abban az esetben figyelhető meg, ha a hatása egyéb környezeti stresszorokkal együttesen (szinergikusan) jelentkezik (Hideg, Jansen és Strid 2013) Ebben az esetben képes lehet a DNS-, fehérje- vagy lipidmolekulák direkt, vagy indirekt károsítására (Jansen, Gaba és Greenberg 1998).

1.3 A növényi redox rendszerek

Kedvezőtlen fényviszonyok hatására a növényi szövetekben fokozódhat a ROS-ok keletkezése, amelyek befolyásolhatják a növények növekedését, fejlődését és morfológiáját is. A ROS-ok kulcsszerepet játszanak a növények abiotikus stresszhez (pl.: szárazságstressz, hőstressz stb.) való alkalmazkodásukban. A kloroplasztisban, a peroxisómában, a mitokondriumban és az apoplasztban is keletkezhetnek ROS-ok: pl.: szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$), szuperoxid gyök-anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrogén-peroxid (H_2O_2) és hidroxilgyök ($\cdot\text{OH}$) (Navari-Izzo és mtsai. 1999). A ROS-ok keletkezése lehet enzimreakciók terméke, illetve elektrontranszport eredménye is. $\text{O}_2^{\cdot-}$ keletkezhet a mitokondriális és fotoszintetikus elektrontranszport során az oxigénmolekulához történő elektronátadással. Az egyes fotokémiai rendszer (PSI) akceptor oldalán $\text{O}_2^{\cdot-}$ alakulhat ki a Mehler-reakció során, mivel a ferredoxinról (Fd) redukálható reakciópartner nélkül az elektron az O_2 -re kerül (Mehler 1951). Szuperoxid-dizmutáz (SOD) enzim hatására a $\text{O}_2^{\cdot-}$ -ből H_2O_2 keletkezik. A H_2O_2 , mint a leghosszabb életidejű ROS állandóan jelen van a növényi sejtekben, így jelátviteli molekulaként is funkcionál (Cheeseman 2007). A kettes fotokémiai rendszer (PSII) donor oldalán levő vízbontó komplex funkcionális károsodását követően, a víz nem képes teljesen oxidálódni, így H_2O_2 keletkezhet, amely redukciója során pedig $\cdot\text{OH}$ alakulhat ki. A PSII-ben triplet klorofill (^3Chl) keletkezhet, ha a párosítatlan klorofill molekula mellett nincsen karotin, ami képes lenne a plusz energia elvezetésére. Ezt követően a PSII antennában $^1\text{O}_2$ keletkezhet, triplet-szinglet átadással ^3Chl -ről a molekuláris oxigénre (Barber és Andersson 1992). A ROS-ok elleni védelem háromféleképpen valósulhat meg: 1. a ROS keletkezés megelőzése (hatékony elektrontranszport és energiaelvezetés); 2. a ROS semlegesítése (antioxidánsokkal); 3. a keletkezett károsodás kijavítása/pótlása. Az antioxidánsok képesek más biológiai molekulák oxidatív károsodását megelőzni. Két csoportját különíthetjük el:

1. A generalista nem enzimatisz antioxidánsok, pl.: aszkorbinsav, B₆-vitamin, E-vitamin, glutation, tokoferolok, karotinoidok vagy fenolos vegyületek (Halliwell és Guteridge 2015).
2. A specialista antioxidáns enzimek, pl.: aszkorbát-peroxidáz (APX), kataláz (CAT), glutation-peroxidáz (GPX), hármastípusú növényi peroxidáz (POD) vagy szuperoxid-dizmutáz (SOD) (Ahmad és mtsai. 2010, Sharma és mtsai. 2012).

A polifenolok sokoldalú másodlagos metabolitok, melyek antioxidáns tulajdonsággal rendelkeznek (Di Ferdinando és mtsai. 2014). A polifenolok csoportjába tartozó hidroxifahéjsav származékok és flavonoidok a sejtfa megvastagodásában vesznek részt, ami

által a növényi szövetek ellenállóbbak lesznek a szárazságstressz ellen (*Gunnaiah és mtsai. 2012*). Növényekben a polifenolok bioszintézisét több tényező is fokozhatja, mint például az erős napfény, az UV-sugárzás, a nitrogén- vagy vízhiány, és a hőmérséklet változása (*Agati és mtsai., 2012, Fini és mtsai., 2011*). Feladatuk a többi másodlagos anyagcseretermékhez hasonlóan a ROS-ok keletkezésének megelőzése, illetve a keletkezett ROS-ok semlegesítése (*Agati és Tattini 2010*). A polifenolok nem csak az UV-, hanem a rövid hullámhosszúságú fotoszintetikusan aktív sugárzás szűrőjeként is működhetnek, pl.: antocianinok (*Tattini és mtsai. 2007*).

A növények flavonoid tartalma elősegíti a károsító UV-sugárzás elleni védelmet. Képesek a membránokban található foszfolipidekkel kölcsönhatásba lépve megóvni a kloroplasztiszok burkolómembránjait a fotooxidációtól (*Erlejman és mtsai., 2004*). UV-B sugárzásra válaszul a levelek felső epidermális sejtjeiben flavonoidok fognak felhalmozódni (*Landry, Chappel és Last 1995*). A flavonoidok a növényi sejt falban, vakuólumokban, mezofil sejtekben (*Agati és mtsai. 2009*), a kloroplasztiszban (*Agati és mtsai. 2007*) és a mirigyes, illetve nem mirigyes trichómákban is megtalálhatóak (*Tattini és mtsai. 2007*). Az epidermális sejtekben felhalmozódott flavonoidok képesek megakadályozni a nagy energiájú UV-sugárzás behatolását a mélyebb szövetekbe, ellenben a PAR eléri a növények fotoszintetikus apparátusát (*Hectors és mtsai. 2014*). A sejten belüli lokalizációjuk a ROS-ok termelődési helyein kiemeli fontos antioxidáns kapacitásukat. Például a B-gyűrűs flavonoidok csoportjába tartozó kvercetin a sejtmagban is előfordul, ami arra utal, hogy szerepet játszhat a DNS oxidatív károsodástól való védelmében (*Feucht, Dithmar és Polster 2004*).

Antocianinok a flavonoid fotopigmentek egyik típusa, melyek vízben jól oldódnak, illetve számos virág és gyümölcs piros, lila és kék színét adják. Az antocianinok termelése stresszhelyzetben (*Li és mtsai. 1993*), vagy kórokozókkal való fertőzés esetén megindul (*Lorenc-Kukula és mtsai. 2005*), ami által védelmet nyújthat a növényeknek az oxidatív károsodással szemben. Az antociánok a növények fotoszintetikus szöveteit képesek megvédeni az által, hogy elnyelik a látható tartományban lévő fényt, így csökkentve a növényeket érő oxidatív stresszt, illetve antioxidáns funkciójuk is kiemelkedő (*Zhang, Butelli és Martin 2014*). A leggyakrabban előforduló aglikon formái az antocianidinek: cianidin, delfinidin, peonidin, petunidin, malvidin és a pelargonidin. Alacsony pH-n mindegyikük bázikus flavylium-kationos szerkezettel rendelkezik, abban különböznek egymástól, hogy a B-gyűrűben különböző szubsztituensek vannak (*Kähkönen és Heinonen 2003*). Az antociánok teljesen konjugált szerkezete, amely lehetővé teszi az elektronok delokalizációját, stabil gyöktermékeket

eredményez, ami kedvező az antioxidáns képességüket tekintve (*Van Acker és mtsai. 1996*). Stabilitásukat, reaktivitásukat és ez által antioxidáns hatásukat is a hidroxilálás és metoxilálás mértéke és annak a B-gyűrűben való helyzete befolyásolja (*Pereira, Donate és Galembeck 1997*). A munka során használt modellnövényben, a dohányban (*Nicotiana tabacum* L.) a domináns polifenolok a klorogénsav, a kvercetin rutinozid és a kávéssav, és kisebb mennyiségben előfordulhat bennük ferulasav vagy kvercetin glükuronid is (*Wang és mtsai. 2008, Rácz és mtsai. 2020*).

A $O_2^{\cdot-}$ semlegesítését az aktív centrumban fém kofaktort tartalmazó szuperoxid-dizmutázok (SOD) végzik (*Cheng és mtsai. 2015*). A $O_2^{\cdot-}$ molekuláris oxigénné történő átalakulását katalizálják, a folyamat során melléktermékként H_2O_2 keletkezik. A SOD-oknak háromféle izoformáját különíthetjük el attól függően, hogy milyen fémet tartalmaz az aktív centrumban. A mangán központú formája (MnSOD) a mitokondriumban és a peroxiszómában, Cu/ZnSOD a citoszolban, kloroplasztisban, peroxiszómákban és apoplasztban, a vastartalmú FeSOD pedig a kloroplasztisban van jelen legnagyobb mennyiségben, de előfordulhat az apoplasztban vagy a peroxiszómában is (*Corpas és mtsai. 2006*).

A hármas típusú növényi növényi peroxidázok osztálya (POD) a vakuólumban megjelenő H_2O_2 -ot semlegesíti. Egy jellemzően fenolos szubsztrátot egyelektronos úton oxidálva képesek a H_2O_2 -ot vízzé redukálni (*Zipor és Oren-Shamir 2013*). A peroxidázok képesek gátolni a hipokotil megnyúlást UV-sugárzás esetén, mivel auxin-oxidázként is funkcionálhatnak (*Jansen és mtsai. 2001*).

2 Célkitűzések

A munka során vad típusú dohány (*Nicotiana Tabacum* L. cv. Wisconsin38) modellnövényvel dolgoztunk, célunk a különböző természetes UV-kitettség során kialakuló alkalmazkodási válaszok összehasonlító vizsgálata volt. A kutatás fókuszában a fotoreceptorok által vezérelt pigment-bioszintézis útvonalak vizsgálata, illetve a részben ezekhez kapcsolódó H_2O_2 -antioxidáns mechanizmusok álltak. A következő kérdésekre kerestük a válaszokat:

1. Hogyan szabályozza a két, UV-sugárzást érzékelő fotoreceptor az alkalmazkodási válaszokat?
2. Mely környezeti UV-tartományok befolyásolják a dohánynövények különböző antioxidánsainak aktiválódását?

3. A polifenolok mennyisége/minősége, illetve a peroxidáz (POD) enzimek aktiválódása között fennáll-e valamilyen kapcsolat?
4. Milyen mechanizmusokon keresztül szabályozza a természetes napfény UV komponense a levelek H_2O_2 háztartását?

3 Anyagok és módszerek

3.1 Növénynevelés

A kísérlet során vizsgált modellnövényünk vad típusú dohány (*Nicotiana Tabacum* L. cv. Wisconsin38) volt. A növényeket 15 cm átmérőjű cserepeken, természetes körülmények alatt tartottuk Pécsen (É 46.07, K 18.18) a 2020. július közepén történt vetéstől egészen a mintavétel napjáig (2020. szeptember 11.) ($n = 5$), kizárólag az őket elérő fény ultraibolya komponensét manipuláltuk különböző üvegszűrők használatával (GG395, N-WG324, N-WG316, N-WG295, N-WG280, Schott AG, Mainz, Németország). A kísérlet során a különböző üvegcsempék alatt egy-egy kb. 35 x 35 cm-es kísérleti területet alakítottunk ki. Az üvegcsempéket tartó állványok keleti, déli és nyugati oldalát UV-kizáró fóliával fedtük le, az északi oldalt a megfelelő légmozgás érdekében nyitva hagytuk. A magas hőmérséklet okozta esetleges kiszáradás elkerülése érdekében a cserepeket a földbe ástuk. A kísérleti elrendezést az 1. ábra mutatja be. A munka során használt ötféle üvegszűrőt három csoportra oszthattuk:

- a) Kizárólag a fotoszintetikusan aktív sugárzás (PAR) számára transzparens szűrő:
GG395 – A 395 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú fotonok számára transzparens.
- b) A PAR és az UV-A fotonok számára transzparens szűrők:
N-WG324 – A 324 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú fotonok számára transzparens.
N-WG316 – A 316 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú fotonok számára transzparens.
- c) Mind a PAR, mind a környezeti UV-sugarak (UV-A és UV-B) számára transzparens szűrők:
N-WG295 – A 295 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú fotonok számára transzparens.
N-WG280 – A 280 nm-nél nagyobb hullámhosszúságú fotonok számára transzparens.

Az egyes szűrők alatt a környezeti körülmények megegyeztek, kivéve a szűrők által befolyásolt, a növényekre eső fény mennyiségét és minőségét illeti. A növények mintavétel

idején hat hetesek voltak. Minden növényről a 4. nóduszon lévő, teljesen kifejtett leveleket választottuk ki a mintavételhez.



1. ábra: A kísérlet során használt elrendezés. A dohánynövények szabadföldön egy 4 darab, azonos típusú üvegszűrőből álló platform (35 x 35 cm) alatt nevelkedtek a vetéstől a mintavétel napjáig ($n = 5$). A túlzott kiszáradást megelőzendő, a cserepeket beástuk a földbe és naponta öntöttük.

3.2 A klorofill-fluoreszcencia paraméterek meghatározása

A növények fotokémiai paramétereit az Imaging PAM MAXI (típusú klorofill fluorométerrel Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Németország) határoztuk meg. A mintavételi helyszínen begyűjtött leveleket 30 percig sötétadaptáltuk, majd meghatároztuk a fluoreszcencia hatásfokukat egy telítő fényimpulzus előtt (F_0) és után (F_m). A műszerből kinyert adatok segítségével kiszámolhattuk a növények fotoszintetikus teljesítményének jellemzéséhez szükséges értékeket. Később 40 másodpercenként emelkedő fényintenzitás (110, 280, 610, 800, 1075 és 1250 PAR) mellett újra meghatároztuk a minimális (F') és a maximális (F'_m) fluoreszcencia hozamot. A paraméterek segítségével kiszámoltuk a fényadaptált levelek PSII fotokémiai hatékonyságát $Y(II) = (F'_m - F') / F'_m$ és a nem fotokémiai kioltását $NPQ =$ (Klughammer és Schreiber 2008).

3.3 A levelek CO₂-asszimilációjának meghatározása

A vizsgált növényeink Calvin-ciklusának működését az LI-6800 infravörös gázanalizátor (IRGA, LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, USA) által mért adatok segítségével jellemeztük. Az IRGA előnye, hogy noninvazív mérések kivitelezésére alkalmas. A műszer a levegőben lévő vízgőz és szén-dioxid molekulák abszorpciós karakterisztikáját használja a mérés során: az infravörös transzmisszió csökkenése alapján számolja ki a levél transzmissziós paramétereit. A vizsgált leveleken meghatároztuk a CO₂ asszimiláció mértékét (nettó fotoszintetikus aktivitás, *A*) és a transzspirációt (*E*) (Farquhar és Sharkey 1982) az alábbi képletekkel: CO₂ asszimiláció = légáram * (minta CO₂ – referencia CO₂) / levélfelület, és H₂O transzspiráció = légáram * (minta H₂O – referencia H₂O) / levélfelület. További paraméterek segítségével meghatároztuk a sztómakonduktanciát (*gsw*) is, illetve ennek az *A/gsw* képlettel megkaptuk az egységnyi sztómafelületre eső CO₂ asszimiláció értékét.

3.4 Pigmenttartalom mérések

A növények klorofill, antocián és flavonoid tartalmát Dualex (ForceA, Orsay, Franciaország) segítségével határoztuk meg. A műszer egy non-destruktív mérési módszert alkalmaz, ami azt jelenti, hogy a mérés során nem roncsolja a leveleket, illetve egy levél akár többször is mérhető.

A levelek felületére a klorofill tartalom méréséhez a fényforrásból 710 és 850 (referencia fény) nm hullámhosszúságú fény érkezik. A vörös tartományban található 710 nm-es fényt a klorofilok elnyelik, ellentétben a 850 nm-essel, amit nem. Minél több a levélben a klorofill annál nagyobb abszorbanciát, illetve annál kisebb transzmittanciát tapasztalunk 710 nm-en. A levelek klorofill tartalmáról a két hullámhossz közötti abszorbancia különbség ad információt.

A klorofill méréshez hasonlóan a flavonoid tartalom mérés is két hullámhosszon történik, 375 és 650 nm-en. Itt a 375 nm-es fény jelentős részét nyelik el a flavonoidok, míg a 650 nm-es fényt nem. A klorofillt viszont mindkét hullámhossz gerjeszti, fluoreszcenciát vált ki. A két fény hatására bekövetkező fluoreszcencia változásban lévő különbség egyenesen arányos lesz a levél flavonoid tartalmával. Minél nagyobb a levél flavonoid koncentrációja, annál kevesebb lesz a 375 nm-re vonatkoztatott klorofill fluoreszcencia.

Az antociánok mérése a flavonoidokéhoz hasonlóan zajlik. A 650 nm-es referenciafény mellett az antociánok abszorbancia maximumát használja a műszer: 520 nm (Cerovic és mtsai. 2012).

A későbbi vizsgálatokig a leveleket cseppfolyós nitrogénben fagyasztottuk, majd -60 °C-on tároltuk.

3.5 Antioxidáns enzimaktivitások meghatározása

Az antioxidáns enzimaktivitás mérésekhez a növények leveleiből kivonatokat készítettünk. A leveleket cseppfolyós nitrogénben porítottuk, majd 1 mM EDTA-t tartalmazó 50 mM Na-foszfát puffert (pH 7.2) adtunk hozzá, 4°C-on 30 percig (24 400 x g) centrifugáltuk. A minták fehérjetartalmát Bradford (1976) módszere alapján határoztuk meg.

A szuperoxid-dizmutáz (SOD) enzim aktivitását Multiskan FC plate reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) segítségével határoztuk meg. Az általunk használt módszer alapján riboflavint (B₂-vitamin) és nitro blue tetrazoliumot (NBT) alkalmaztunk. Mivel a riboflavin egy rendkívül fényérzékeny vegyület, ezért 1 percen keresztül LED Light Source SL 3500 panellal (Photon System Instruments, Drásov, Cseh-Köztársaság) világítottuk meg. A folyamat során keletkező szuperoxidgyök-anionok az NBT-t formazánná oxidálják. Ezen oxidáció okozta abszorpcióváltozást pedig 540 nm-en mértük. A kísérlet során alkalmazott K-foszfát pufferhez (50 mM, pH 7.5) 0,3 mM EDTA-t, 0,5 mM NBT-t és 1,33 mM riboflavint adtunk hozzá. A levélminták SOD aktivitását protein-egységekben (unit, U) adtuk meg (*Cheng és mtsai. 2015*).

A hármas típusú peroxidáz enzimes család (POD) aktivitásának meghatározását Shimadzu UV-1800 spektrofotométerrel (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japán) végeztük. A reakcióelegy 2,06 mM gvajakolt, illetve 400 µM H₂O₂-ot (foszfát-citrát 50 mM, pH 5.0 pufferben oldva) tartalmazott, a reakciót a növényi minta hozzáadása indította be. A gvajakol egy POD szubsztrát, melyet az enzim képes oxidálni, miközben a H₂O₂-ot semlegesíti. A gvajakol oxidációja által detektálható abszorpció emelkedést 450 nm-en követtük nyomon 90 másodpercen keresztül. A minták POD aktivitását protein-egységekben adtuk meg (*Fielding és Hall 1978*).

3.6 A levelek hidroxilgyök semlegesítő képességének meghatározása

A mintáink hidroxilgyök semlegesítő képességének mérése azon alapul, hogy a minta antioxidáns tartalma képes meggátolni a tereftálsav (TPA) •OH-kel való reakciójából származó hidroxitereftálsav (HTPA) kialakulását. A HTPA fluoreszcencia intenzitását Hitachi F-7000 spektrofluoriméterrel határoztuk meg (Hitachi High-Technologies, Tokió, Japán), 312 nm-es fénnel történő gerjesztés során az emissziót 413 nm-en detektáltuk. A méréshez, Na-foszfát pufferben (50 mM, pH 7.2) oldottunk 500 µM TPA-t, 10 µM EDTA-t, 10 µM vas(II)-szulfátot

(Fe(II)SO₄), 100 µM aszkorbátot és 100 µM H₂O₂-ot. Kalibrálószernek 0,5%-os etanolt használtunk. A minták [•]OH antioxidáns kapacitását pedig mM etanol ekvivalens g⁻¹ levél frisstömeg egységekben adtuk meg (*Šnyrychová és Hideg 2007*).

3.7 A levél polifenol tartalmának meghatározása folyadékkromatográfiával

A fenolos tulajdonságú vegyületek folyadékkromatográfiás analízise során (HPLC) 30 mg száraz anyaghoz adtunk 400 µL MeOH (70%) oldatot majd ultrahangos vízfürdőt használva 30 percig szonikáltuk. Az első extrakciót követően 10 perc (12 100 x g) centrifugálás következett melynek végeztével a felülúszót egy új mintatartóban összegyűjtöttük. A csapadék frakciók további második és harmadik extrakcióját 300 µL MeOH (70%) oldattal végeztük el, majd az összegyűjtött felülúszót 0,2 µm PTFE filteren átszűrtük.

A vizsgált vegyületek HPLC analízise egy Shimadzu LC-20 rendszer segítségével történt, C18 oszlopot (Kinetex 2,6 µm XB-C18 100 x 4,6 mm) használva 0,9 mL/perc áramlási sebesség mellett 50 °C-on. A szétválasztáshoz két oldószert (A – 99,5% H₂O és 0,5% HCOOH, B – 99,5% MeOH és 0,5% HCOOH) és az alábbi grádienszt alkalmaztuk. Eluens B százalékos összetételének változása a mérés folyamán, 0-2 perc 0%, 2-6 perc 10%, 6-30 perc %, 30-35 perc 80%, 35-37 perc 100%, 37-39 perc 100%, 39-43 perc 0%perc és 43-45 perc 0%. A diódasoros detektor pásztázó hullámhosszai 320 és 345 nm hullámhosszúságra voltak beállítva.

3.8 Statisztika

A mérések során kapott értékeinket az MS Office Excel szoftverben gyűjtöttük össze, majd a PAST szoftver segítségével végeztük el a statisztikai kiértékeléseket (*Hammer és mtsai. 2001*) egyutas ANOVA statisztikai próbát alkalmazva, Dunn's post hoc tesztel. A különbségeket p < 0,05 esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A mintaelemszám minden esetben n = 5 volt. A dolgozat ábráit MS Office Excel programban készítettem el.

4 Eredmények és megvitatásuk

4.1 A levelek fotoszintetikus hatásfoka

A növények UV-sugárzásra adott válasza függ a dózistól, hullámhosszúságtól és a külső környezeti körülményektől (pl. időjárás, évszakok) (*Verdaguer és mtsai., 2017*). Az UV-A a levelekben sokkal mélyebbre képes hatolni, mint az UV-B-sugárzás, mivel a hullámhossz növekedésével az UV-penetráció is növekszik a levélszövetekben (*Bornman és Vogelmann 1988*). Az UV-A-sugárzást a növények fotoszintetikus teljesítményére káros hatással bíró komponensnek tekintik, legfőképpen a kettős fotokémiai rendszert (PSII) veszi célba

(Verdaguer és mtsai. 2017). Annak ellenére, hogy az UV-A által közvetített fotoinhibitorok káros hatásai alacsonyabbak, mint amit az UV-B okoz, mégis azt feltételezik, hogy az UV-A lehet a fotoszintetikus reakciók legnagyobb károsítója, mivel a napsugárzás sokkal több UV-A-t tartalmaz, mint UV-B-t (Takahashi és mtsai. 2010). Ellenben bizonyos környezeti körülmények között az UV-A-sugárzás növelheti a növények fotoszintetikus aktivitását (Štroch és mtsai. 2015).

A fényadaptált levelek PSII kvantumhatásfoka (Y(II)) minden fényintenzitás mellett, üvegszűrőtől függetlenül azonos volt. Ez arra utal, hogy a fotoszintetikus elektrontranszport nem károsodott a kísérlet során, azaz sem a kifejezetten magas intenzitású nyári napfény (kb. 2600 - 3000 PAR) sem a környezeti ultraibolya-sugárzás nem okozott fotoinhibíciót a levelekben.

1. táblázat: A fényadaptált levelek PSII kvantumhatásfoka (Y(II)) emelkedő fényintenzitás függvényében. A szűrők által befolyásolt beeső fény mennyiségekből adódó különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, melyeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. Az egyes csoportok között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget.

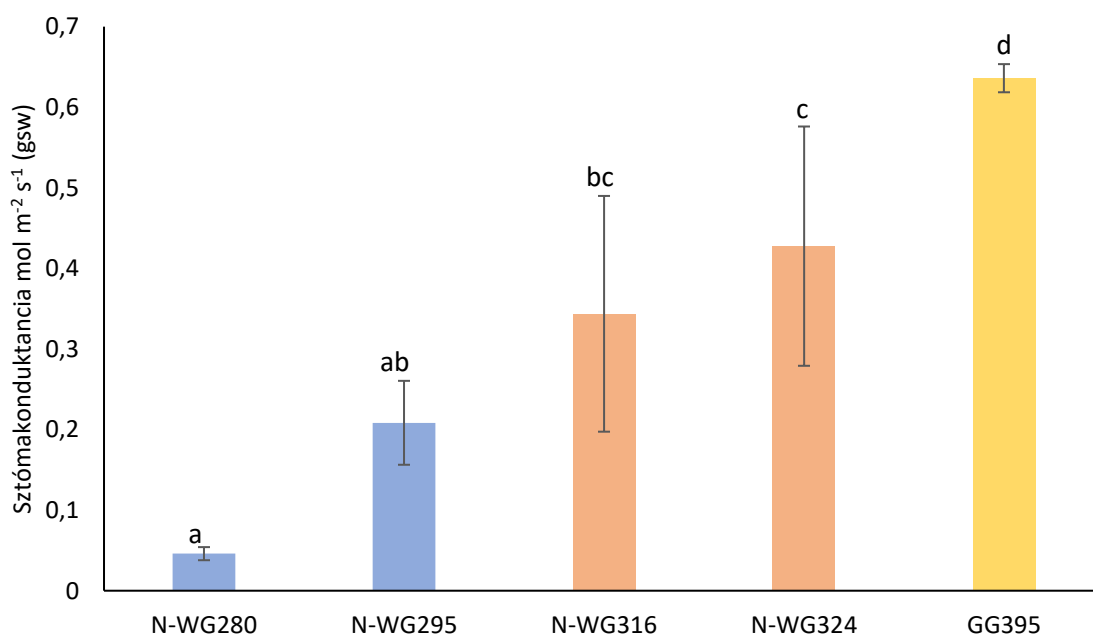
Fényadaptált levelek PSII kvantumhatásfoka (Y(II))					
PAR ($\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	N-WG280	N-WG295	N-WG316	N-WG324	GG395
110	0,655 $\pm$ 0,099	0,687 $\pm$ 0,068	0,667 $\pm$ 0,037	0,713 $\pm$ 0,016	0,668 $\pm$ 0,061
280	0,519 $\pm$ 0,099	0,551 $\pm$ 0,078	0,536 $\pm$ 0,05	0,575 $\pm$ 0,031	0,534 $\pm$ 0,07
610	0,466 $\pm$ 0,083	0,485 $\pm$ 0,076	0,468 $\pm$ 0,03	0,500 $\pm$ 0,025	0,455 $\pm$ 0,06
800	0,448 $\pm$ 0,079	0,467 $\pm$ 0,073	0,446 $\pm$ 0,025	0,481 $\pm$ 0,03	0,420 $\pm$ 0,059
1075	0,428 $\pm$ 0,075	0,443 $\pm$ 0,072	0,417 $\pm$ 0,024	0,442 $\pm$ 0,02	0,402 $\pm$ 0,052
1250	0,411 $\pm$ 0,073	0,425 $\pm$ 0,072	0,395 $\pm$ 0,027	0,413 $\pm$ 0,013	0,381 $\pm$ 0,047

Az eltérő fényviszonyok alatt tapasztalt azonos Y(II) azonos energiadiSSIPáló utakkal járt együtt (NPQ) (2. táblázat), amely arra utalhat, hogy a környezeti ultraibolya-sugárzás xantofill ciklus elemeinek eloszlására és mennyiségére, vagy a PSII antennakomplex szerkezetére gyakorolt hatása ilyen intenzitású fotoszintetikusán aktív fény mellett elhanyagolható.

2. táblázat: A fényadaptált levelek nem fotokémiai kioltása (NPQ) emelkedő fényintenzitás függvényében. A szűrők által befolyásolt beeső fény mennyiségekből adódó különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, melyeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak. A szignifikáns különbségeket *-al jelöltem.

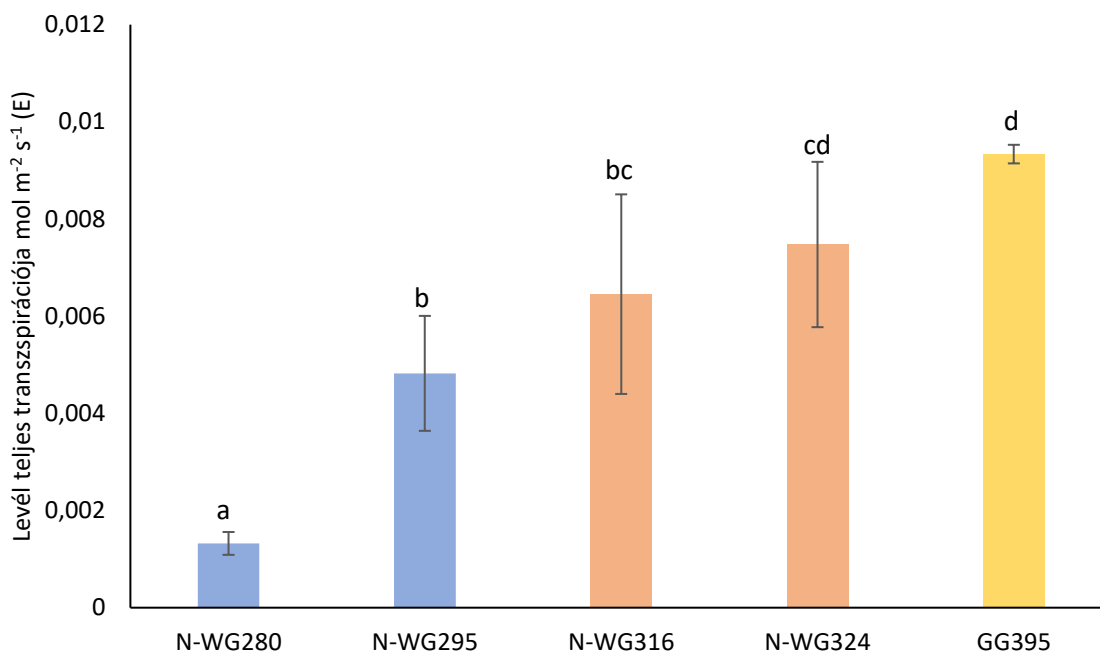
Nem fotokémiai kioltás (NPQ)					
PAR ($\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	N-WG280	N-WG295	N-WG316	N-WG324	GG395
110	$1,067 \pm 0,482$	$0,922 \pm 0,405$	$0,996 \pm 0,290$	$0,896 \pm 0,153$	$0,831 \pm 0,164$
280	$2,691 \pm 0,728$	$2,473 \pm 0,701$	$2,485 \pm 0,624$	$2,493 \pm 0,48$	$2,260 \pm 0,401$
610	$3,590 \pm 0,810$	$3,533 \pm 0,839$	$3,556 \pm 0,432$	$3,726 \pm 0,503$	$3,477 \pm 0,383$
800	$3,934 \pm 0,946$	$3,862 \pm 0,847$	$3,954 \pm 0,326$	$4,067 \pm 0,671$	$3,852 \pm 0,428$
1075	$4,390 \pm 1,138$	$4,363 \pm 0,936$	$4,578 \pm 0,303$	$4,949 \pm 0,505$	$4,568 \pm 0,497$
1250	$4,797 \pm 1,333^*$	$4,801 \pm 1,048$	$5,123 \pm 0,49$	$5,703 \pm 0,38^*$	$5,065 \pm 0,617$

A gázcsereenyílások (sztómák) konduktanciája (gsw) a növények szén- és vízháztartásának szabályozója, mivel ez szabályozza a levelek CO_2 -asszimilációját (nettó fotoszintetikus aktivitás, A) és vízvesztését (transzspirációs ráta, E) is (Farquhar és Sharkey 1982). Infravörös gázanalizátorral (IRGA) végzett méréseink során mindhárom paraméter az UV-B sugárzásnak is kitett levelekben volt a legalacsonyabb, és az ultraibolya-dózisok csökkenésével egyenesen arányosan detektáltunk egyre magasabb értékeket (jellemzően 2-8x magasabb értékeket az UV-dózis függvényében) (2-4. ábra).

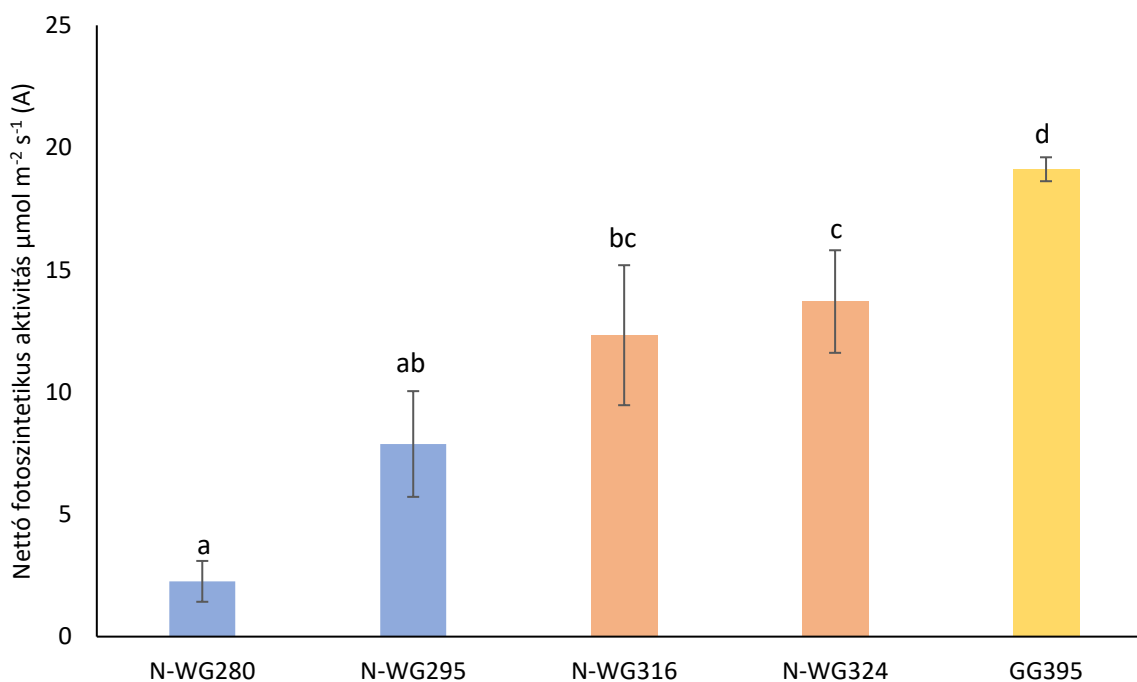


2. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása a levelek sztómakonduktancia (gsw) értékeire. Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparensnek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1

fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem.



3. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása a levelek teljes transzspirációjára (E). Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparenssek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1 fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem



4. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása a levelek nettó fotoszintetikus aktivitás (A) értékeire. Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparenssek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1

fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem.

Ez a jelenség a rövid hullámhosszúságú ultraibolya-fotonok sztómazáródást indukáló hatásának tulajdonítható (Cooley, Holmes, és Attridge 2000). Az UV-fotonok számának növekedésével a levélmorfológia is megváltozik, az UV-sugárzásnak tulajdonítható levélméret-csökkenést (Jansen, Gaba, és Greenberg 1998) a kísérlet során mi is tapasztaltuk. A csökkent levélméret kevesebb sztómát, így alacsonyabb nettó fotoszintetikus hatásfokot feltételez, ezért kiszámoltuk az egységnyi sztómafelületre eső CO_2 asszimiláció (A/gsw) mértékét a levelekben (3. táblázat). Az így kapott eredmények azt mutatják, hogy az UV-B jelenlétében fejlődött levelek fotoszintetikus hatásfoka a Calvin-ciklus során is legalább annyira magas, mint az UV-B kizáró üvegek alatt lévő leveleké.

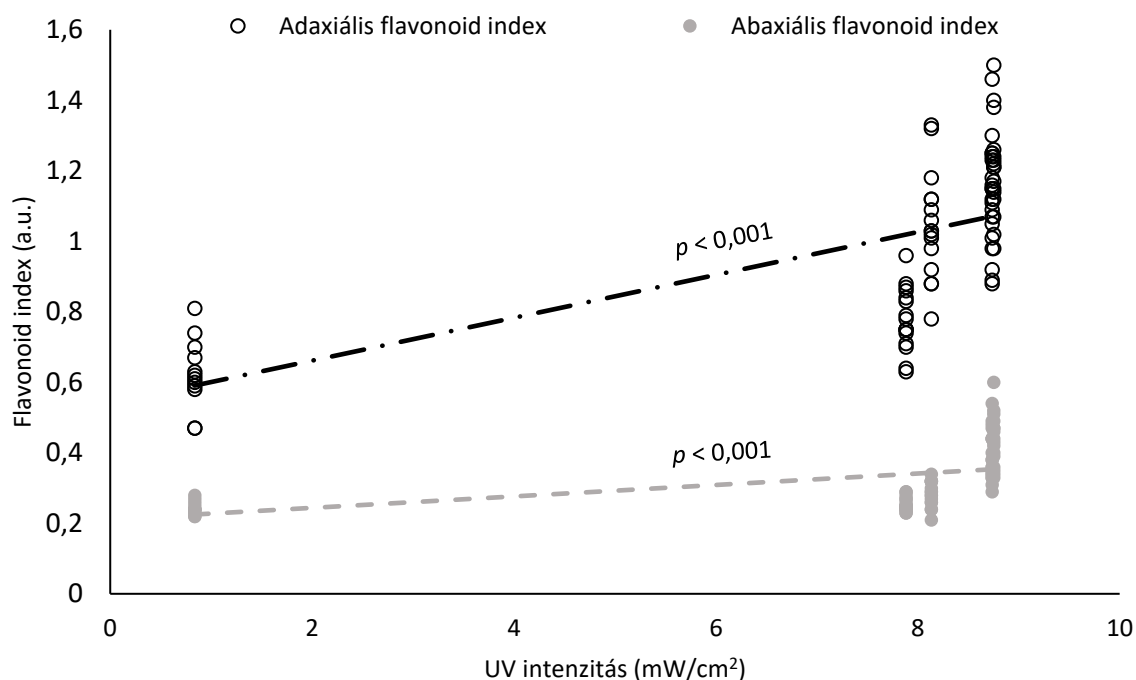
3. táblázat: Az egységnyi sztómafelületre eső CO_2 asszimiláció értékei.

Egységnyi sztómafelületre eső CO_2 asszimiláció (A/gsw)	
N-WG280	49,1
N-WG295	37,8
N-WG316	35,9
N-WG324	32
GG395	30,1

A levelek egységnyi sztómafelületre eső CO_2 asszimiláció értéke azt mutatja, hogy az UV-B-sugárzást is kapott levelek szignifikánsan jobban teljesítettek azoknál a leveleknél, melyek nem kaptak UV-B-sugárzást. Ez azt igazolja, hogy az a csoport, ami mind a három minőségű fény jelenlétében fejlődött, nem károsodott.

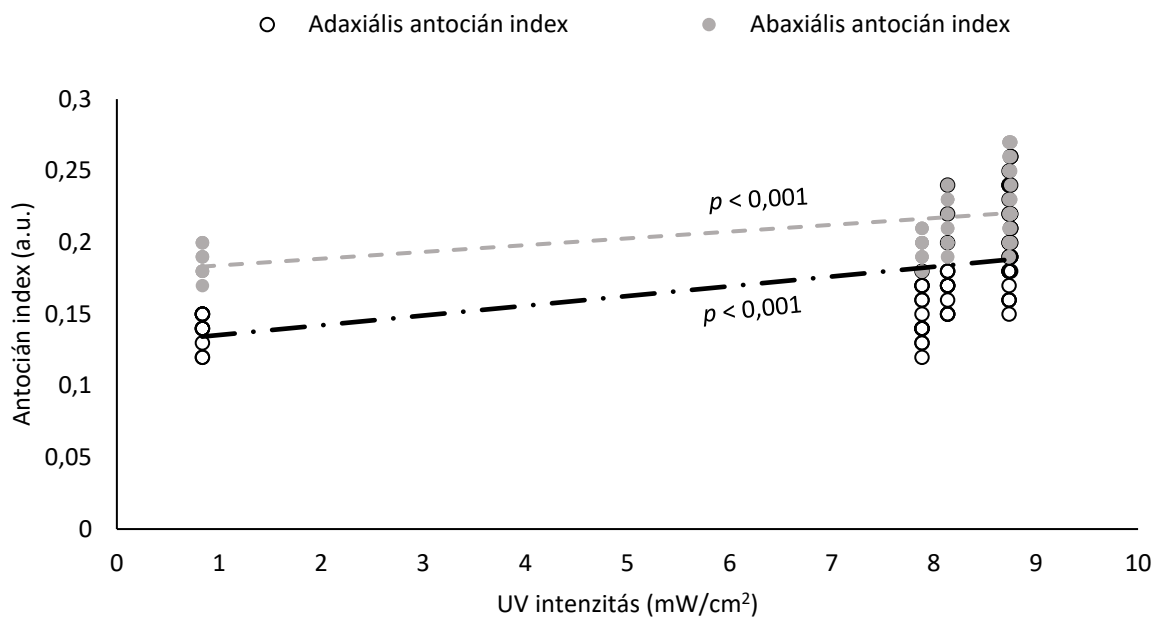
4.2 Pigmenttartalom

A növényi polifenolok szerepének egy része a káros UV-sugárzás, illetve a kártevők és kórokozók elleni kémiai védelemmel kapcsolatos. A fenolos vegyületek két jelentős, UV-sugárzás hatására felhalmozódó csoportja a flavonoidok és az antocianinok (Julkunen-Tiitto és mtsai. 2015; Wang és mtsai. 2012). Ezek koncentrációját non-invazív módon, Dualex készülékkel vizsgáltuk meg. Az eredményeink azt mutatják, hogy mind az antocianinok, mind a flavonoidok mennyisége megemelkedik UV-sugárzás hatására a levelek mindkét felszínén. Habár a flavonoid index a PAR + UV-A környezetben is magasabb volt, mint az UV-t kizáró üveg alatt fejlődött levelekben (25, illetve 68%-kal), ezek az értékek UV-B jelenlétében csaknem a duplájára emelkedtek (80, illetve 93%-os növekedés) (5. és 6. ábra).



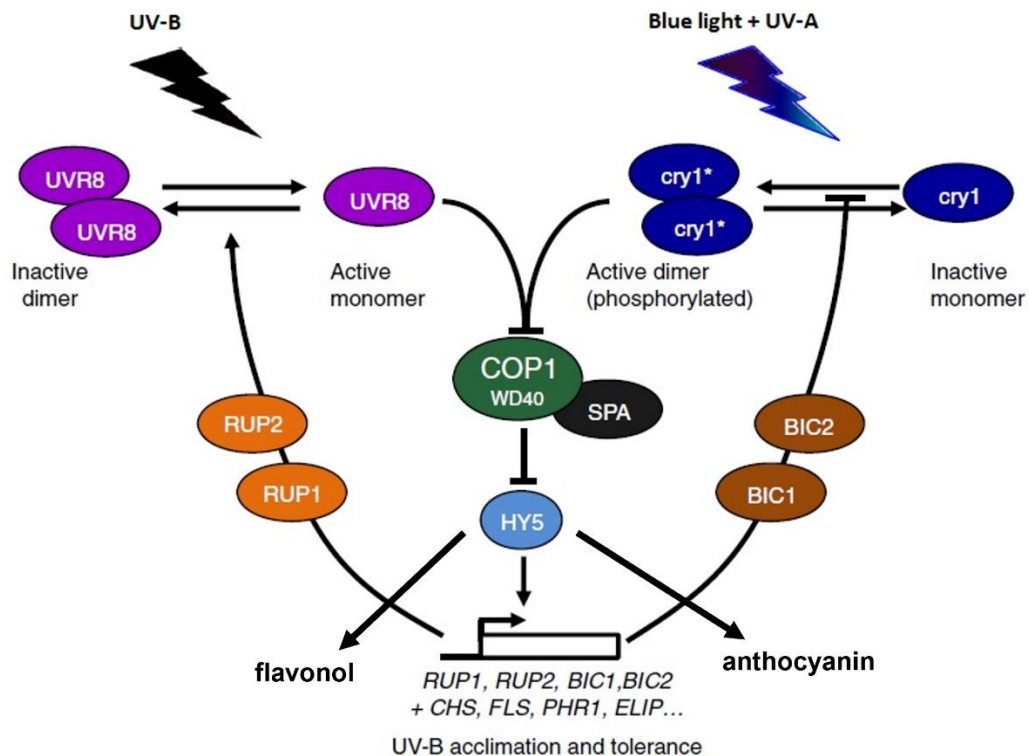
5. ábra: A levelek flavonoid indexe növekvő UV-intenzitás függvényében. Fekete színnel jelöltem az adaxiális flavonoid indexet, szürkével pedig az abaxiális flavonoid indexet. A szürke pontok az adott fényintenzitáshoz tartozó abaxiális flavonoid értékeket, a fekete körök pedig az adott fényintenzitáshoz tartozó adaxiális flavonoid indexet jelölik. A szürke szaggatott vonal, illetve a fekete hosszú vonal és pont, az értékekre felvett trendvonalat jelzi. A p értéket mindkét esetben lineáris regresszió analízissel határoztam meg.

Érdemes megemlíteni, hogy míg a flavonoidok mennyisége az adaxiális, az antocianinok koncentrációja az abaxiális levélfelületen volt magasabb. Ennek oka valószínűleg a kissé eltérő funkciójukból ered: a flavonoidok hatékonyabb UV-szűrő molekulák, míg az antocianinok eredményesebb antioxidánsok (Csepregi és Hideg 2018). Az eredményeink alapján levelek antocianin koncentrációja kevésbé függ az UV-B sugárzástól, akumulációjuk inkább a rövidebb hullámhosszú UV-A sugárzás (< 324 nm) szabályozása alá esik (6. ábra).



6. ábra: A levelek antocianin indexe növekvő UV-intenzitás függvényében. A szürke pontok az adott fényintenzitáshoz tartozó abaxiális antocián értékeket, a fekete körök pedig az adott fényintenzitáshoz tartozó adaxiális antocián indexet jelölik. A szürke szaggatott vonal, illetve a fekete hosszú vonal és pont, az értékekre felvett trendvonalat jelzi. A p értéket mindkét esetben lineáris regresszió analízissel határoztam meg.

Úgy tűnik, hogy annak ellenére, hogy a két rokon vegyületcsoport egy bioszintézis útvonal két állomását jelenti, mégis két külön UV-tartomány, így minden bizonnyal két külön fotoreceptor szabályozása alatt áll. Az UV-B sugárzás az UVR8 receptoron keresztül döntően befolyásolja a levelek flavonoid tartalmát, míg az antocianinok inkább tűnnek kriptokróm (CRY1) vezérelt pigmenteknek (7. ábra Tissot 2020 alapján).



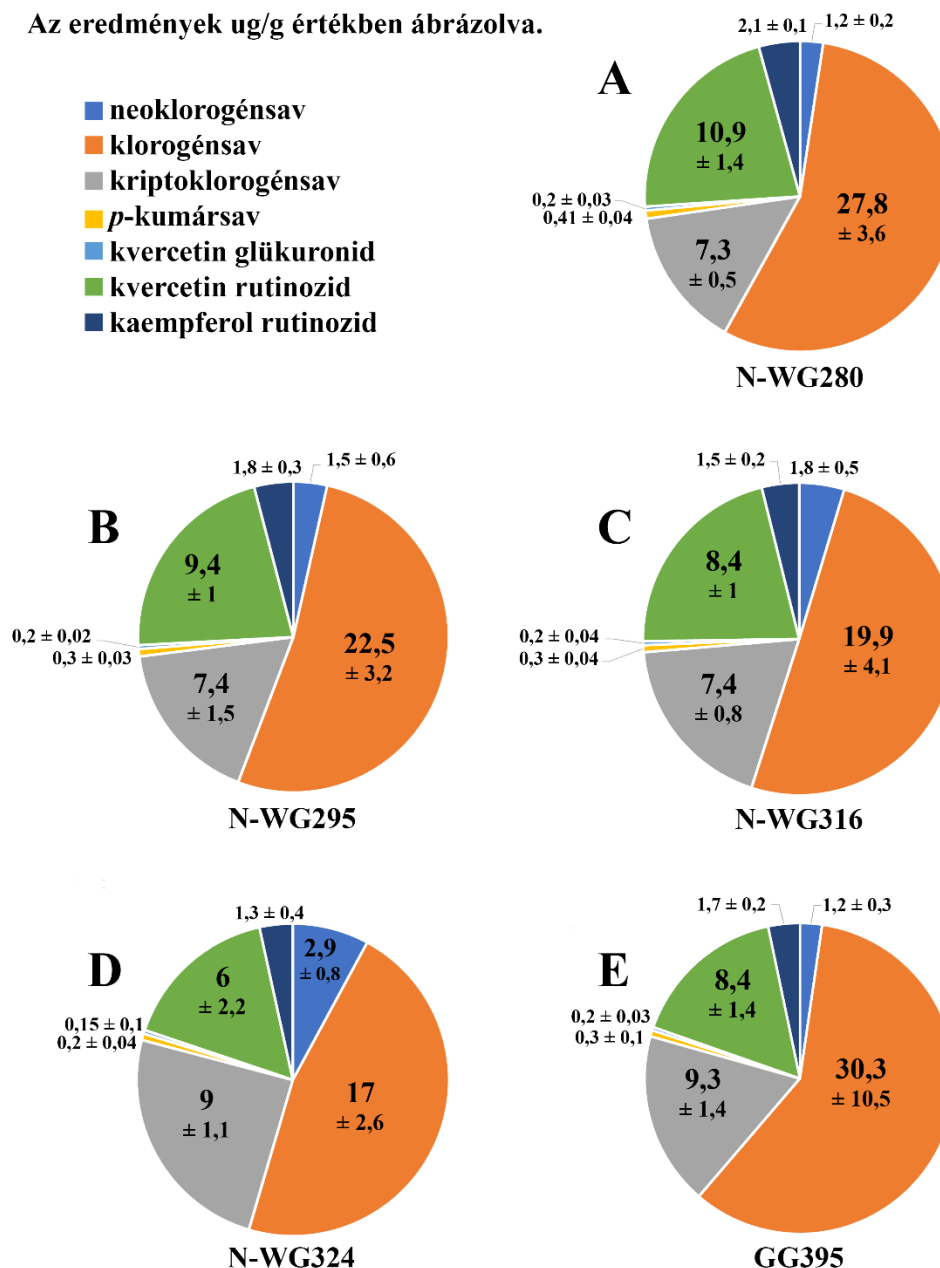
7. ábra: Az UVR8 és a kriptokróm fotoreceptorokhoz kapcsolódó jelátviteli folyamatok. A fény által aktivált UVR8 és cry1 a COP1-SPA E3 ubikvitin ligáz komplex gátlásához vezet, amely ubikvitináció és proteasomális degradáció révén felszabadítja a HY5-öt a represszió alól. A HY5 olyan gének kifejeződését indukálja, amelyek az UV-B-sugárzáshoz való akklimatizációval és toleranciával kapcsolatosak (pl. fényvédő metabolitok bioszintézise, DNS javítás). A HY5 továbbá különböző szabályozó szerepet betöltő fehérjéket kódoló géneket is indukál, melyek egyidejűleg biztosítják az UVR8 és kriptokróm fotoreceptorok aktivitásának visszacsatolt szabályozását. A BIC1 és BIC2 feltehetően a cry1 homodimerizációját blokkolja, míg a RUP1 és RUP2 az UVR8 újra dimerizációját segíti elő (azonban az UVR8 monomerizációjának blokkolása nem zárható ki) (Tissot és Ulm 2020).

A szakirodalomban korábban leírt adatok alapján HPLC készülékkel megvizsgáltuk a dohány fő fenolos komponenseit. A folyadékkromatográfiás vizsgálat előnye a Dualex-szel történő becsléshez képest, hogy kvantitatív, illetve nem csak jellemzően az epidermiszben felhalmozódó vegyületeket képes detektálni. Emellett lehetőségünk nyílt a Dualex által figyelmen kívül hagyott, azonban a növényi UV-válaszok során rendkívül fontos szerepet betöltő (Rácz és mtsai. 2020) fenolos savak azonosítására is.

A HPLC eredményeink azt mutatják, hogy a vizsgált fenolos vegyületek közül a klorogénsav a domináns levélkomponens (50% körüli érték minden fényviszony alatt) (8. ábra). A klorogénsav mellett annak egy származéka, a kriptoklorogénsav és a kvercetin rutinozid fordult még elő a levelekben nagyobb mennyiségben (6-10 µg/g). A növekvő UV-dózis függvényében emelkedett a klorogénsav, a kaempferol- és a kvercetin rutinozid, illetve

csökkent a kriptó- illetve neoklorogénsav koncentrációja a levelekben, a rokonvegyületek egymásba történő átalakulásai is valószínűsíthetően UVR8-szabályozás alá esnek.

Az eredmények $\mu\text{g/g}$ értékben ábrázolva.

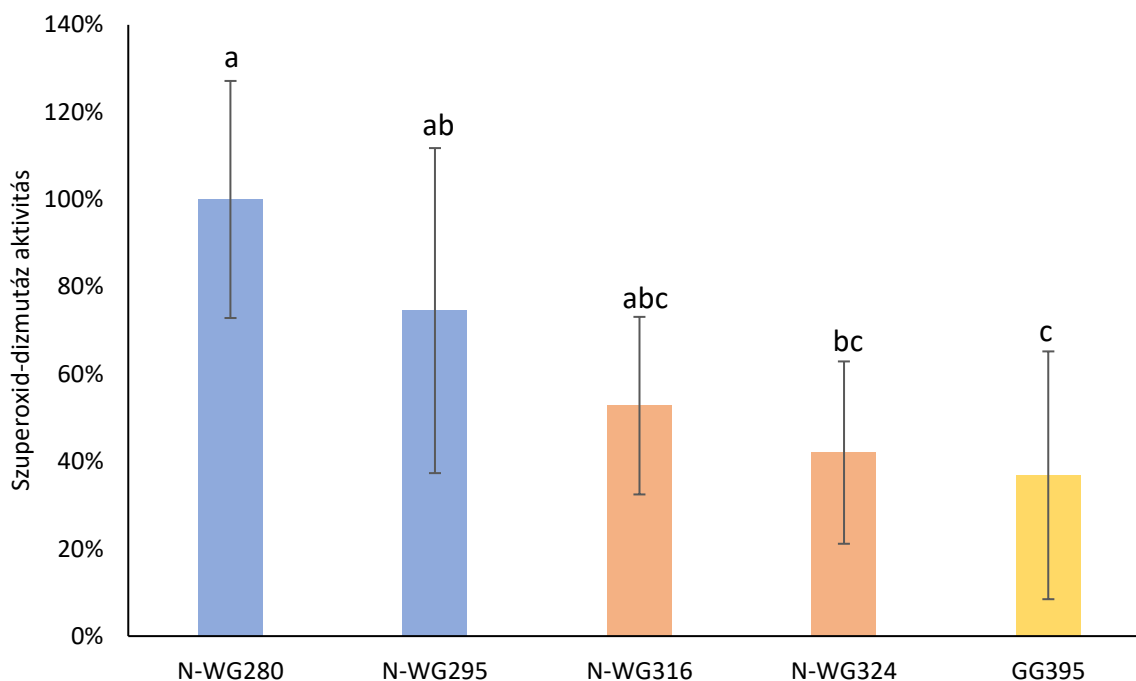


8. ábra: A levelek fenolosvegyület-tartalma. Az ábrán az egyes üvegszűrők (A, N-WG280; B, N-WG295; C, N-WG316; D, N-WG320 és E, GG395) alatt fejlődött levelek jellemző fenoljainak mennyisége látható μg fenolos vegyület/g levéltömegben meghatározva. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek.

4.3 A levelek antioxidáns képessége

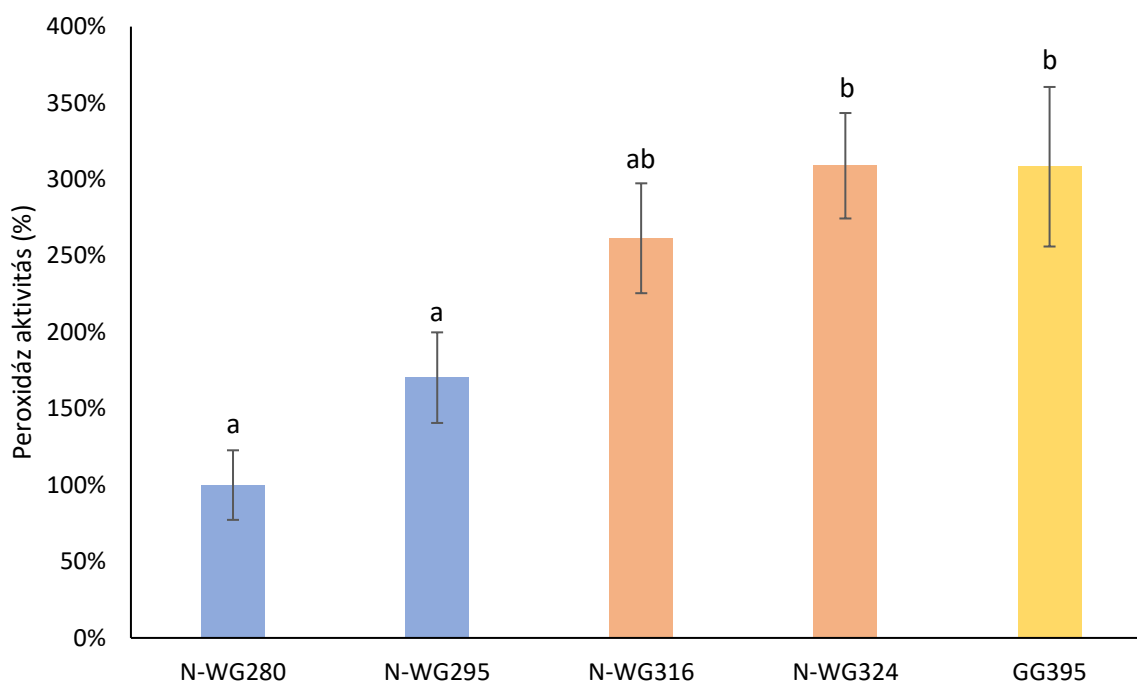
A növények szuperoxid dizmutáz (SOD) aktivitása az UV-dózisok emelkedésével egyenesen arányosan nőtt, a csak PAR alatt fejlődött levelekben (GG395 szűrő) detektált aktivitás a napfény teljes spektrumának kitett levelek (N-WG280 szűrő) értékének 37%-a volt

(9. ábra). Az eredmények alapján elmondható, hogy a természetes UV-B-kitettség fokozta a $O_2^{\cdot -}$ keletkezést a levelekben, ami a SOD enzim működéséből és detektált aktiválódásából adódóan fokozott H_2O_2 keletkezéssel járt együtt az UV-B transzparens szűrők alatt fejlődött növények esetében.



9. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása SOD-aktivitásra. Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparensnek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1 fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. 100%-nak az N-WG280-as típusú szűrő alatt fejlődött növényeket tekintettük, mivel UV-B, UV-A és PAR sugárzást is kaptak. A 100% értéke: 0,8148 U SOD/ μ g protein. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem.

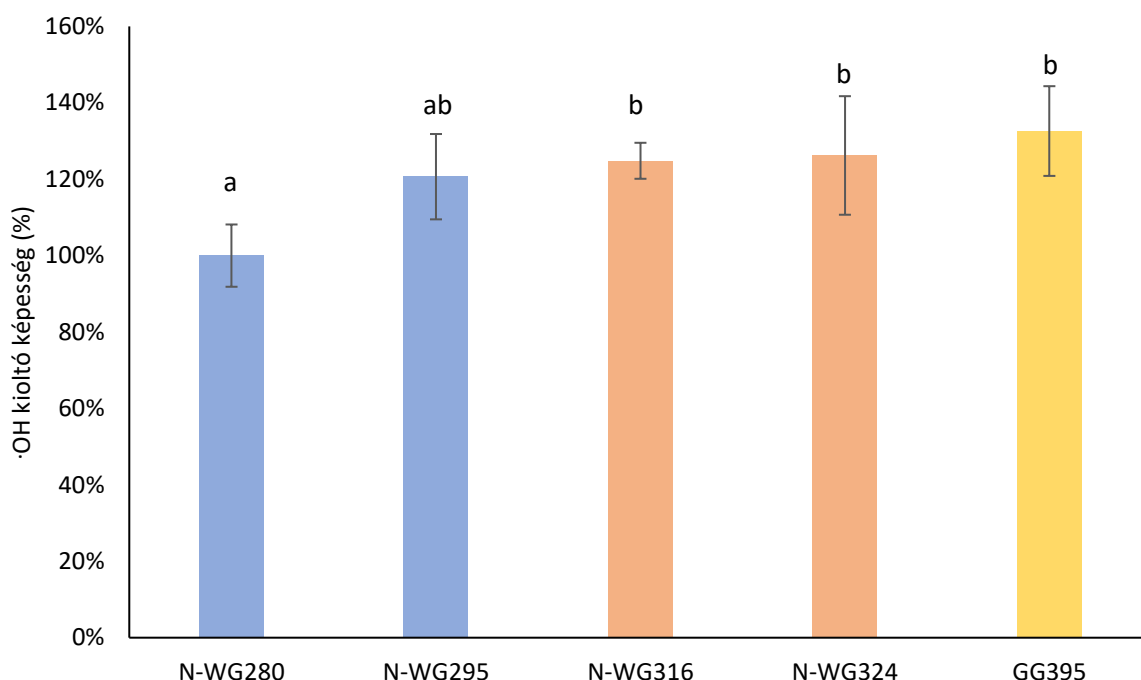
A hármas típusú növényi peroxidázok (POD) aktivitása a SOD-dal ellentétes trendet mutatott, azaz az UV-dózis emelkedésével egyenesen arányosan csökkent: A GG395 szűrő alatt fejlődött levelekben több, mint háromszor magasabb POD-aktivitást detektáltunk (10. ábra).



10. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása POD-aktivitásra. Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparensnek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1 fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. 100%-nak az N-WG280-as típusú szűrő alatt fejlődött növényeket tekintettük, mivel UV-B, UV-A és PAR sugárzást is kaptak. A 100% értéke: 2,86 U POD/ μ g protein. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem.

A kutatócsoport korábbi, növénynevelő kamrákban végzett kísérletei alapján a POD-ok megfelelő aktiválódása, és így a szöveti H_2O_2 effektív szabályozása UV-kitettség során kiemelkedően fontos (Czégény és mtsai. 2019; Czégény, Máta, és Hideg 2016; Majer és mtsai. 2014). A jelen munkában azonban a növények természetes napsugárzásra adott válaszait vizsgáltuk, ami pedig jelentősen eltérő PAR-UV arányokat jelent, a környezeti UV-sugárzás a vizsgált levelekben nem váltott ki stresszhatást (ld. azonos fotoszintetikus aktivitás minden szűrő alatt). Az UV morfológiát, védelmi utakat vagy sztómamozgást szabályozó hatása azonban erősen H_2O_2 központú (Czégény és Rácz, 2023), így az N-WG280 és N-WG295 szűrők alatt fejlődött levelekben feltételezett magasabb szöveti H_2O_2 koncentráció a jelátviteli utak hatékony működése szempontjából tűnik fontosnak. UV-kitettség során a magasabb szöveti H_2O_2 koncentráció fokozott kockázattal jár együtt, mert az egyéb abiotikus faktorokkal szinergikusan együtthatva (Hideg, Jansen, és Strid 2013), stressz esetén a környezeti UV-B fotonok képesek a H_2O_2 -ot $\cdot OH$ -ké alakítani (Czégény és mtsai. 2014). A levelek hidroxilgyök antioxidáns képessége kizárólag az N-WG280 szűrő alatt fejlődve tért el a többi növényben

detektálhatótól (20-32%-kal) (11. ábra), azonban ez az érték alacsonyabb volt, mint a többi csoport esetében



11. ábra: A természetes UV-sugárzás különböző tartományainak hatása a levelek hidroxilgyökök ($\cdot\text{OH}$) semlegesítő képességére. Az oszlopok színei az üvegszűrők három csoportját jelzik az alapján, hogy az ultraibolya-tartomány mely részei számára transzparenssek. Kék: UV-B + UV-A + PAR, narancs: UV-A + PAR, arany: PAR (ld. 3.1 fejezet). Az x tengelyen az üvegszűrők típusait jelöltem. 100%-nak az N-WG280-as típusú szűrő alatt fejlődött növényeket tekintettük, mivel UV-B, UV-A és PAR sugárzást is kaptak. A 100% értéke: 5,56 mM etanol ekvivalens g^{-1} levél frisstömeg. Az egyes szűrők alatt nevelkedett növények közötti különbségeket egyutas ANOVA-val vizsgáltuk, az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsan különbözőnek. A különbségeket eltérő betűkkel jelöltem.

Ez az eredmény megerősíti azt, hogy a kezelés során a magas átlagos napi középhőmérséklet (kb. 30 °C, weatherspark.com) és a magas fényintenzitás ellenére sem érte a növényeket károsító mértékű stresszhatás.

5 Összefoglalás

Az ultraibolya-sugárzás (UV) a növények számára fontos szabályozó faktor, illetve információ forrása. A kutatócsoport korábbi, növénynevelő kamrákban végzet kísérletek során kapott eredményeire alapozva kijelenthető, hogy a levelek hidrogén-peroxid (H_2O_2) háztartásának hatékony szabályozása döntő mértékben befolyásolja a növények UV-kitettség során kialakuló alkalmazkodási válaszait. A növénynevelő kamrák előnye, hogy bennük

kontrollálhatóak a növénynevelési és kezelési körülmények, hátrányuk azonban, hogy a bennük alkalmazható fotoszintetikusán aktív fény intenzitása jelentősen elmarad a nyári napsugárzásétól, és ezáltal a környezeti körülmények modellezése kamrákban nem lehetséges.

Így annak érdekében, hogy természetben lejátszódó, UV-sugárzás által szabályozott folyamatokat megvizsgálhassuk, a modellnövényeinket a természetes napsugárzás alatt neveltük fel, annak különböző ultraibolya-komponenseit pedig speciális üvegcsempék segítségével szűrtük ki. A dohány modellnövényeink az üvegszűrők alatt fejlődtek a kezelés 6 hetében, így a teljesen kifejlett leveleik vizsgálatával a hosszú távú alkalmazkodási válaszaikat jellemezhetjük.

A klorofill fluoreszcencia paraméterekkel és a sztómavizsgálatokkal a fotoszintetikus folyamatok több szakaszát is jellemezhetjük. A minden szűrő alatt azonos fluoreszcencia paraméterek (PSII hatásfok és nem fotokémiai kioltás) és a korrigált, egységnyi sztómafelületre eső szén-dioxid (CO₂) asszimiláció meghatározása után kijelenthetjük, hogy az intenzív abiotikus hatások (magas hőmérséklet, kevés csapadék, magas fényintenzitás) ellenére a növényeink az őket ért körülményekhez sikeresen alkalmazkodtak és bennük oxidatív károsodásra utaló jeleket nem tapasztaltunk.

Az oxidatív károsítás megelőzése és ezáltal a környezeti viszonyokhoz történő alkalmazkodás sikere a megfelelő antioxidáns válaszok kialakulásán múlik. A munka során megvizsgáltuk több nem enzimátikus antioxidáns és antioxidáns enzim mennyiségének vagy aktivitásának a változását a különböző fényviszonyok között. Két fontos speciális metabolit csoport, a flavonoidok és az antociáninok non-invazív vizsgálata során kimutattuk, hogy annak ellenére, hogy ez a két vegyületcsoport a szintézisüket tekintve meglehetősen közel áll egymáshoz, a koncentrációjuk döntő mértékű szabályozását két külön fénytartomány, így külön fotoreceptor típus végzi. A flavonoidok szabályozásáért inkább az UVR8 protein, a növényi UV-B fotoreceptor tűnik felelősnek, míg az antociáninok mennyisége inkább az UV-A, és így a kriptokróm (CRY1) működésének függvénye. A folyadékromatográfiás vizsgálataink (HPLC) során megmutattuk, hogy a dohánylevelek fő fenolos vegyületei a klorogénsav, a kriptoklorogénsav és a kvercetin rutinozid, amelyek mennyisége a leveleket ért ultraibolya-dózistól függően változik. A levelek hidroxilgyök (•OH) semlegesítő képessége számos nem enzimátikus antioxidáns hozzájárulásával alakul ki. Az UV-B •OH generáló képessége a munka során nem realizálódott, olyannyira, hogy a teljes napsugárzásnak kitett növényekben detektáltuk a legalacsonyabb •OH-antioxidáns kapacitást. Az antioxidáns enzimaktivitás vizsgálatok (szuperoxid-dizmutáz, SOD és fenolos peroxidáz, POD) alapján kijelenthetjük,

hogy a vizsgált dohánylevelekben az emelkedő UV-sugárzás fokozta a szöveti H₂O₂-koncentrációt, ami az UV-sugárzás által vezérelt jelátviteli folyamatok során játszik fontos szerepet.

Köszönetnyilvánítás

Megköszönöm témavezetőmnek, Dr. Czégény Gyulának, hogy önzetlenül segítette munkámat, átadta a témával kapcsolatos tudását, ellátott tanácsaival és kitartóan biztatott.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Hideg Éva tanárnőnek, Dr. Csepregi Kristófnak, Dr. Rác Arnoldnak és Fekete Fanninak a Növénybiológiai Tanszék többi munkatársának, a szakmai segítségnyújtásért.

Hivatkozások

- Van Acker, S. A. B. E., Van Den Berg, D. J., Tromp, M. N. J. L., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J. F és Bast, A. (1996). „Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids”. *Free Radical Biology and Medicine* 20(3):331–42. doi: 10.1016/0891-5849(95)02047-0.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. és Tattini, M. (2012). „Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance”. *Plant Science* 196:67–76. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014.
- Agati, G., Matteini, P., Goti, A. és Tattini, M. (2007). „Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen”. *New Phytologist* 174(1):77–89. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.01986.x.
- Agati, G., Stefano, G., Biricolti, S. és Tattini, M. (2009). „Mesophyll distribution of »antioxidant« flavonoid glycosides in *Ligustrum vulgare* leaves under contrasting sunlight irradiance”. *Annals of Botany* 104(5):853–61. doi: 10.1093/aob/mcp177.
- Agati, G., és Tattini, M. (2010). „Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection”. *New Phytologist* 186(4):786–93. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03269.x.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G. és Sharma, S. (2010). „Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress”. *Critical Reviews in Biotechnology* 30(3):161–75. doi: 10.3109/07388550903524243.
- Amthor, J. S. és Baldocchi, D. D. (2001). „Terrestrial Higher Plant Respiration and Net

- Primary Production". *Terrestrial Global Productivity* 33–59. doi: 10.1016/b978-012505290-0/50004-1.
- Anderson, J. M. (1992). „Cytochrome b6f complex: Dynamic molecular organization, function and acclimation". *Photosynthesis Research* 34(3):341–57. doi: 10.1007/BF00029810.
- Ballottari, M., Dall'Osto, L., Morosinotto, T. és Bassi, R. (2007). „Contrasting behavior of higher plant photosystem I and II antenna systems during acclimation". *Journal of Biological Chemistry* 282(12):8947–58. doi: 10.1074/jbc.M606417200.
- Barber, J. és Andersson, B. (1992). „Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis". *Trends in Biochemical Sciences* 17(2):61–66. doi: 10.1016/0968-0004(92)90503-2.
- Blankenship, R. E. (2014). *Molecular mechanisms of photosynthesis*. John Wiley & Sons.
- Bornman, J. F., Barnes, P. W., T., Robson, T. M., Robinson, S. A., Jansen, M. A. K., Ballaré, C. L. és Flint, S. D. (2019). „Linkages between stratospheric ozone, UV radiation and climate change and their implications for terrestrial ecosystems". *Photochemical and Photobiological Sciences* 18(3):681–716. doi: 10.1039/c8pp90061b.
- Bornman, Janet F., és Thomas C. Vogelmann. 1988. „Penetration of blue nad UV radiation measured by fiber optics in spruce and fir needles". *Physiologia Plantarum* 72(4):699–705. doi: 10.1111/j.1399-3054.1988.tb06368.x.
- 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.
- Brown, Bobby A., Catherine Cloix, Guang Huai Jiang, Eirini Kaiserli, Pawel Herzyk, Daniel J. Kliebenstein, és Gareth I. Jenkins. 2005. „A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(50):18225–30. doi: 10.1073/pnas.0507187102.
- Castronuovo, D., Tataranni, G., Lovelli, S., Candido, V., Sofo, A. és Scopa, A. (2014). „UV-C irradiation effects on young tomato plants: Preliminary results". *Pakistan Journal of Botany* 46(3):945–49.
- Cerovic, Zoran G., Guillaume Masdoumier, Naïma Ben Ghazlen, és Gwendal Latouche.

2012. „A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids”. *Physiologia Plantarum* 146(3):251–60. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01639.x.
- Cheeseman, J. M. (2007). „Hydrogen Peroxide and Plant Stress : A Challenging Relationship”. *Plant Stress* 1:4–15.
- Cheng, C. W., Chen, L. Y, Chou, C. W. és Liang, J. Y. (2015). „Investigations of riboflavin photolysis via coloured light in the nitro blue tetrazolium assay for superoxide dismutase activity”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 148:262–67. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.04.028.
- Cooley, N. M., M. G. Holmes, és T. H. Attridge. 2000. „Growth and stomatal responses of temperate meadow species to enhanced levels of UV-A and UV-B+A radiation in the natural environment”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 57(2–3):179–85. doi: 10.1016/S1011-1344(00)00096-8.
- Corpas, F. J., Fernández-Ocaña, A., Carreras, A., Valderrama, R., Luque, F., Esteban, F. J. Rodríguez-Serrano, M., Chaki, M., Pedrajas, J., Sandalio, L. M., Del Río, L. A. és Barroso, J. B. (2006). „The expression of different superoxide dismutase forms is cell-type dependent in olive (*Olea europaea* L.) leaves”. *Plant and Cell Physiology* 47(7):984–94. doi: 10.1093/pcp/pcj071.
- Csepregi, Kristóf, és Éva Hideg. 2018. „Phenolic Compound Diversity Explored in the Context of Photo-Oxidative Stress Protection”. *Phytochemical Analysis* 29(2):129–36. doi: 10.1002/pca.2720.
- Czégény, Gyula, László Kőrösi, Åke Strid, és Éva Hideg. 2019. „Multiple roles for Vitamin B6 in plant acclimation to UV-B”. *Scientific Reports* 9(1):3–11. doi: 10.1038/s41598-018-38053-w.
- Czégény, Gyula, Anikó Máta, és Éva Hideg. 2016. „UV-B effects on leaves-Oxidative stress and acclimation in controlled environments”. *Plant Science* 248:57–63. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.04.013.
- Czégény, Gy. és Rácz, A. (2023). „Phenolic peroxidases: Dull generalists or purposeful specialists in stress responses?” *Journal of Plant Physiology* 280(September 2022). doi: 10.1016/j.jplph.2022.153884.

- Czégény, Gy., Wu, M., Dér, A., Eriksson, L. A., Strid, Å. és Hideg, É. (2014). „Hydrogen peroxide contributes to the ultraviolet-B (280-315 nm) induced oxidative stress of plant leaves through multiple pathways”. *FEBS Letters* 588(14):2255–61. doi: 10.1016/j.febslet.2014.05.005.
- Dekker, J. P. és Boekema, E. J. (2005). „Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants”. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1706(1–2):12–39. doi: 10.1016/j.bbabi.2004.09.009.
- El-Din El-Assal, Salah, Carlos Alonso-Blanco, Anton J. M. Peeters, Vered Raz, és Maarten Koornneef. 2001. „A QTL for flowering time in Arabidopsis reveals a novel allele of CRY2”. *Nature Genetics* 29(4):435–40. doi: 10.1038/ng767.
- Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Fraga, C. G. és Oteiza, P. I. (2004). „The interaction of flavonoids with membranes: Potential determinant of flavonoid antioxidant effects”. *Free Radical Research* 38(12):1311–20. doi: 10.1080/10715760400016105.
- Farquhar, G. D., és Sharkey, T. D. (1982). „Stomatal Conductance and Photosynthesis”. *Annual Review of Plant Physiology* 33(1):317–45. doi: 10.1146/annurev.pp.33.060182.001533.
- Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Agati, G. és Tattini, M. (2014). „Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas”. *Environmental and Experimental Botany* 103:107–16. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.09.012.
- Feucht, W., Dithmar, H. és Polster, J. (2004). „Nuclei of tea flowers as targets for flavanols”. *Plant Biology* 6(6):696–701. doi: 10.1055/s-2004-821271.
- Fielding, Jane L., és J. L. Hall. 1978. „A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*: II. Distribution of enzymes in relation to root development”. *Journal of Experimental Botany* 29(4):983–91. doi: 10.1093/jxb/29.4.983.
- Fini, A., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F. és Tattini, M. (2011). „Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants”. *Plant Signaling and Behavior* 6(5):709–11. doi: 10.4161/psb.6.5.15069.
- Gonzalez, R., Paul, N. D., Percy, K., Ambrose, M., McLaughlin, C. K., Barnes, J. D. Areses, M. és Wellburn, A. R. (1996). „Responses to ultraviolet-B radiation (280-315 nm) of pea (*Pisum sativum*) lines differing in leaf surface wax”. *Physiologia Plantarum* 98(4):852–

60. doi: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb06695.x.
- Gunnaiah, R., Kushalappa, A. C., Duggavathi, R., Fox, S. és Somers, D. J. (2012). „Integrated metabolo-proteomic approach to decipher the mechanisms by which wheat qtl (Fhb1) contributes to resistance against *Fusarium graminearum*”. *PLoS ONE* 7(7). doi: 10.1371/journal.pone.0040695.
- Halliwell, B., és Gutteridge, J. M. (2015). „*Free radicals in biology and medicine.*” Oxford university press, USA.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- Hectors, K., Van Oevelen, S., Geuns, J., Guisez, Y., Jansen, M. A. K. és Prinsen, E. (2014). „Dynamic changes in plant secondary metabolites during UV acclimation in *Arabidopsis thaliana*”. *Physiologia Plantarum* 152(2):219–30. doi: 10.1111/ppl.12168.
- Hideg, É., Jansen, M. A. K. és Strid, Å. 2013. „UV-B exposure, ROS, and stress: Inseparable companions or loosely linked associates?” *Trends in Plant Science* 18(2):107–15. doi: 10.1016/j.tplants.2012.09.003.
- Huang, Xi, Xinhao Ouyang, Panyu Yang, On Sun Lau, Liangbi Chen, Ning Wei, és Xing Wang Deng. 2013. „Conversion from CUL4-based COP1-SPA E3 apparatus to UVR8-COP1-SPA complexes underlies a distinct biochemical function of COP1 under UV-B”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(41):16669–74. doi: 10.1073/pnas.1316622110.
- Jansen, M. A. K., Van den Noort, R. E., Adillah Tan, M. Y., Prinsen, E., Lagrimini, L. M. és Thorneley, R. N. F. (2001). „Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from ultraviolet radiation stress”. *Plant Physiology* 126(3):1012–23. doi: 10.1104/pp.126.3.1012.
- Jansen, M. A. K., Gaba, V. és Greenberg, B. M. 1998. „Higher plants and UV-B radiation: Balancing damage, repair and acclimation”. *Trends in Plant Science* 3(4):131–35. doi: 10.1016/S1360-1385(98)01215-1.
- Jenkins, Gareth I. 2009. „Signal transduction in responses to UV-B radiation”. *Annual Review of Plant Biology* 60:407–31. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092953.

- Jenkins, Gareth I. 2014. „The UV-B photoreceptor UVR8: From structure to physiology”. *Plant Cell* 26(1):21–37. doi: 10.1105/tpc.113.119446.
- Julkunen-Tiitto, Riitta, Nikolaos Nenadis, Susanne Neugart, Matthew Robson, Giovanni Agati, Jouko Vepsäläinen, Gaetano Zipoli, Line Nybakken, Barbro Winkler, és Marcel A. K. Jansen. 2015. „Assessing the response of plant flavonoids to UV radiation: an overview of appropriate techniques”. *Phytochemistry Reviews* 14(2):273–97. doi: 10.1007/s11101-014-9362-4.
- Kähkönen, Marja P., és Marina Heinonen. 2003. „Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3):628–33. doi: 10.1021/jf025551i.
- Klughammer, C., és 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(1):27–35.
- Kühlbrandt, W., Wang, D. N. és Fujiyoshi, Y. 1994. „Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography”. *Nature* 367(6464):614–21. doi: 10.1038/367614a0.
- Landry, L. G., Chapple, C. C. S. és Last, R. L. (1995). „Arabidopsis mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage”. *Plant Physiology* 109(4):1159–66. doi: 10.1104/pp.109.4.1159.
- Li, J., Ou-Lee, T. M., Raba, R., Amundson, R. G. és Last, R. L. (1993). „Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation”. *Plant Cell* 5(2):171–79. doi: 10.2307/3869583.
- Li, Qing-Hua, és Hong-Quan Yang. 2007. „Cryptochrome Signaling in Plants†”. *Photochemistry and Photobiology* 83(1):94–101. doi: 10.1562/2006-02-28-ir-826.
- Lin, Chentao, Dan E. Robertson, Margaret Ahmad, Andrei A. Raibekas, Marilyn Schuman Jorns, P. Leslie Dutton, és Anthony R. Cashmore. 1995. „Association of flavin adenine dinucleotide with the Arabidopsis blue light receptor CRY1”. *Science* 269(5226):968–70. doi: 10.1126/science.7638620.
- Lin, Chentao, és Dror Shalitin. 2003. „Cryptochrome Structure and Signal Transduction”. *Annual Review of Plant Biology* 54:469–96. doi:

10.1146/annurev.arplant.54.110901.160901.

Lorenc-Kukuła, K., Jafra, S., Oszmiański, J. és Szopa, J. (2005). „Ectopic expression of anthocyanin 5-O-glucosyltransferase in potato tuber causes increased resistance to bacteria”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(2):272–81. doi: 10.1021/jf048449p.

Majer, Petra, Gyula Czégény, Györgyi Sándor, Philip J. Dix, és Éva Hideg. 2014. „Antioxidant defence in UV-irradiated tobacco leaves is centred on hydrogen-peroxide neutralization”. *Plant Physiology and Biochemistry* 82:239–43. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.06.011.

McKenzie, R. L., Björn, L. O., Bais, A. és Ilyas, M. 2003. „Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth’s surface”. *Photochemical and Photobiological Sciences* 2(1):5–15. doi: 10.1039/b211155c.

Mehler, A. H. 1951. „Studies on reactions of illuminated chloroplasts. II. Stimulation and inhibition of the reaction with molecular oxygen”. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 34(2):339–51. doi: 10.1016/0003-9861(51)90012-4.

Mockler, Todd C., Hongwei Guo, Hongyun Yang, Hien Duong, és Chentao Lin. 1999. „Antagonistic actions of Arabidopsis cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction”. *Development* 126(10):2073–82. doi: 10.1242/dev.126.10.2073.

Möglich A, Yang X, Ayers RA, Moffat K. Structure and function of plant photoreceptors. *Annu Rev Plant Biol.* 2010;61:21-47. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112259. PMID: 20192744

Navari-Izzo, F., Pinzino, C., Quartacci, M. F. és Sgherri, C. L. M. 1999. „Superoxide and hydroxyl radical generation, and superoxide dismutase in PSII membrane fragments from wheat”. *Free Radical Research* 31(SUPPL.). doi: 10.1080/10715769900301251.

O’Hara, Andrew, és Gareth I. Jenkins. 2012. „In vivo function of tryptophans in the Arabidopsis UV-B photoreceptor UVR8”. *Plant Cell* 24(9):3755–66. doi: 10.1105/tpc.112.101451.

Partch, Carrie L., Michael W. Clarkson, Sezgin Özgür, Andrew L. Lee, és Aziz Sancar. 2005. „Role of structural plasticity in signal transduction by the cryptochrome blue-light

- photoreceptor". *Biochemistry* 44(10):3795–3805. doi: 10.1021/bi047545g.
- Pereira, G. K., Donate, P. M. és Galembeck, S. E. (1997). „Effects of substitution for hydroxyl in the B-ring of the flavylum cation". *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 392(1–3):169–79. doi: 10.1016/s0166-1280(97)90395-x.
- Rácz, Arnold, Gyula Czégény, Kristóf Csepregi, és Éva Hideg. 2020. „Ultraviolet-B acclimation is supported by functionally heterogeneous phenolic peroxidases". *Scientific Reports* 10(1):1–13. doi: 10.1038/s41598-020-73548-5.
- Rai, N., O'Hara, A., Farkas, D., Safronov, O., Ratanasopa, K., Wang, F., Lindfors, A. V., Jenkins, G. I., Lehto, T., Salojärvi, J., Brosché, M., Strid, Å., Aphalo, P.J. és Morales, L. O. 2020. *The photoreceptor UVR8 mediates the perception of both UV-B and UV-A wavelengths up to 350 nm of sunlight with responsivity moderated by cryptochromes*. Köt. 43.
- Rizzini, L., Favory, J. J., Cloix, C., Faggionato, D., O'Hara, A., Kaiserli, E., Baumeister, R., Schäfer, E., Nagy, F., Jenkins, G. I. és Ulm, R. 2011. „Perception of UV-B by the arabidopsis UVR8 protein". *Science* 332(6025):103–6. doi: 10.1126/science.1200660.
- Robson, T. M., Klem, K., Urban, O. és Jansen, M. A. K. 2015. „Re-interpreting plant morphological responses to UV-B radiation". *Plant, Cell and Environment* 38(5):856–66. doi: 10.1111/pce.12374.
- Sharkey, T. D., Bernacchi, C. J., Farquhar, G. D. és Singsaas, E. L. 2007. „Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves". *Plant, Cell and Environment* 30(9):1035–40. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01710.x.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. és Pessarakli, M. 2012. „Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions". *Journal of Botany* 2012:1–26. doi: 10.1155/2012/217037.
- Smith, H. Phytochromes and light signal perception by plants an emerging synthesis. *Nature* 407, 585–591 (2000). <https://doi.org/10.1038/35036500>
- Šnyrychová, Iva, és Éva Hideg. 2007. „The first application of terephthalate fluorescence for highly selective detection of hydroxyl radicals in thylakoid membranes". *Functional Plant Biology* 34(12):1105–11. doi: 10.1071/FP07150.
- Štroch, Michal, Zuzana Materová, Daniel Vrábl, Václav Karlický, Ladislav Šigut, Jakub

- Nezval, és Vladimír Špunda. 2015. „Protective effect of UV-A radiation during acclimation of the photosynthetic apparatus to UV-B treatment”. *Plant Physiology and Biochemistry* 96:90–96. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.07.017.
- Takahashi, Shunichi, Sara E. Milward, Wataru Yamori, John R. Evans, Warwick Hillier, és Murray R. Badger. 2010. „The solar action spectrum of photosystem II damage”. *Plant Physiology* 153(3):988–93. doi: 10.1104/pp.110.155747.
- Tattini, M., Matteini, P., Saracini, E., Traversi, M. L, Giordano, C. és Agati, G. (2007). „Morphology and biochemistry of non-glandular trichomes in *Cistus salvifolius* L. leaves growing in extreme habitats of the Mediterranean basin”. *Plant Biology* 9(3):411–19. doi: 10.1055/s-2006-924662.
- Tissot, Nicolas, és Roman Ulm. 2020. „Cryptochrome-mediated blue-light signalling modulates UVR8 photoreceptor activity and contributes to UV-B tolerance in *Arabidopsis*”. *Nature Communications* 11(1):2–11. doi: 10.1038/s41467-020-15133-y.
- Ulm, Roman, és Gareth I. Jenkins. 2015. „Q&A: How do plants sense and respond to UV-B radiation?” *BMC Biology* 13(1):4–9. doi: 10.1186/s12915-015-0156-y.
- Uversky, Vladimir N. 2019. „Intrinsically disordered proteins and their »Mysterious« (meta)physics”. *Frontiers in Physics* 7(FEB). doi: 10.3389/fphy.2019.00010.
- Verdaguer, Dolors, Marcel A. K. Jansen, Laura Llorens, Luis O. Morales, és Susanne Neugart. 2017. „UV-A radiation effects on higher plants: Exploring the known unknown”. *Plant Science* 255:72–81. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.11.014.
- Wang, Haiyan, Mouming Zhao, Bao Yang, Yueming Jiang, és Guohua Rao. 2008. „Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities”. *Food Chemistry* 107(4):1399–1406. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.068.
- Wang, Qin, és Chentao Lin. 2020. „Mechanisms of Cryptochrome-Mediated Photoresponses in Plants”. *Annual Review of Plant Biology* 71:103–29. doi: 10.1146/annurev-arplant-050718-100300.
- Wang, Yu, Bo Zhou, Mei Sun, Yuhua Li, és Saneyuki Kawabata. 2012. „UV-A light induces anthocyanin biosynthesis in a manner distinct from synergistic blue + UV-B light and UV-A/blue light responses in different parts of the hypocotyls in turnip seedlings”. *Plant and Cell Physiology* 53(8):1470–80. doi: 10.1093/pcp/pcs088.

- Wu, Guosheng, és Edgar P. Spalding. 2007. „Separate functions for nuclear and cytoplasmic cryptochrome 1 during photomorphogenesis of Arabidopsis seedlings”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(47):18813–18. doi: 10.1073/pnas.0705082104.
- Yin, Ruohu, Mariya Y. Skvortsova, Sylvain Loubéry, és Roman Ulm. 2016. „COP1 is required for UV-B-induced nuclear accumulation of the UVR8 photoreceptor”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(30):E4415–22. doi: 10.1073/pnas.1607074113.
- Yu, Xuhong, John Klejnot, Xiaoying Zhao, Dror Shalitin, Maskit Maymon, Hongyun Yang, Janet Lee, Xuanming Liu, Javier Lopez, és Chentao Lina. 2007. „Arabidopsis cryptochrome 2 completes its posttranslational life cycle in the nucleus”. *Plant Cell* 19(10):3146–56. doi: 10.1105/tpc.107.053017.
- Zhang, Y., Butelli, E. és Martin, C. (2014). „Engineering anthocyanin biosynthesis in plants”. *Current Opinion in Plant Biology* 19:81–90. doi: 10.1016/j.pbi.2014.05.011.
- Zipor, Gadi, és Michal Oren-Shamir. 2013. „Do vacuolar peroxidases act as plant caretakers?” *Plant Science* 199–200:41–47. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.09.018.