

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi Kar

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

HABILITÁCIÓS TÉZISEK

A speciális metabolitok szerepe az UV sugárzás kiváltotta
alkalmazkodási folyamatokban



Csepregi Kristóf

Pécs, 2025

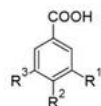
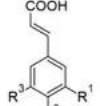
A speciális metabolitok szerepe az UV sugárzás kiváltotta alkalmazkodási folyamatokban

Bevezetés

A fenolos tulajdonságú vegyületek a növényi speciális metabolitok egyik legnagyobb csoportja, amelyek a fenilpropanoid úton keresztül szintetizálódnak és halmozódnak fel a vakuólumban (Beckman, 2000) és a kloroplasztisban (Saunders és McClure, 1976). Legismertebb képviselőik a fenolos savak és a flavonoidok csoportjába tartoznak és általánosan találhatóak meg a növények különböző részeiben (gyökér, szár, levél, virág, gyümölcs). Rendkívül fontos szerepet töltenek be a növények életében, ugyanis kiemelkedő UV abszorbeáló és antioxidáns tulajdonságú vegyületek (Csepregi és mtsai., 2016, Csepregi és Hideg, 2018), kelátképzők (Mira és mtsai., 2002), valamint feltűnő színeikkel segítik a megporzást és védelmet nyújthatnak a rovarkártevők ellen (Agati és mtsai., 2012). A különféle környezeti stresszhatások (nagy fényintenzitás, szárazság, só stressz, nehézfém felhalmozódás, UV sugárzás) olyan reaktív oxigénszármazékok (ROS) képződését idézhetik elő, melyek koncentrációjának megemelkedése oxidatív stressz kialakulásához vezethet. Ez a folyamat súlyosan károsíthatja a növények életfunkcióit, oxidatív károsodást okozva a sejtmembránokat alkotó lipidekben, a szövetek enzimfehérje komplexeiben, valamint a nukleinsavakban, így a DNS szerkezetében is. Mindezek ellenére a növények különböző semlegesítési folyamatok és védelmi rendszerek (enzimatis, nem enzimatis) segítségével képesek a ROS szintjét alacsony szinten tartani (Larson, 1988). Az enzimatis védelmi rendszer egyik ilyen csoportját a szuperoxid-diszmutázok (SOD) alkotják, amelyek elsődleges feladata a szuperoxid-anion gyökök ($O_2^{\cdot-}$) átalakítása hidrogén-peroxiddá (H_2O_2) (Fridovich, 1986). A keletkező H_2O_2 további lebontásáért elsősorban a katalázok és a peroxidázok felelősek. Ez utóbbi enzimek egy különleges alcsoportját képezik a fenolos peroxidázok, amelyek szubsztrátként fenolos jellegű vegyületeket használnak fel a H_2O_2 lebontásához, ezáltal csökkentve annak sejtszintű koncentrációját (Van Doorn és Ketsa, 2014), fontos szerepet játszva a stressz elleni védelemben (Jansen és mtsai., 2001). A nem enzimatis antioxidánsok közé többek között az alacsony molekulatömegű fenoloidok, karotinoidok, tokoferolok a glutation, illetve az aszkorbinsav tartoznak, amelyek közvetlenül képesek a ROS semlegesítésére, miközben gyakran alakulnak át gyökös tulajdonságú vegyületekké. Az utóbb említett molekula fontos szerepet tölt be az aszkorbát-glutacion ciklusban is, mint antioxidáns enzimek kofaktora (Foyer és Noctor, 2011), azonban közvetlenül hozzájárul más antioxidáns tulajdonságú vegyületek regenerációjához,

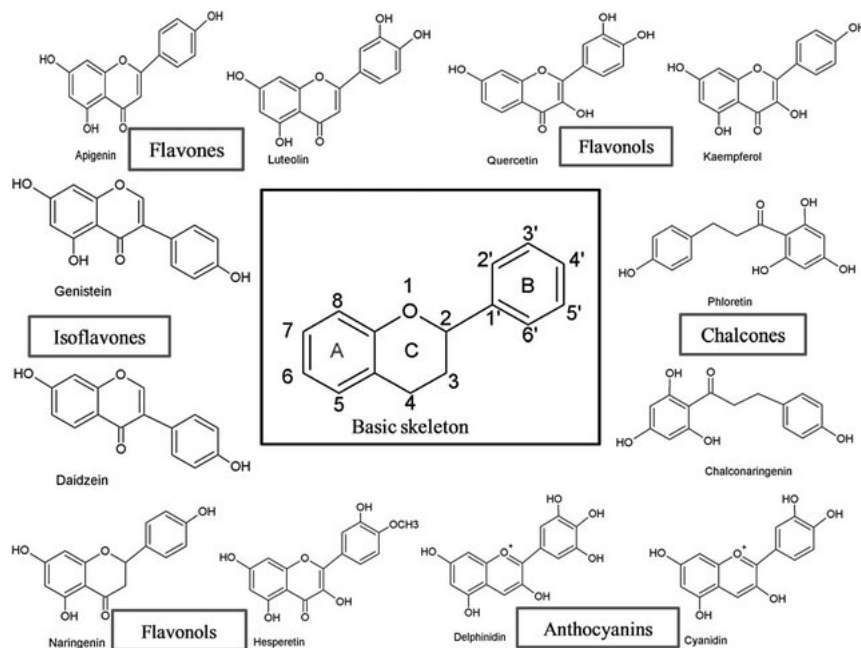
ugyanis oxidációja révén képes regenerálni a flavonoid-gyököket (Pérez és mtsai., 2002). A növények fejlődés és stresszélettani válaszaiban játszott szerepük mellett ezen vegyületek táplálkozásélettani szempontból is jelentősek, ezért antioxidáns tulajdonságaik és szerkezet-hatás összefüggéseik megismerése a növénybiológiai kutatásokon túl is érdekes.

A fenolos savak, illetve fenol karbonsavak a fenolos tulajdonságú vegyületek legegyszerűbb formái, mivel szerkezetük egy fenolgyűrűből és egy karboxil csoportból áll. Elsősorban ligninekhez, terpénekhez kötötten fordulnak elő, de szabad formában is megtalálhatóak, úgymint a klorogénsav mely magas antioxidáns kapacitás értékkel rendelkezik. Szerkezetüktől függően kettő fő osztályba sorolhatóak (1. ábra), hidroxibenzoikus savak (HBA) és hidroxifahéjsavak (HCA).

 hydroxybenzoic				 hydroxycinnamic			
	R ¹	R ²	R ³		R ¹	R ²	R ³
benzoic	H	H	H	cinnamic	H	H	H
gallic	OH	OH	OH	caffeic	OH	OH	H
protocatechuic	OH	OH	H	p-coumaric	H	OH	H
p-hydroxybenzoic	H	OH	H	ferulic	OCH ₃	OH	H
vanillic	OCH ₃	OH	H	sinapic	OCH ₃	OH	OCH ₃

1 ábra. A fenolos savak két csoportjának szerkezeti összehasonlítása

A flavonoidok alapszerkezete 15 szén atomból, illetve hidroxil csoportokkal szubsztituált, aromás gyűrűkből áll. A széngyűrűk hidroxilációs, metilációs és prenilációs szintje alapján különböző osztályokba sorolhatóak (2. ábra), úgymint flavonok, antocianinok, flavanolok, izoflavonok, flavanolok és flavanonok. A hidroxil csoportok általánosan az alábbi pozícióban kapcsolódhatnak a gyűrűhöz: A gyűrű esetében az 5 és 6 szénatomhoz, B gyűrű esetében a 3', 4' és 5' szénatomhoz, valamint C gyűrű esetében a 3 szénatomhoz. Az egyes flavonoid osztályok szerkezeti sokféleségét a glikoziláció tovább növeli, melyek leggyakoribb formái az O- glikoziláció, illetve ritkábban a C- glikoziláció.



2 ábra. A flavonoidok legismertebb csoportjainak szerkezeti összehasonlítása

A flavonoidok különféle funkciós csoportjaiknak, illetve szerkezeti sajátosságaiknak köszönhetően, ahogyan korábban említettem kiemelkedő ROS semlegesítő, illetve UV abszorbeáló molekulák, így különösen alkalmasak annak vizsgálatára, hogy miként alakítja az UV sugárzás a bioszintézisüket, valamint betöltött szerepüket a növényi stresszválaszokban. Az ultraibolya (UV) sugárzás a napból származó olyan elektromágneses sugárzás, mely a 100-400 nm közötti hullámhossz tartományt fedi le, frekvenciája magasabb, hullámhossza azonban rövidebb, mint a látható fénynek. Három fő típusa az UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) és UV-C (100-280 nm) sugárzás, melyek közül az utóbbi nem éri el a föld felszínét, ugyanis az ózonréteg teljes mértékben kiszűri. Az elmúlt évtizedek kutatásai rávilágítottak arra, hogy az UV sugárzás fontos szerepet játszik a növények fejlődésében és anyagcseréjének szabályozásában, ugyanis befolyásolhatja a növekedést és a speciális metabolitok bioszintézisét is. Ezeknek a vegyületeknek az antioxidáns tulajdonságon felül UV abszorbeáló képességük is jelentős, így a mélyebben elhelyezkedő szöveteket a káros sugárzás nehezebben éri el, meggátolva a gyökös tulajdonságú vegyületeket kialakulását. Azonban az UV sugárzáson túlmenően (Hideg és mtsai., 2013) számos környezeti stresszhatás (nagy fényintenzitás (Müller-Xing és mtsai., 2014), szárazság (Sanchez-Rodriguez és mtsai., 2010), alacsony hőmérséklet (Rácz és mtsai., 2023), valamint nehézfém felhalmozódás (Schützendübel és Polle, 2002)) képes megemelni a növények különféle szöveteiben a ROS mennyiségét és ezzel párhuzamosan a speciális anyagcseretermékek, elsősorban a fenolos tulajdonságú vegyületek koncentrációját. Ez alapul szolgálhat a kereszttolerancia kialakulásában, amikor egy adott

stressz hatására adott válaszreakció egy másik stresszfaktor elleni védekezőképességet is fokozza. Ugyanakkor, ha a növényeket egyszerre éri UV sugárzás és egyéb, környezeti stresszhatás, az antioxidáns szint csökkenése, valamint további metabolikus erőforrások túlterhelése miatt negatív szinergista hatások is kialakulhatnak, melyek a növény vitalitásának csökkenéséhez vezethetnek.

Az UV sugárzás elleni védekezés, valamint az ezzel szorosan összefüggő fenolos tulajdonságú vegyületek termelődése kiemelt fontosságú lehet beltéri, kontrollált körülmények közötti növénytermesztés során, ahol a megfelelő metabolit szintet mesterséges fényforrásokkal lehet szabályozni.

Kísérleteim során kiemelt figyelmet fordítottam a különböző UV hullámhossztartományok hatásának vizsgálatára, valamint az UV indukált metabolit válaszok élettani hátterének feltárására, melyhez modellnövényként mezőgazdasági szempontból is jelentős haszonnövényeket (szőlő (*Vitis vinifera* L), paprika (*Capsicum annuum* L)) használtam. Az eredmények jól mutatják, hogy a metabolikus változások milyen mértékben járulhatnak hozzá a növények UV toleranciájához és antioxidáns kapacitásához.

Anyag és módszer

Az Anyag és módszer fejezetben szeretném bemutatni a munkáimhoz használt analitikai módszereket (antioxidáns kapacitás, UV abszorbeáló tulajdonság, folyadékkromatográfia), kezdve a növényi kivonatok elkészítésével, amelyek mindegyik vizsgálati módszerhez használhatók voltak. A tesztvegyületek az Extrasynthese (Extrasynthese, Rohe, Franciaország), az egyéb vegyszerek és oldószerek a VWR (VWR International Kft., Debrecen, Magyarország), illetve a Merck (Merck and Co., Rahway, USA) cégtől származtak.

Minta előkészítés

A levélmintákat a mintagyűjtés során folyékony nitrogénbe helyeztük, majd mélyfagyasztó szekrényben tároltuk a mintafeltárás kezdetéig. A fagyasztva szárítást követően (SCANVAC CoolSafe 110-4, LaboGene, Dánia) a levelek finom porrá lettek őrölve, melyek vizes alkoholban (70:30, EtOH: H₂O) lettek extrahálva, míg a kalibrációhoz használt tesztvegyületeket abszolút alkohollal elegyítettük. A kivonatkészítés során a mintákat 15 percig szonikáltuk (RoHS JP-020, Shenzhen, Kína), majd 10 percig centrifugáltuk (Thermo Fisher

Scientific Inc., Waltham, MA, USA). A felülúszót összegyűjtve, az eljárást kétszer megismételtük.

Folin-Ciocalteu reaktivitás (FCR)

Az FCR egy széles körben használt módszer a növényi kivonatok teljes fenol tartalmának, illetve antioxidáns kapacitásának vizsgálatára. Az eljárás a molibdén ionnak az oxidációján alapszik, a növényi kivonatban található speciális metabolitok hatására. A mérést az eredeti eljárás (Singleton és Rossi, 1965) módosításával végeztük (Csepregi és mtsai., 2013), mely során a 20 µl megfelelően hígított kivonathoz 90 µl FC reagens (1:10 arányban hígítva desztillált vízzel), majd öt perc elteltével 90 µl Na₂CO₃ (6% w/v) került hozzáadásra. A 90 perc szobahőmérsékleten történő inkubációt követően az oldat abszorbanciáját 651 nm hullámhosszon (Multiskan FC plate reader, Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína) mértük. A kalibráláshoz galluszsavat használtunk.

Vasredukáló képességen alapuló antioxidáns kapacitás mérés (FRAP)

A módszer a növényi kivonatban lévő metabolitok vasredukáló képességén alapszik, mely során a Fe (III) ionok Fe (II) ionokká redukálódnak, kékes-lilás színű terméket produkálva (Benzie és Strain, 1996). A mérést az eredeti eljárás módosításával végeztük, mely során a 10 µl megfelelően hígított kivonathoz 190 µl FRAP reagens került hozzáadásra. A reagens elkészítéséhez acetát puffer (300 mM, pH 3,6), 2, 4, 6-tripiridil-S-triazin (10 mM TPTZ 40 mM HCl oldatban hígítva) és vas (III)-klorid (20 mM FeCl₃ desztillált vízben hígítva) elegyét használtuk. A 30 perc szobahőmérsékleten történő inkubációt követően az oldat abszorbanciáját 620 nm hullámhosszon (Multiskan FC plate reader, Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína) mértük. A kalibráláshoz aszkorbinsavat használtunk.

ABTS^{•+} semlegesítésen alapuló antioxidáns kapacitás mérés (TEAC)

A mérési elv a 2,2'-azino-bisz (3-etil-benzotiazolin-6-szulfonsav) kationgyök (ABTS^{•+}) oxidációján alapszik (Re és mtsai., 1999), mely során 50 mM foszfát pufferhez (pH 6) 10 mM ABTS (70% alkoholban hígítva), 100 mM H₂O₂ (desztillált vízben hígítva) és 1,25 µM peroxidáz oldatot keverünk. 15 perc elteltével 190 µl ABTS^{•+} oldatot adunk 10 µl megfelelően

hígított kivonathoz, majd mérjük az oldat abszorbanciáját (Multiskan FC plate reader, Thermo Fischer Scientific, Shanghai, Kína). A kalibráláshoz troloxot használtunk.

UV abszorbeáló pigment tartalom meghatározás

Növényi kivonatok UV abszorbeáló képességének vizsgálatát savas EtOH elegyével végeztük és mértük abszorpciós spektrumukat 280-400 nm hullámhossz tartományban. Reagens nélkül, a minta abszorpcióját értékeltük spektrofotométer segítségével (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japán), külön-külön integrálva az UV-A (315-400 nm) és UV-B (280-315 nm) tartományokat, azok szélességével (85 nm és 35 nm) jellemezve az UV abszorbeáló képességet. Ennek megfelelően az integrált UV-A, vagy UV-B abszorpció $\text{mM}^{-1} \text{ nm}^{-1}$ adatokkal lettek jellemezve. A kalibráláshoz quercetint használtunk.

Levelek pigment tartalmának meghatározása

A DUALEX egy hordozható, non destruktív optikai műszer, amely a klorofill-fluoreszcencia kettős gerjesztésén alapszik (Cerovic és mtsai. 2012) és segítségével a levelek epidermiszének különféle pigment paramétereiről kaphatunk információkat. A műszer segítségével becsült pigment paraméterek a következőek: klorofill, flavonoid és antocián.

A fenolos vegyületek folyadékkromatográfiás (HPLC) analízise

A fenolos tulajdonságú vegyületek kivonását 30 mg liofilizált növényi szárazanyagból végeztük, 400 μL 70%-os metanol (MeOH) felhasználásával. A mintákat ultrahangos vízfürdőben szonikáltuk 30 percen keresztül. Az első extrakciót követően a mintákat 10 percig centrifugáltuk ($12\,100 \times g$), majd a kapott felülúszót tiszta mintatartó csövekbe gyűjtöttük. A visszamaradt csapadékot további két alkalommal extraháltuk, ezúttal 300 μL 70%-os MeOH oldattal. Az extraktumokat egyesítettük, majd 0,2 mm pórusméretű PTFE membránszűrőn átszűrtük a kromatográfiás analízist megelőzően.

A vegyületek elválasztását és mennyiségi meghatározását egy Shimadzu LC-20 típusú HPLC rendszerrel végeztük, Kinetex 2,6 μm XB-C18 (4,6 mm $\times$ 100 mm) fordított fázisú oszlop alkalmazásával. Az elválasztás 0,9 mL/min áramlási sebesség mellett, 50 °C-os oszlophőmérsékleten történt. A mobil fázist két eluens alkotta: A eluens: 99,5% víz + 0,5%

hangyasav (HCOOH), B eluens: 99,5% metanol + 0,5% hangyasav. Az alkalmazott gradiens program a következő volt: 0–2 perc: 0% B; 2–6 perc: 10% B; 6–30 perc: 30% B; 30–35 perc: 80% B; 35–37 perc: 100% B; 37–39 perc: 100% B; 39–43 perc: 0% B; 43–45 perc: 0% B. A detektálást diódasoros detektorral végeztük, a kromatogramokat 320 nm és 345 nm hullámhosszokon rögzítettük.

Eredmények és következtetések

A PhD dolgozatom egyik kiemelt témája volt a környezeti tényezők és szőlő levelében megtalálható speciális metabolitok (fenolos savak, flavonoidok) közötti összefüggések vizsgálata, különös tekintettel a növényi anyagcseretermékek egyik legnagyobb csoportjának, a fenolos savak és a flavonoidok UV abszorbeáló és antioxidáns képességire, ezen tulajdonságok és a vegyületek szerkezetének kapcsolatára. A PhD fokozat megvédése után folytattam a speciális metabolitok antioxidáns tulajdonságainak vizsgálatát, és az alábbi kérdésekre kerestem a választ. Az idegennyelvű ábrák a már megjelent publikációkból származnak.

Milyen mértékű minőségi és mennyiségi változást mutatnak a szőlőlevél fenolos tulajdonságú vegyületei egy nap leforgása alatt, illetve milyen környezeti hatások befolyásolják ezeket?

Korábban részt vettem egy európai kutatási együttműködésben, ami megmutatta, hogy a szőlőlevelek fenolos vegyület tartalmát a sokféle környezeti tényező közül elsősorban a teljes (rügyfakadástól a fűrtzendülésig tartó) fejlődésük során ezeket érő kumulatív UV-B dózis befolyásolja (Castagna és mtsai., 2017). Az UV-B által pozitív korrelátorként kialakított magas fenolos vegyület alapszintet azonban más, rövidebb távú hatások is modulálhatják. Az alábbiakban bemutatott kutatás elsődleges célja annak megismerése volt, hogy megállapítsuk miként változnak a szőlő leveleinek fenolos összetevői egy nap leforgása alatt. Korábbi kutatások ugyanis bebizonyították, hogy a fenolos vegyületek szintjére és a növényi antioxidánsok aktivitására különféle környezeti paraméterek képesek hatást gyakorolni, habár a változás időbeli lefolyásáról jelenleg keveset tudunk. Ebből kifolyólag a jelen kísérletben megvizsgáltuk, hogy a szőlő levelében az UV sugárzás, illetve a hőmérséklet befolyásolják az antioxidáns tulajdonsággal rendelkező, fenolos tulajdonságú vegyületek mennyiségét egy nap leforgása alatt. A kísérlet további jelentősége, hogy választ keressen arra, mennyiben tekinthető

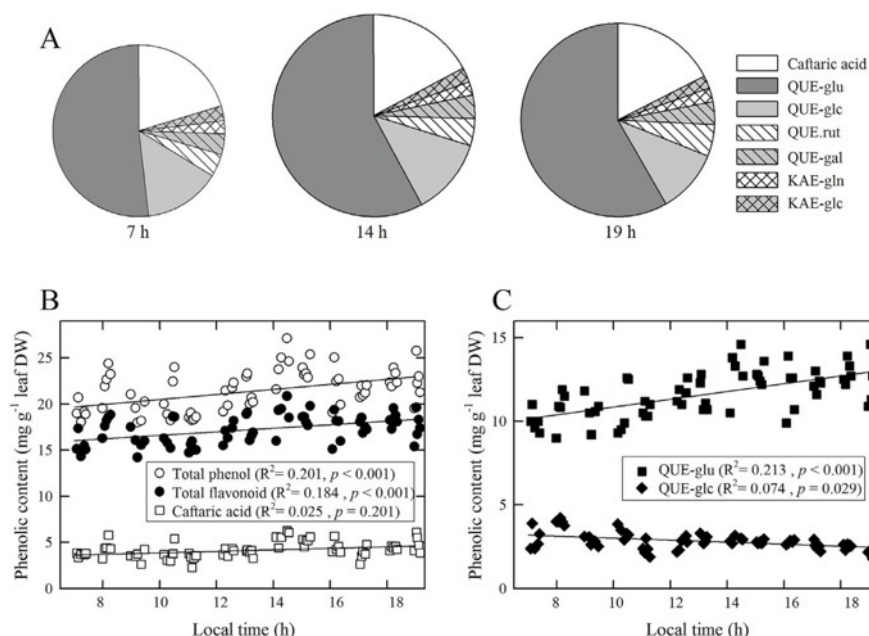
a speciális anyagcseretermékek (fenolos vegyületek) jelenléte állandó, genetikailag meghatározott védelmi mechanizmusnak, illetve adaptívnek, környezeti paraméterekhez igazodó válaszreakcióknak. A kérdés megválaszolása hozzájárulhat a növények rövid távú alkalmazkodási válaszainak jobb megértéséhez, különösen a polifenolok védekezésben betöltött szerepéhez.

A kísérlet során déli fekvésű, napsütésnek kitett szőlő (*Vitis vinifera* L.) leveleinek vizsgáltuk különféle fotoszintézis paramétereit, antioxidáns tulajdonságait, valamint fenolos profiljának változásait (reggel 7 órától este 7 óráig), melyeket különféle környezeti paraméterek (napsugárzás, hőmérséklet, páratartalom) változásával hasonlítottunk össze. Adataink alapján megállapítható, hogy a szőlő leveleiben előforduló fenolos tulajdonságú vegyületek koncentrációja rövid időn belül is megváltozhat (3. ábra). Ezek a gyors változások azonban az alapszinthez képest kis mértékűek. A háttérben feltehetően olyan környezeti tényezők állhatnak, mint az UV sugárzás vagy a hőmérséklet.

Kísérletünkben a szőlő levelének non destruktív mérési eljárással vizsgált flavonoid index adatai napszakos változást, illetve összefüggést is mutattak az UV-B sugárzás és a PAR értékeivel (Csepregi és mtsai., 2019), hasonlóan egy másik modellnövényt használt kísérlet eredményeihez (Barnes és mtsai., 2015). Ezen felül, új eredményként azt is megmutattuk, hogy a flavonoid index adatok pozitív korrelációt mutattak az UV-A sugárzással és a levélhőmérséklettel is. A levegő hőmérséklete, amely számos növényfajnál az epidermális UV-transzmissziót befolyásoló tényezőként van jelen (Barnes és mtsai., 2016), a kísérletünkben nem volt szignifikáns hatással a levelek teljes flavonoid tartalmára. Ezzel szemben a levegő hőmérséklete pozitív korrelációt mutatott a teljes fenoltartalommal (extrahálható), feltételezhetően a szőlő levelében legnagyobb mennyiségben előforduló flavonoidnak, a Que-glu növekvő szintje révén (3. és 4. ábra).

Érdekesség, miközben nehezen értelmezhető is egyben, hogy az epidermális flavonoid index és a teljes levélkivonat fenolos tartalom értékeit befolyásoló környezeti paraméterek miért különbözőek. Egy lehetséges magyarázat szerint a válasz a flavonoid szint és a Que-glc tartalom között kimutatott erős pozitív kapcsolaton alapulhat. Feltételezve, hogy az epidermális és szubepidermális Que-glc aránya magasabb, mint a többi flavonoidnak, a Que-glc lehetne a felelős a ROS szint alacsonyan tartásában a kísérő sejtekben, fenolos peroxidáz szubsztrátként funkcionálva, ezáltal elősegítve a sztóma válaszokat, ugyanis a mintavételek során reggel és kora délután magasabb sztóma konduktancia volt megfigyelhető mely késő délután csökkent, párhuzamosan a relatív páratartalom csökkenésével és a hőmérséklet emelkedésével. Ezt a feltételezést egyelőre, kizárólag epidermális sejteket tartalmazó minta hiányában közvetlen

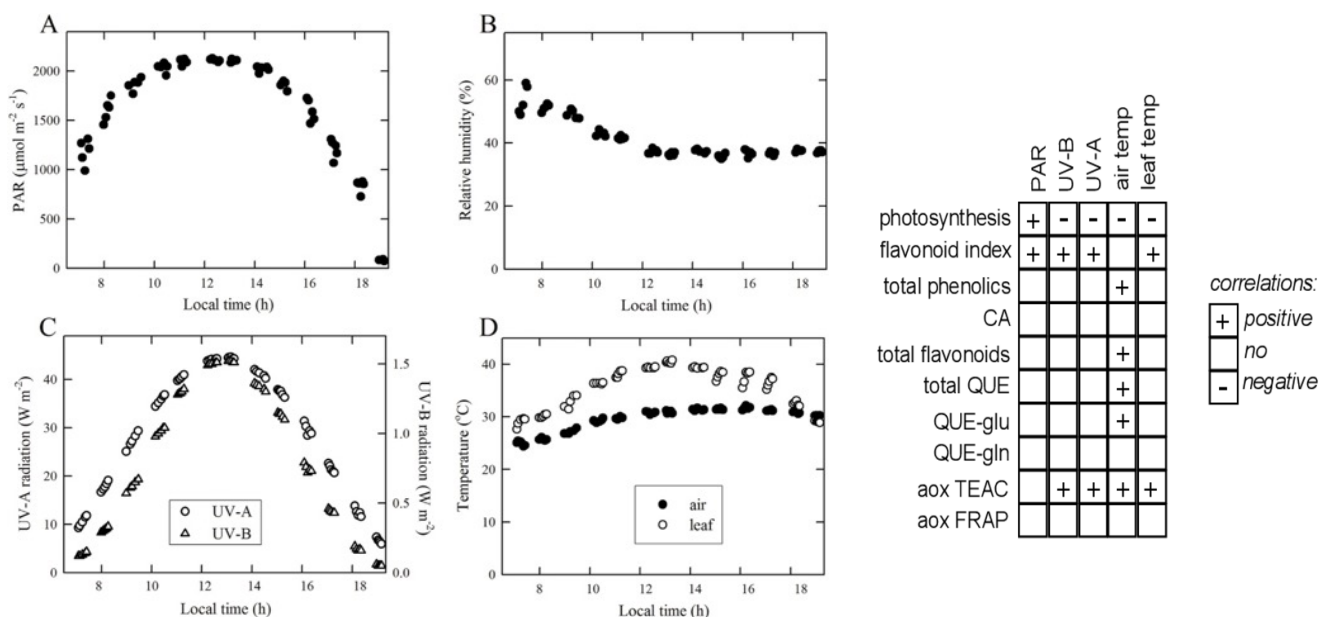
kísérlettel nem tudtuk bizonyítani, de ezt a hipotézist támasztja alá a quercetin-3-triglükózid jelenléte *Pisum sativum* felső epidermális kísérősejtjeiben (Weissenböck és mtsai., 1986), illetve a fenolos-peroxidáz jelenléte a szőlőlevélben (Perez és mtsai., 2002).



3 ábra. A fenoloid összetétel változása a Pinot noir levelekben a kísérlet során (reggel 7 óra és este 7 óra között), melyben a kördiagramok mérete arányos a teljes fenoltartalommal. Que-glu: quercetin-3-O-glükuronid, Que-glc: quercetin-3-O-glükózid, Que-rut: quercetin-3-O-rutinozid, Que-gal: quercetin-3-O-galaktozid, Kae-glu: kaempferol-3-O-glükuronid, Kae-glc: kaempferol-3-O-glükózid. A teljes fenoltartalom, teljes flavonoid tartalom, kaftársav, valamint a Que-glu és Que-glc napi szintű változása lineáris modell segítségével lett jellemezve, a legkisebb négyzetek módszerével (Csepregi és mtsai., 2019).

A flavonoid index pozitív korrelátorai (PAR, UV és levélhőmérséklet) azonban nem mutattak kapcsolatot a fenolos vegyületek koncentrációjával (4. ábra), a Que-glc leszámítva. Nem zárható ki egyéb epidermális, fenolos tulajdonságú metabolit hozzájárulása a flavonoid szint rövid távú változásaiban, úgymint a kumársav és ferulasav jelenléte Garciano szőlőfajta esetében (Del-Castillo-Alonso és mtsai., 2015).

A Que-glc szintjének megfigyelt csökkenése (3. ábra) ezen flavonol epidermiszben történő oxidációját jelezheti akár közvetlenül ROS által (korábbi feltételezés), akár a fenolos peroxidázok számára történő elektronátadás eredményeként. Mindazonáltal a Que-glc epidermiszben való lokalizációját kísérletileg még nem sikerült bizonyítani, csakúgy, mint az oxidált flavonolok azonosítását sem a növényekben. Azonban a fenti hipotézis megmagyarázná a Que-glc és a Que-glu különféle környezeti paraméterekre adott válaszreakcióit.



4 ábra. Bal oldal: A környezeti paraméterek és a levélhőmérséklet változásai a kísérlet során. Jobb oldal: Speciális metabolitok és különféle élettani tényezők közötti összefüggések (Csepregi és mtsai., 2019).

A levélkivonatok teljes antioxidáns kapacitása szoros összefüggést mutatott az UV sugárzással, valamint a levegő hőmérsékletével, azonban nem mutatott korrelációt a fotoszintetikusan aktív sugárzással. Számos növénynél megfigyeltek korábban környezeti ingerekre modulált flavonoid válaszokat, azonban a jelen kísérletben a fenolos vegyületek csak egy kisebb része reagált a környezet változásaira. A levelek teljes antioxidáns kapacitása és fenoltartalma közötti szoros kapcsolat arra utalhat, hogy bizonyos fenoloidoknak in situ antioxidáns funkciója is lehet, bár a jelenleg alkalmazott módszerek nem teszik lehetővé az antioxidáns tulajdonság szövetspecifikus lokalizációhoz való társítását.

A FRAP mérés eredményei csak a kaftársav tartalommal korreláltak, ami összhangban van a különféle speciális metabolitok eltérő antioxidáns tulajdonságaival. Egy korábbi kísérletben ugyanis azt mutattuk meg, hogy a kaftársav körülbelül háromszor reaktívabb a FRAP, mint a TEAC reagenssel szemben, miközben a Que-glc csak kétszeres eltérést mutatott a FRAP javára. Továbbá, a Kae-glc és Kae-glu szinte nem is reagáltak a FRAP mérés során, miközben TEAC értékeik 80-85%-a volt a quercetin származékoknak (Csepregi és mtsai., 2016).

Eredményeink további pozitív korrelációt mutattak a levelek teljes antioxidáns kapacitása és az UV sugárzás (UV-A, UV-B) között, melyet a fenti összefüggések mellett magyarázhat a fotorespiráció során keletkező H_2O_2 , melynek magas szintje beindíthatja az

antioxidáns védelmi válaszokat, ezáltal lehet a levelek antioxidáns kapacitás változásainak napi mozgatórugója.

Milyen metabolikus válaszokat indukál a hirtelen napfényterhelés az árnyékhoz alkalmazkodott szőlőlevelekben?

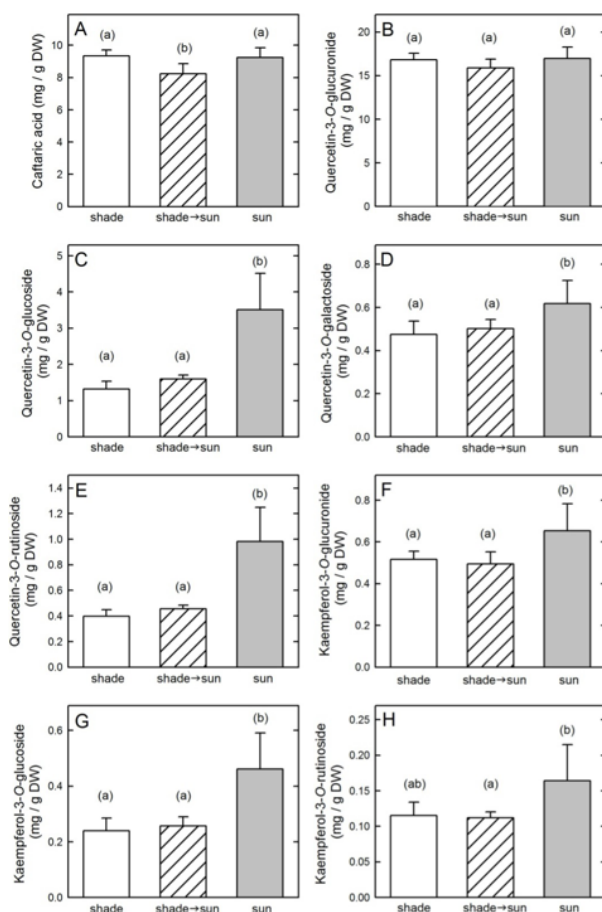
A napfény természetes, széles tartományban történő napi változásai mellett a szőlőleveleket a növénytermesztés sajátosságai folytán fejlődésük egy pontján egy hirtelen, nagy mértékű megvilágításból fakadó változás is érheti. Ez következik be akkor, amikor a mezőgazdasági gyakorlatnak megfelelően a szőlőfürtök érésének kezdetekor (az ún. zsendülés időszakában) a fürtzóna leveleinek egy részét eltávolítják. A fürtök jobb megvilágíttasága mellett ez a fürtzóna árnyékleveleinek teljes napfény (UV és magas PAR) kitettségéhez vezet. Egy következő kísérletben azt vizsgáltuk, milyen a speciális növényi anyagcseretermékek hirtelen bekövetkező, erős napsugárzásra adott változásai, hozzásegíthetik-e ezek a vegyületek a növényt a gyors környezeti alkalmazkodáshoz.

A kísérlethez *Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir szőlőtőkéket választottunk, melyeket Kelet-Nyugat sorirányban ültettek ernyős rendszerben. Az analízishez a kiválasztott növények csaknem feléről a szőlőskerti munkálatoknak megfelelően eltávolítottuk a lombkorona déli oldalán nőtt, napsugárzásnak folyamatosan kitett leveleket (naplevelek), mely által a lombkorona közepén fejlődött, részleges napsugárzásnak kitett levelek (árnyéklevelek) teljes napfénynek való kitettségét eredményezte (napnak kitett árnyéklevelek). A fenti munkálatokat helyi idő szerint 9-10 óra között végeztük el, majd 3 nappal később a levelek begyűjtésre és azonnali lefagyasztásra kerültek. Ugyanabban az időben további, zöldmunkáktól mentes tőkékről is begyűjtésre kerültek a naplevelek és az árnyéklevelek. Minden kezelési csoportot 15 levél képviselt (naplevél, napnak kitett árnyéklevél, árnyéklevél). A begyűjtést megelőzően a levelek non-invazív pigment tartalom becslését, valamint gázcsere paramétereit mértük meg. A levélmintákat felhasználásig -80°C-on tároltuk, majd liofilizáltuk és a fentiekben leírt extrahálási módszerrel kivonatoltuk.

A kísérlet célja annak vizsgálata volt, hogy a hirtelen fellépő erős napsugárzás milyen mértékben befolyásolja a szőlőlevelekben jelen lévő, magas antioxidáns kapacitású (fenolos tulajdonságú) vegyületek szintjét. Arra kerestük továbbá a választ, hogy ezeknek a vegyületeknek a mennyisége független-e a megvilágítási viszonyoktól, vagy azonnali, gyors akklimatizációs válaszként (ROS semlegesítés) is hozzájárulnak a kezdeti fénystressz tolerancia kialakításához. A kísérlet során megállapítottuk, hogy a hirtelen fellépő erős

napsugárzás nem befolyásolta a napfénynek kitett korábbi árnyéklevelek fotoszintetikus hatásfokát, a harmadik napra ezek fotoszintetikus aktivitása az árnyéklevelekre jellemző alacsony és a naplevelekre jellemző magas érték között helyezkedett el, illetve nem záródtak be a sztómáik sem. Ez azt mutatta, hogy a napra került árnyéklevelek alkalmazkodtak a fényviszonyok hirtelen megváltozásához.

A fenolos profil és a TAC mellett a levélkivonatok ROS specifikus antioxidáns képességét is megvizsgáltuk, mert a fényviszonyok hirtelen változása okozhat ROS képződéssel járó fotoinhibíciót (Aro és mtsai., 1993). Az eredmények kiértékelése során sem a teljes antioxidáns, sem a szuperoxid gyök semlegesítő képesség nem különbözött szignifikánsan a különböző levéltípusok között, azonban változott két másik ROS-sal szembeni védekező képességük (hidroxil gyök, szinglett oxigén). A gyökös tulajdonságú molekulák neutralizálást elsősorban a fenolos tulajdonságú vegyületek végzik, így nem okozott meglepetést, hogy koncentrációjuk a naplevelekben magasabb volt, mint az árnyéklevelekben (5. ábra).

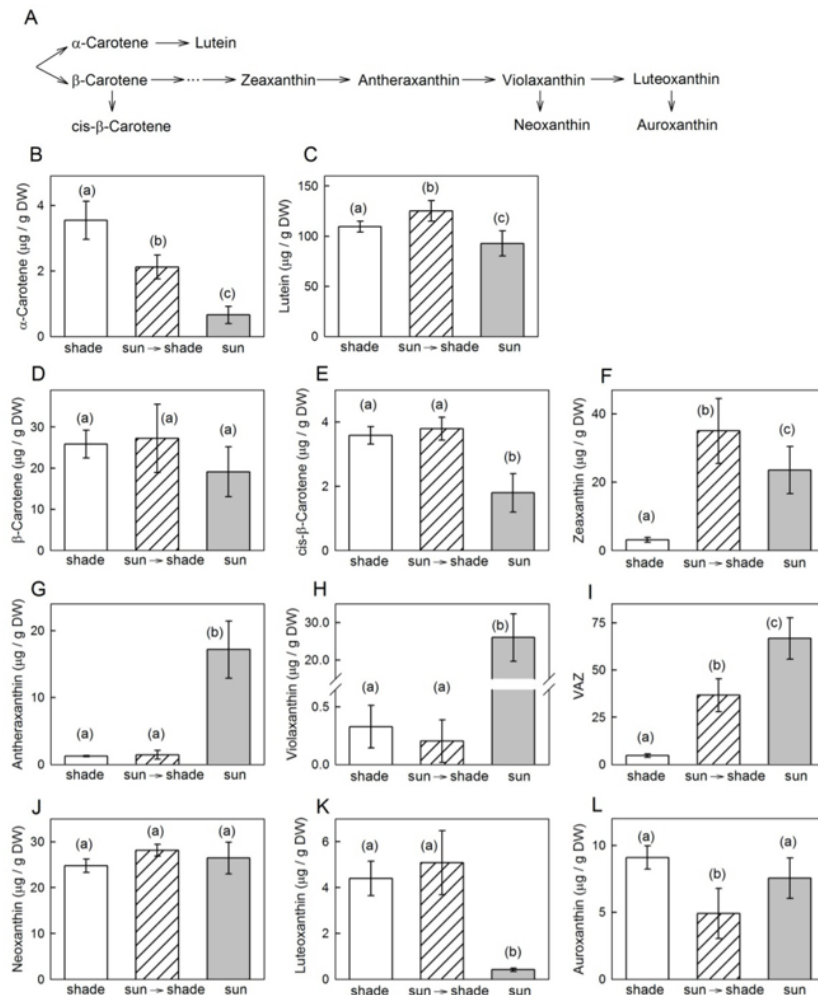


5. ábra. A szőlő levelében megtalálható fenolos tulajdonságú vegyületek mennyiségi összehasonlítása árnyéklevelek (fehér oszlopok), napnak kitett árnyéklevelek (ferdén csíkozott oszlopok) és naplevelek (szürke oszlopok) esetében (Csepregi és mtsai., 2025 kézirat)

A hirtelen napfényre került levelek esetében azonban nem találtunk szignifikáns polifenol tartalom emelkedést (5. ábra), így arra következtethetünk, hogy bár a teljes fenol tartalomban nem következett be szignifikáns változás, a speciális metabolitok levélbeli helyzete megváltozhatott, ezért megmértük a levelek epidermális flavonoid indexét, Dualex készülék segítségével. Mind az epidermális flavonoid, mind az epidermális antocianin paraméterek közös jellemzője, hogy mindkét levéloldalon magasabbak voltak az értékeik a naplevelekben, mint az árnyéklevelekben. A kilevelezés során a napnak kitett árnyéklevelekben mért értékek mindkét epidermális pigment esetében az árnyék- és a naplevelek jellemzői között voltak.

A vizsgált szőlőlevelek mindegyik csoportjában a legnagyobb mennyiségben előforduló fenolos tulajdonságú vegyületek a kaftársav (hidroxi-fahéjsav) és Que-glu (flavonoid) voltak, azonban minor komponensként Que-glc és további glikozidált quercetin és kaempferol származékokat is azonosítottunk. Mindkét domináns fenoloid azonos mennyiségben volt jelen a naplevelekben és árnyéklevelekben egyaránt, azonban a Que-glu kívül mindegyik polifenol nagyobb mennyiségben fordult elő a naplevelekben, mint az árnyéklevelekben. A háromnapos erős napsugárzásnak nem volt kimutatható jelentős hatása a triketid cinnamoidokra (kaftársav), mely enyhe csökkenést mutatott (5. ábra).

A fénystressz elleni védelemben a fenolos vegyületek és az antociánok mellett a speciális anyagcseretermékek egy másik csoportjának tagjai, a terpének legegységesebb anyagszintje, a karotinoidok is részt vesznek, melyek nagyon hatékony fizikai és kémiai ROS kioltó képességgel rendelkeznek (Stahl és Sies, 2003), továbbá az α -karotinból származtatható lutein, illetve a β -karotinból származtatható xantofilok (elsősorban a zeaxanthin) is nélkülözhetetlen szerepet töltenek be az erős, fény okozta stresszválaszokban (Dall'Osto és mtsai., 2012). A xanthophyll pool komponensek (zeaxanthin, antheraxanthin, violaxanthin: VAZ) elemzése azt mutatja, hogy a napnak kitett árnyéklevelekben megkezdődött a napfényhez történő alkalmazkodás (6. ábra). A VAZ pigmentek teljes mennyisége még nem érte el a naplevelek szintjét (6I. ábra), de a zeaxanthin koncentrációja magasabb volt, mint a naplevelekben (6F. ábra), feltehetően a nagy fényintenzitás okozta fénystressz csökkentésének érdekében (nem fotokémiai kioltás). A vizsgált szőlőlevelek a xantofill ciklusban résztvevő VAZ komponensek mellett auraxanthint is tartalmaztak (6L. ábra).



6. ábra. A karotinoidok bioszintézisének sematikus ábrája, illetve a szőlő levelében megtalálható karotinoidok mennyiségi összehasonlítása árnyéklevelek (fehér oszlopok), napnak kitett árnyéklevelek (ferdén csíkozott oszlopok) és naplevelek (szürke oszlopok) esetében (Csepregi és mtsai., 2025 kézirat)

Izolált fénybegyűjtő antenna komplexeken végzett kutatások megmutatták, hogy az auraxanthin, a zeaxanthinhez hasonlóan befolyásolja a fénybegyűjtő antenna működését, ami utalhat arra, hogy a xantofill ciklus karotinoidjai in vitro közvetetten és nem a klorofill gerjesztett állapotainak kioltásával szabályozzák a kioltást (Ruban és mtsai., 1998). Kísérletünkben az auraxanthin mennyisége nem különbözött szignifikánsan a naplevelek és az árnyéklevelek között, ami azt mutatja, hogy a szőlőlevelekben a fent megnevezett mechanizmus kisebb szerepet játszik a fényhez való alkalmazkodásban, mint a zeaxanthinhez kapcsolódó kioltási folyamatok. Ezt a feltételezést támasztja alá, hogy a zeaxanthin tartalom emelkedésével szemben, a napfényre került árnyéklevelekben az auraxanthin mennyisége csökkent (6. ábra).

Az eredményeink azt mutatják, hogy a genetikai adaptáció (a szőlőlevelek fenolos vegyület tartalmának és antioxidánsok kapacitásának árnyéklevelekben is megfigyelhető magas

alapszintje) és a gyors akklimatizációs válaszok (a karotinoidok, különösen a zeaxantin tartalmának növekedése; a ROS hatékonyabb semlegesítése) kombinációja alkothatja az elsődleges fénystressz toleranciát, ami lehetővé teszi a PAR és UV gyors változásához történő sikeres alkalmazkodást.

A természetes UV sugárzás hatásai a szőlő levelében megtalálható fenolos vegyületek mennyiségére arra utalnak, hogy hasonló hatás érhető el mesterséges UV fényforrás alkalmazásával, ráadásul nemcsak szőlőlevelekben, hanem más növényfajokban, sőt szövetekben. A következőkben három, ezt igazoló kísérlet sorozat eredményeit mutatom be.

Milyen minőségi és mennyiségi változásokat idéz elő a post-harvest UV kezelés a szőlőbogyó héjának fenolos összetevőiben?

A korábbiakban megvizsgáltuk a szőlő levelének fenolos tulajdonságú vegyületeinek változását egy nap leforgása alatt, illetve megvizsgáltuk milyen lehetséges szerepet tölthetnek be a fénystressz toleranciában. Jelen kísérletben a szőlőnövény termésében, elsősorban a bogyóhéjban felhalmozott speciális metabolitokat vizsgáltuk annak érdekében, hogyan befolyásolhatja egy UV utókezelés a szőlőbogyók héjának fotokémiai paramétereit, illetve hogyan befolyásolja ez a szőlőbogyók metabolit válaszait. A kérdés azért érdekes, mert egy szüret utáni UV kezelés fontos szerepet játszhat a gyümölcsök minőségének és antioxidáns tartalmának megőrzésében, ha a gyümölcsöket a szüret után a fogyasztásig még napokig tárolják.

A kísérlet során kettő fajta fehér csemegeszőlő (Szőlőskertek királynője (QV) és Fehér szultán (WS)) érett, leszüretelt fürtjeit kezeltük 30 percig $0,6 \text{ Wm}^{-2}$ UV dózissal megvilágítva (VL-215.LM, *Vilber-Lourmat*, France). A kezelés után a bogyófürtöket 20°C hőmérsékleten tároltuk, a kereskedelmi forgalomban való tároláshoz hasonlatosan, és az UV kezelés után 2, 8, 24, 36 és 48 óra elteltével vettünk mintákat bogyónyúzat formájában, és hasonlítottuk össze az UV kezelt és az UV kezelés nélkül tárolt (kontroll) bogyóhéjak fenoloid profilját, antioxidáns tulajdonságait és fotoszintézis aktivitását. A szőlőbogyó a levelekből az érés során metabolitokat vesz fel, különösen a termésfejlődés korai szakaszában, illetve képes a fotoszintézisre (Blanke és Lenz, 1989).

A bogyóhéj fenoloid összetétele nagyon hasonló a fehér és a kék szőlő fajták esetében, kivéve az antocianinok előfordulását az utóbbiban. Ennek megfelelően mind a QV és a WS esetében a domináns fenolos sav a kaftársav (CA) volt, a legnagyobb mennyiségben előforduló flavonoidok pedig a 3-O-glikozilált flavonolok voltak (7. ábra), hasonlóan egy már korábban

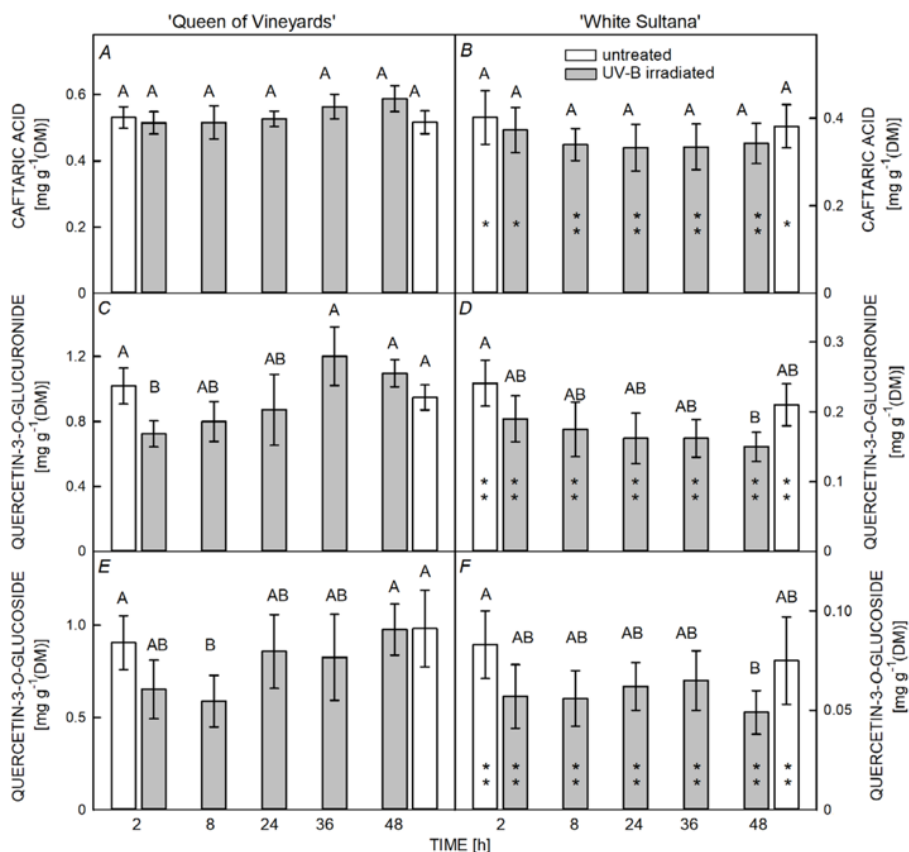
vizsgált csemegezőlő fajtához (Csepregi és mtsai. 2019). Mindkét fajta bogyó héja a legmagasabb koncentrációban Que-glu, a második legmagasabb koncentrációban pedig Que-glc tartalmazott, habár eltérő mértékben. Mindkét speciális metabolit a WS fajtában volt alacsonyabb koncentrációban, négyszer kevesebb volt a Que-glu tartalma, illetve tízszer kevesebb a Que-glc tartalma, mint a QV fajta esetében.

Szignifikáns változásokat figyeltünk meg a QV bogyók Que-glu és Que-glc tartalmában, mely az UV-kezelés után 2 és 8 órával csökkent, de hosszabb tárolás során visszaállt a kontroll szintjére (7. ábra), míg a WS fajta esetében az UV kezelés tartósan csökkentette a Que-glu tartalmat. A megfigyelt csökkenést eredményezhette ROS és más szabad gyökökkel történő közvetlen reakciók, illetve elektron átadás a fenolos peroxidázoknak. A hipotéziseket alátámasztja a glikozilált quercetin származékok erős antioxidáns tulajdonságai (Csepregi és mtsai. 2016, Csepregi és Hideg 2018), illetve peroxidáz szubsztrátként való működésük (Rácz és mtsai. 2020). A bogyóhéjak peroxidáz aktivitásának átmeneti növekedése lehet egy magyarázata a QV és WS flavonoidok megfigyelt csökkenésének.

A kísérletben alkalmazott két teljes antioxidáns kapacitás vizsgálat jól mutatja az összes extrahálható speciális metabolit általános, elektron átadással történő antioxidáns kapacitását (Huang és mtsai. 2005), bár a különböző fenolos vegyületcsoportok eltérő reaktivitással rendelkeznek az adott kromofórral szemben (Csepregi és mtsai. 2016). Mindkét módszer alátámasztotta, hogy a QV minták antioxidáns kapacitása magasabb volt, mint a WS mintáké, és hogy az UV kezelés tartósan csökkentette az antioxidánsok mennyiségét, mely követi a fenolos profil változását. A QV antioxidáns kapacitásának és flavonoid tartalmának változásai közötti hasonlóságok az UV kezelést követő 48 órás időszak alatt arra utalnak, hogy a Que-glu és a Que-glc elsősorban antioxidánsként funkcionálnak a bogyókban, bár egyelőre nincsen bizonyíték ezen hipotézis alátámasztására.

A QV és a WS bogyók UV előkezeléssel szembeni eltérő érzékenységének az oka az alacsonyabb alap antioxidáns koncentráción kívül az is lehet, hogy a WS bogyók esetében mind az UV-B, mind az UV-A sugárzás hatékonyabban jut be a bogyók héjába, mint a QV fajtánál. A héjvastagság ismerete mellett (Reynolds, 2015) a héjkivonatok spektrofotometriás eljárással mért eredményei azt mutatták, hogy a QV mintáinak körülbelül kétszer, illetve háromszor nagyobb volt az UV-B és az UV-A abszorbanciája, mint a WS mintáké. A héjkivonatok abszorpciós értékei arra utaltak, hogy az alkalmazott széles sávú (UV-B és UV-A) fényforrásból származó sugárzás mélyebben hatolt be a WS, mint a QV bogyókba. $QV > WS$ A kísérletben azt is megmutattuk, hogy az érett szőlőbogyók még a szüret után is fotoszintetikusán aktívak, szöveteik képesek a változásokra, melyek hozzájárulhatnak a bogyóhéj metabolikus profil

válaszaihoz. A QV bogyóhéjak fotoszintetikus aktivitása magasabb voltak, mint a WS mintáké; ami magyarázhatja az előbbieket jobb antioxidáns tulajdonságait és eredményesebb UV védelmét. Az eredmények továbbá alátámasztják, hogy a gyümölcs minőségének szüret utáni megváltoztatása lehetséges UV kezeléssel (Csepregi és mtsai., 2021).



7 ábra. A főbb fenolos vegyületek mennyiségi összehasonlítása a „Queen of Vineyards” és a „White Sultana” bogyóhéj kivonatokban. A szürke oszlopok az UV kezelés után különböző mért időpontokban mért értékeket, míg a fehér oszlopok a kezelés nélkül tárolt minták adatait jelölik (Csepregi és mtsa., 2021)

Az előzőek alapján láthatjuk, hogy egy mesterséges UV előkezelés képes a növény fenolos mintázatának a megváltoztatására (szőlőbogyó héj), így a továbbiakban egy nemzetközi kooperáció keretében elért eredményeket szeretném bemutatni, mely kiemelt figyelmet fordít az UV-indukálható antioxidáns védelmi funkciókra. A kísérlethez egy új modellnövényt, a mentát választottuk, miközben azt vizsgáltuk, hogy milyen védelmi mechanizmusokat indukálhat egy UV előkezelés laboratóriumi körülmények között.

Az UV kezelés milyen védelmi mechanizmusokat indukál a menta növényben, képesek lehetünk növelni az abiotikus stressz toleranciát UV előkezeléssel?

A kutatás célja annak a megértésére irányult, hogy az UV sugárzás használható-e eszközként a kontrollált körülmények között nevelt növények későbbi stressztűrő képességének fokozására, illetve milyen védelmi mechanizmusokat indukálhat a növényekben az UV előkezelés.

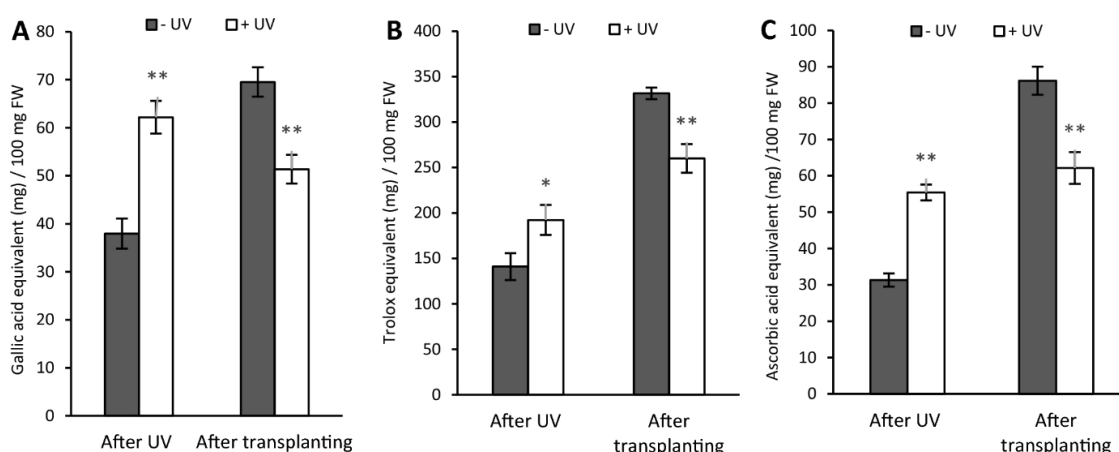
Azt feltételeztük, hogy a menta palánták (*Mentha spicata* L.) kis dózisú UV sugárzással történő kezelése enyhítheti a kezelés után bekövetkező szárazság hatását, amelyet a például a páratartalom változása okozhat a növények átültetésekor. A növények 30 napig táptalajon (félkoncentrációjú, szacharózt nem tartalmazó Murashige-Skoog táptalaj), lezárt szövettenyésztő edényekben nevelkedtek (RA40 műanyag szövettenyésztő edény, Sac 0₂, Deize, Belgium). Az UV kezelést megelőzően a szövettenyésztő edények UV-B kizáró Mylar (Tocana Ltd., Balymount, Írország), illetve UV-B áteresztő cellulóz-diacetát (Kunststoff-Folien-Vertrieb GmbH, Hamburg, Németország) fóliával lettek bevonva. Az UV-B kezeléshez fénycsőket (Philips TL40W/12) használtunk, napi 4 órán keresztül (12:00-16:00), 8 napig. A cellulóz-diacetát szűrő alatt nevelkedett növények összesen ~0,5886 W/m² (0,3661 W/m² UV-A és 0,2225 W/m² UV-B) UV dózist (+UV), míg a Mylar szűrő alatt nevelkedett növények összesen ~0,2498 W/m² (0,2464 W/m² UV-A és 0,0034 W/m² UV-B) UV dózist (-UV) kaptak. A kezelés során kiegészítő fotoszintetikusan aktív sugárzást (~180 μmol m⁻² s⁻¹) is érte a növények leveleit, melyet LED fénycsővek biztosítottak (L18C, Valoya, Finnország). Az UV lámpa esetleges UV-C komponensének kiszűrésére minden esetben cellulóz-diacetát szűrőt alkalmaztunk.

Ezután a növényeket talajba ültettük át és egy alkalommal megöntöztük, majd 7 nap múlva begyűjtöttük a leveleket további analízis céljából. Megállapítottuk, hogy az UV előkezelés nélkül a menta növényeken a talajba való átültetést követően a szárazság stressz hatására nekrotikus foltok alakultak ki a leveleken, de ez nem volt jellemző az UV-val előkezelt növényekre. Az UV előkezelés nem befolyásolta a levelek fotoszintetikus hatásfokát, azonban az átültetés után az Y(NPQ) értéke minden növény esetében megemelkedett.

A teljes antioxidáns kapacitást a korábbi kísérletekhez hasonlóan háromféle módszerrel vizsgáltuk, mert a különféle TAC módszerek a fenolos tulajdonságú vegyületeket hasonlóan, de nem teljesen azonos módon értékelik, mely hangsúlyozza, hogy biológiai kísérletekben érdemes a többféle eljárás együttes alkalmazása (Csepregi és mtsai., 2016). A Folin-Ciocalteu méréssel mért összes antioxidáns tulajdonságú vegyület koncentrációja megemelkedett a

kísérlet során (8 nap), a kontroll növények leveleiben. Közvetlenül az UV expozíciót követően az UV pozitív hatást gyakorolt a fenolos tulajdonságú vegyületek mennyiségére, ami az UV kezelt növényekben szignifikánsan magasabb koncentrációt eredményezett a kontroll növényekhez képest. Ez a hatás azonban átmeneti volt, egy héttel az UV kezelés után a korábban UV sugárzásnak kitett növényekben az összes fenolos tulajdonságú vegyület koncentrációja szignifikánsan csökkent, míg a kontroll növényekben szignifikánsan nőtt (9. ábra). Hasonló tendencia volt megfigyelhető a TEAC módszerrel mért teljes antioxidáns kapacitás esetében is. Közvetlenül az UV kezelést követően a TEAC szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott a kontroll, mint az UV sugárzást kapott növények esetében. Az ezt követő egy hétben az UV előkezelt növények TEAC értékei emelkedtek, azonban az antioxidáns értékek növekedése sokkal jelentősebb volt a kontroll növények esetében (9. ábra). Hasonlóképpen, közvetlenül az UV kezelést követően a FRAP eredmények is szignifikánsan magasabbak voltak az UV kezelt növényekben, mint a kontrollban.

A leggyakoribb növényi stresszválasz a növényi antioxidáns védelmi rendszer aktiválódása (Kasote és mtsai., 2015). Az átültetést követően minden növénynél az antioxidáns értékek erőteljes növekedése a megfigyelhető (speciális metabolitok). Érdekes módon, a kontroll növényekben (az UV előkezelés hiányában) a teljes antioxidáns kapacitások nem növekedtek párhuzamosan az összes flavonoid és más, UV abszorbeáló tulajdonságú vegyület mennyiségének növekedésével. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy egy UV előkezelés hozzájárulhat a növények túlélési és alkalmazkodási képességeinek javításához, különösen az átültetés vagy a szárazság okozta stressz esetén.



9 ábra. A növények Folin-Ciocalteu (FC), Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) és Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) módszerekkel mért teljes antioxidáns kapacitás értékei. A mérések közvetlenül az UV kezelés, illetve a felépülési fázis végeztük el. A szürke oszlopok a nem kezelt kontrollokat, míg a fehér oszlopok az UV kezelt mintákat jelölik (Crestani és mtsai., 2023)

A leggyakoribb növényi stresszválasz a növényi antioxidáns védelmi rendszer aktiválódása (Kasote és mtsai., 2015). Az átültetést követően minden növénynél az antioxidáns értékek erőteljes növekedése a megfigyelhető (speciális metabolitok). Érdekes módon, a kontroll növényekben (az UV előkezelés hiányában) a teljes antioxidáns kapacitások nem növekedtek párhuzamosan az összes flavonoid és más, UV abszorbeáló tulajdonságú vegyület mennyiségének növekedésével. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy egy UV előkezelés hozzájárulhat a növények túlélési és alkalmazkodási képességeinek javításához, különösen az átültetés vagy a szárazság okozta stressz esetén.

A fenti, különböző növényfajokkal végzett kísérletek azt mutatták, hogy mind a természetes napfényben tartalmazott, mind a mesterséges forrásból származó UV sugárzás képes a levelek fenolos profiljának megváltoztatására. Utóbbi jó eszköz lehet a beltéri növénytermesztés során a levelek stressz toleranciájának fokozására, illetve kertészeti környezetben, ahol a növények UV-B sugárzással történő kezelése egyfajta vegyszermentes, olcsó és hatékony eszközként lenne használható.

A kültéri és beltéri termesztés körülményei azonban számtalan paraméterben eltérhetnek egymástól és a fenolos vegyületek indukciójában az UV mellett más környezeti tényezők (fotoszintetikusán aktív fény, hőmérséklet, stb.) is szerepet játszhatnak. Ezért megvizsgáltuk dohány növények segítségével, hogy a természetestől eltérő, beltéri környezetben, növénynevelő kamrákban nevelt növények fenoloid koncentrációja milyen mértékben indukálható mesterséges UV megvilágítással, és mennyire tér el ez a természetes, esetenként kedvezőtlen környezeti körülmények között a szabadban nevelkedett növények fenoloid koncentrációjától.

Milyen mértékben növelhető beltérben, a természetesnél sokkal alacsonyabb megvilágítás alatt, egyenletes hőmérsékleten nevelt növények fenolos vegyületeinek mennyisége mesterséges UV kezeléssel?

Az eddigi vizsgálatok során megállapítottuk, hogy az UV sugárzás különböző növényfajok esetében (szőlő, menta), illetve különböző növényi szövetekben (bogyóhéj, levél) képes befolyásolni a speciális metabolitok szintjét. Az új kísérlet során dohánynövényeket (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi) neveltünk beltéri és kültéri körülmények között annak érdekében, hogy megállapítsuk milyen mértékben fokozható a speciális növényi anyagcseretermékek felhalmozódása mesterséges UV-B sugárzás (Q-Panel UVB-313EL fénycső) alkalmazásával a természetes napfény hatásaival összehasonlítva. A beltéri kísérlet

során a növényeket növénynevelő kamrában neveltük ($110\text{--}125\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ PAR), hosszúnappalos körülmények között (16/8 óra, $25/20\ ^\circ\text{C}$). A csírázást követő ötödik héten a növényeket négy napon keresztül UV-kezelésnek vetettük alá, naponta 10:00 és 14:00 óra között. Az UV lámpa esetleges UV-C komponensének kiszűrésére minden esetben cellulózdiacetát szűrőt alkalmaztunk (Courtaulds Chemicals, Derby, UK). Az első csoportban (PAR+UVA+UVB) nem használtunk további szűrőfóliát, a másodikban (PAR+UVA) egy UVB-t kizáró, de UVA-t átteresztő poliészter fóliát alkalmaztunk (Autostat CT5, Thermoplast, Helsinki, Finnország), míg a harmadik csoportban (PAR) egy teljes UV kizárást valósítottunk meg (R3114, Roscolab, London, UK).

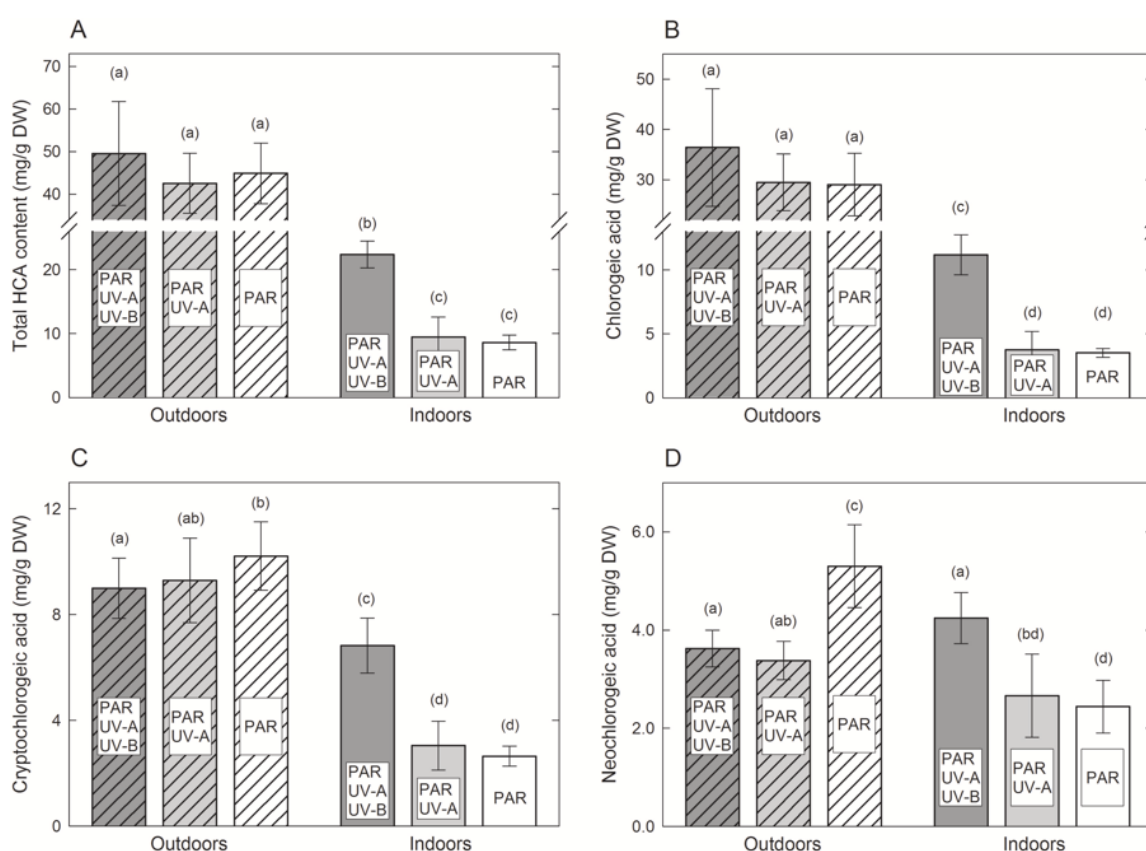
A beltéri kísérlettel párhuzamosan szabadföldi körülmények között is neveltünk növényeket a nyár folyamán, július hónapban. Ezeket először két hétig növénynevelő kamrában tartottuk optimális körülmények mellett, majd kiültettük és 25 napon keresztül a fentebb már ismertetett fóliákat használva neveltük őket természetes környezetben teljes napfényben (PAR+UVA+UVB), részben (PAR+UVA), vagy teljes mértékben (PAR) UV mentesített körülmények között. A kísérlet ideje alatt a vizsgált földrajzi szélességen ($\text{É } 46,07^\circ$, $\text{K } 18,18^\circ$) a nappalok átlagosan 15 óra és 42 perc hosszúak voltak, míg az átlagos nappali és éjszakai hőmérséklet $25,4\ ^\circ\text{C}$, illetve $22,1\ ^\circ\text{C}$ (<https://joido.ttk.pte.hu/en/informaciok/>). A globális sugárzás a kísérlet során $\sim 400\ \text{W/m}^2$ volt, míg a fotoszintetikusan aktív sugárzás az utolsó napon délidőben $\sim 1540\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ értéket ért el.

A kísérletek végén a levelek epidermális pigment tartalmát és fotoszintetikus paramétereit is meghatároztuk, majd megmértük a levélminták teljes antioxidáns kapacitását (TAC), valamint specifikus ROS kioltó képességét. Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) analízist is végeztünk a speciális metabolitok minőségi és mennyiségi meghatározására, különös figyelmet fordítva a fenolos savakra és a flavonoidokra. Mindkét kísérletben azt tapasztaltuk, hogy az UV-B jelenléte nem csökkentette a levelek fotoszintetikus aktivitását, vagyis a növények alkalmazkodtak az UV jelenlétéhez. Az UV tehát nem károsító tényező volt, hanem fokozta a mért metabolitok koncentrációját.

A HPLC analízis mind a beltéri, mind a kültéri minták esetében ugyanazokat a fenolos vegyületeket mutatta ki, azonban a PAR és a különböző UV viszonyok jelentősen befolyásolták a vegyületek mennyiségi arányait. Az analitikai mérések során tehát nem találtunk olyan fenolos vegyületet, melyet csak a napfény indukált, a mesterséges UV forrás nem.

A dohánylevelek leggyakoribb fenolos sava a klorogénsav (CGA) volt, de kimutattunk kriptoklorogénsavat (CCGA) és neoklorogénsavat (NCGA) is. A kültéri levelekben magasabb volt a teljes fenolos sav tartalom, mint a beltérben nevelt mintákban, amit a magas PAR

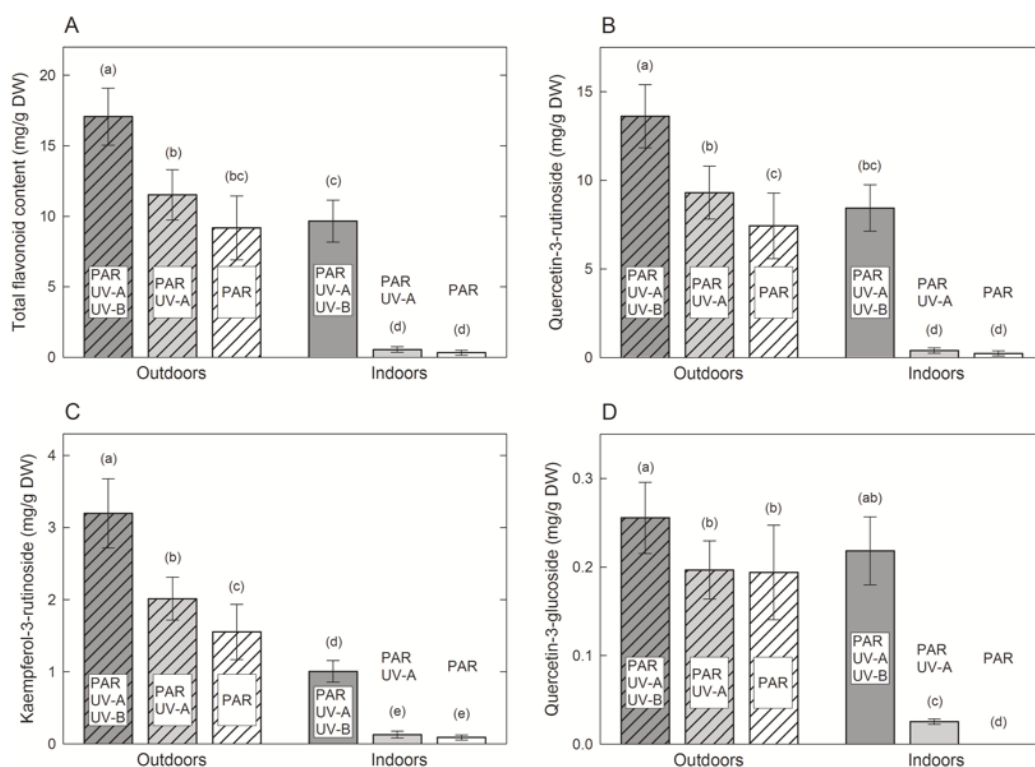
intenzitás által is fokozható bioszintézis magyarázhat (Klem és mtsai., 2015). Kültéri körülmények között a napfény UV sugárzás nem módosította szignifikánsan a fenolos savak koncentrációját, míg beltéren az UV-B kezelés megnövelte ugyan szintjüket, de nem tudta teljes mértékben kompenzálni a PAR szintek különbségeit, így a teljes fenolos sav tartalom körülbelül a kültéri érték felét érte el. Az NCGA esetében a beltéri UV-B kezelés a kültéri szinteket érte el, míg a CCGA esetében a kültéri értékek mintegy 75%-át. Érdekes módon a természetes UV-B sugárzás ellentétes hatást gyakorolt az NCGA és CCGA mennyiségére, ugyanis koncentrációjuk alacsonyabb volt a teljes napfényben termesztett levelek esetében, mint a szabadban csak láthatófénynek (PAR) kitett levelek esetében (10. ábra).



10. ábra. A teljes hidroxi-fahéjsav (HCA) tartalom (A), valamint az egyes HCA-vegyületek mennyisége (B–D) látható az ábrán, amelyek HPLC analízissel azonosíthatók a dohánylevelekben. A sötétszürke oszlopok a PAR+UV, a világosszürke az UVA+PAR, míg a fehér csak a PAR viszonyokat jelölik. Az oszlopok csíkozottságának a mértéke a kültéri, illetve beltéri körülményeket reprezentálják (Csepregi és mtsai., 2025)

Feltételezhetően a klorogénsavak közvetlen stresszvédő funkciót töltenek be, miközben prekursorai is a flavonoid bioszintézisnek, például az eriodiktio- és dihidroquercetin útvonalon keresztül. Ez alternatívát kínál a naringenin-dihidrokaempferol-dihidroquercetin útvonallal

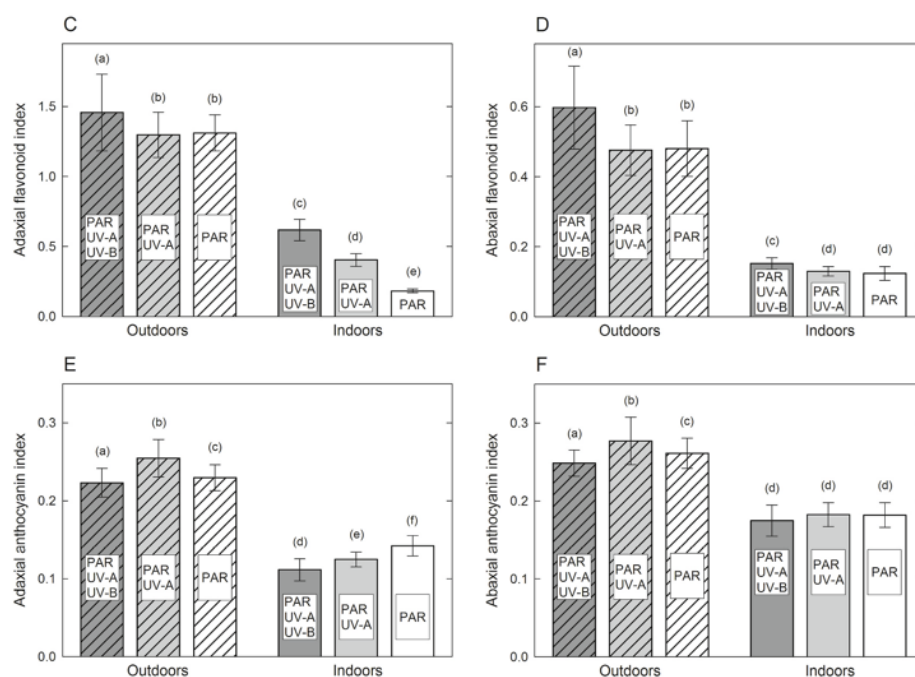
szemben, amelyben a klorogénsavak nem vesznek részt. A CCGA és NCGA szintek UV-B indukált növekedése beltéri körülmények között ugyanis arra utalhat, hogy a hidroxiflavon-szintáz (HTC) enzim ezen szubsztrátokat részesíti előnyben a CGA-val szemben, ezáltal a metabolikus folyamatok a quercetin bioszintézisének irányába tolódnak. Ezt a hipotézist alátámasztja a kaempferol/quercetin arány növekedése, amelyet korábbi vizsgálatok is kimutattak UV sugárzásnak kitett növények leveleiben (Hofmann és mtsai., 2000; Majer és mtsai., 2014), valamint beltéri kísérletünk eredményei is ezt a hipotézist támasztják alá (11. ábra). UV hiányában a beltéri levelek flavonoid tartalma mindössze a kültéri levelek 3%-át érte el, amit a flavonoid bioszintézis erős PAR függése magyaráz. Ezt a különbséget az UV-A nem, az UV-B viszont nagymértékben csökkentette, és még a viszonylag rövid (négynapos) mesterséges UV-B kezelés is a természetes kültéri flavonoid tartalom 57%-ára emelte a beltéri levelek tartalmát (11. ábra).



11. ábra. A teljes flavonoid tartalom (A), valamint az egyes flavonol vegyületek mennyisége (B–D) látható az ábrán, amelyek HPLC analízissel azonosíthatók a dohánylevelekben. A sötétszürke oszlopok a PAR+UV, a világosszürke az UVA+PAR, míg a fehér csak a PAR viszonyokat jelölik. Az oszlopok csíkozottságának a mértéke a kültéri, illetve beltéri körülményeket reprezentálják (Csepregi és mtsai., 2025)

A folyadékkromatográfiás analízis kimutatta, hogy mind kültéren, mind beltéren a fő flavonoidok a 3-*O*-glikozilált flavonoidok voltak, úgymint quercetin-rutinozid, kaempferol-rutinozid, quercetin-glükózid és kaempferol-glükózid. Mindazonáltal sem kültéri, sem beltéri körülmények között nem figyeltünk meg jelentős változást az összmennyiségekben, azonban a természetes UV-B sugárzás szignifikánsan növelte az összes komponens, különösen a rutinozidok koncentrációját a levélben. Kültéren a teljes kaempferol és quercetintartalom nem mutatott szignifikáns változást, beltéren azonban az UV-B kezelés közel háromszoros növekedést eredményezett. A beltéri rutinozid szintek ezáltal megközelítették a kültéri koncentrációs értékeket. A Que-glc erőteljes növekedése azzal magyarázható, hogy ezen vegyület a Que-rut prekursora (Koja és mtsai., 2018).

A kísérlet során az optikai módszerrel mérhető epidermális flavonoid index és a HPLC segítségével meghatározott teljes flavonoid tartalom összehasonlítása rámutatott az epidermális UV szűrés jelentőségére. Míg kinti, természetes körülmények között az adaxiális oldal epidermális szintje csak mérsékelten emelkedett (12. ábra), addig a teljes levél flavonoid tartalma jelentős, csaknem 2-szeres növekedést mutatott (11. ábra), ami a mezofill sejtekben betöltött antioxidáns és stresszvédő szerepre utalhat.



12. ábra. A flavonoid (C-D) és az antocián (E-F) indexek a dohánylevelek adaxiális és abaxiális oldalán. A sötétszürke oszlopok a PAR és teljes UV sugárzást, a világosszürke oszlopok a PAR+UV-A, míg a fehér oszlopok csak PAR értékeket mutatják. Az oszlopok csíkozottsága a beltéri és a kültéri körülményeket jelölik (Csepregi és mtsai., 2025)

Összefoglalva, a kültéri és beltéri körülmények között nevelt dohánylevelek fenolos profiljainak összehasonlítása megmutatta, hogy az UV-B sugárzás beltéri, a természetes napfényéhez képest 10, illetve 20-szor alacsonyabb PAR intenzitás mellett is képes bizonyos vegyületek (CCGA, Que-rut) mennyiségét a kültéri szintek közelébe, vagy akár azokra (NCGA, Que-glc) emelni. Fontos hangsúlyozni, hogy a beltérben alkalmazott UV dózis nem károsította a fotoszintézis hatásfokát, tehát a megfigyelt változások akklimatizáló, eustressz válaszok voltak. A vizsgált vegyületek mennyiségi növekedése többféle ökológiai és fiziológiai funkcióval is összefüggésbe hozható, beleértve a közvetlen antioxidáns hatást, valamint ezeknek a puffervegyületeknek a fokozott elérhetőségét, amelyek lehetővé teszik a fenoloid bioszintézis gyors beindítását, illetve átrendeződését (Volpi e Silva és mtsai., 2019).

A teljes levélkivonatok HPLC analízise alapján elmondhatjuk, hogy a beltéri UV-B kezelés két HCA (CCGA, NCGA) és két flavonoid (Que-rut, Que-glc) mennyiségét a kültéri értékek körülbelül 62–117%-ára emelte, bizonyos esetekben meg is haladva azokat (NCGA esetében 117%). Eredményeink arra utalnak, hogy egy rövid és költséghatékony beltéri UV-B kezelés (4 nap) alkalmas lehet a növények metabolikus profiljának befolyásolására, és részben kiválthatja a természetes PAR és UV hatásait. A lehetséges termesztésbeli alkalmazásokhoz további vizsgálatok szükségesek különböző növényfajok, valamint eltérő UV-B és UV-A hullámhossz tartományok és dózis kombinációk használatával.

Új tudományos eredmények

1. A szőlő leveleiben jelen lévő fenolos tulajdonságú vegyületek szintje a nap folyamán nem állandó, hanem a változó környezeti tényezőktől függően moduláltak. Kísérletünkben igazoltuk, hogy elsősorban a hőmérséklet hatása befolyásolja a speciális metabolitok rövid távú, napi szintjének változásait (flavonoidok, fenolos savak), nem a fényviszonyok cirkadián változása (Csepregi és mtsai., 2019).

2. A szőlőlevelekben a flavonoidok (quercetin-glükuronid, quercetin-glükozid, quercetin-rutinozid, kaempferol-glükuronid, kaempferol-glükozid, kaempferol-rutinozid) és fenolos savak (kaftársav) eltérő mértékben reagálnak a napi hőmérséklet ingadozásra. A folyadékkromatográfiásan kimutatható főkomponensek közül a quercetin-glükuronid szintje emelkedő, míg a quercetin-glükozid szintje csökkenő napi tendenciát mutat. A kísérletben megfigyelt csökkenés ezen flavonol közvetlen ROS általi oxidációját jelezheti, alacsony szinten tartva ezen molekulákat (Csepregi és mtsai., 2019).

3. A kilevelezéssel járó hirtelen napfényterhelés nem eredményez jelentős polifenol koncentráció növekedést a szőlő árnyékleveleiben. Bár a polifenolok fontos, antioxidáns tulajdonságú vegyületek, mennyiségi változásaik nem azonnali válaszreakciói a megvilágítás gyors változása által okozott stressznek, de a gyors fényakklimatizációs mechanizmusok más anyagcseretermékekre épülnek. A karotinoidok kulcsszerepet játszanak a napfény okozta stresszválaszok kivédésében, a hirtelen napfényre került levelekben a gyors akklimatizáció egyik alappillére a xantofill-ciklus aktiválása, a naplevelekénél is magasabb zeaxanthin szint alkotja (Csepregi és mtsai., 2025, kézirat).

4. A szőlőlevelek napfényhez való alkalmazkodása egy kettős mechanizmuson alapszik, mely az adaptáció és a gyors akklimatizáció kombinációja. Míg az adaptáció a fenolos tulajdonságú vegyületek tartósan magas szintjén (Castagna és mtsai., 2017) alapszik, addig a cirkadián akklimatizáció a fenoloidok fokozatos, elsősorban a napi hőmérsékletet követő kis mértékű mennyiségi arány változásán (Csepregi és mtsai., 2019); a megvilágítás gyors változására adott válasz viszont a karotinoidok jelentős mennyiségi átrendeződésén alapszik (Csepregi és mtsai., 2025 kézirat).

5. A szőlőbogyó héjának UV előkezelése jelentősen fokozza az antioxidáns tulajdonsággal rendelkező speciális metabolitok (antocianinok és flavonolok) felhalmozódását, a szintézis útvonalak átrendeződése miatt. A post-harvest kezelések ezért nagyon fontos szerepet játszanak a szőlő gyümölcsminőségének és tárolhatóságának befolyásolásában (Csepregi és mtsai., 2021).

6. Mesterséges körülmények között nevelt fiatal menta növények vizsgálata során megállapítottuk, hogy egy mérsékelt dózisú UV előkezelés „előkondicionálhatja” a növényeket egy azt követő stressz jobb eltűrésére. Ebben fontos szerepet játszanak az UV sugárzás által indukált fenolos tulajdonságú metabolitok és antioxidáns vegyületek, melyek fotoprotektív szerepük mellett kulcsmolekulái az abiotikus hatások elleni védekezésnek védekezésnek (Crestani és mtsai., 2023).

7. Beltéri körülmények között alkalmazott viszonylag rövid (4 nap) UV-B kezelés is képes megemelni a fenolos tulajdonságú vegyületek szintjét dohány levelében, néhány vegyület esetében a természetes napfény által indukálhatóhoz közeli szintre. Ez jelentheti, hogy az UV kezelés célzottan fokozhatja a speciális metabolitok szintézisét még alacsony PAR értékek

mellett is, ami kiemelkedő fontossággal bírhat a növénytermesztésben. (Csepregi és mtsai., 2025)

8. Dohánylevelekkel végzett kísérletekben megmutattuk, hogy a minor fenolos savak (kriptoklorogénsav és neoklorogénsav) képesek egy alternatív flavonol bioszintézis utat biztosítani a naringenin-dihidrokaempferol-quercetin útvonalon keresztül. Ez elősegíti az UV alkalmazkodásban kulcs szerepet játszó quercetin származékok szelektív mennyiségi növekedését. (Csepregi és mtsai., 2025)

9. A különféle növényekkel végzett kísérleteink azt bizonyították, hogy megfelelő dózisban már egy beltéri UV kezelés is jelentősen tudja fokozni a speciális anyagcseretermékek koncentrációját (Csepregi és mtsai., 2025). Hasonlóan, egy post harvest UV kezeléssel a gyümölcsben is jelentősen növelhető ezeknek a metabolitoknak a felhalmozódása, ami javíthatja annak minőségét és eltarthatóságát (Csepregi és mtsai., 2021). Ezen felül egy UV előkezelés olyan modern, fenntartható és vegyszermentes mezőgazdasági eszköz lenne, mellyel a növények stressztűrése is fokozható (Crestani és mtsai., 2023)

Irodalomjegyzék

Agati, G.; Azzarello, E.; Pollastris, S.; Tattini, M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Sci.* 2012, 196, 67-76

Aro, E.M.; Virgin, I.; Andersson, B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 1993, 1143, 113-134

Barnes, P.W.; Flint, S.D.; Ryel, R.J.; Tobler, M.A.; Barkley, A.E.; Wargent, J.J. Rediscovering leaf optical properties: new insights into plant acclimation to solar UV radiation. *Plant Physiol Biochem.* 2015, 93, 94-100

Barnes, P.W.; Flint, S.D.; Tobler, M.A.; Ryel, R.J. Diurnal adjustment in ultraviolet sunscreen protection is widespread among higher plants. *Oecologia.* 2016, 181, 55-63

Beckman, C.H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiol Mol Plant Pathol.* 2000, 57, 101-110

Benzie, I.F.F; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996, 239, 70-76

Blanke, M.M.; Lenz, F. Fruit photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 1989, 12, 31-46

Castagna, A.; Csepregi, K*.; Neugart, S.; Zipoli, G.; Vecerova, K.; Jakab, G.; Jug, T.; Llorens, L.; Martinez-Abaigar, J.; Martinez-Lüscher, J.; Nunez-Olivera, E.; Ranieri, A.; Schoedl-Hummel, K.; Schreiner, M.; Teszlák, P.; Tittmann, S.; Urban, O.; Verdaguer, D.; Jansen, M.A.K.; Hideg, É. Environmental plasticity of Pinot noir grapevine leaves, a trans European study of morphological and biochemical changes along a 1500 km latitudinal climatic gradient. *Plant Cell Environmental*, 2017, 40, 11, 2790-2805 *megosztott első szerzőség

Cerovic, Z.G.; Masdoumier, G.; Ghazlen, N.B.; Latouche, G. A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiol Plantarum.* 2012, 146, 251-260

Crestani, G.; Cunningham, N.; Csepregi, K.; Badmus, U., O.; Jansen, M.,A.,K. From stressor to protector, UV-induced abiotic stress resistance. *Photochem and Photobiol Sci*, 2023, 22, 9, 2189-2204

Csepregi, K.; Rácz, A.; Czégémny, Gy.; Hideg, É. Possible lessons of a model experiment: To what extent can UV activate the production of leaf phenolics in indoor plant cultivation? *Plant Physiol Biochem*, 2025, 219, 10

Csepregi, K.; Teszlák, P.; Rácz, A.; Czégény, Gy.; Körösi, L.; Hideg, É. Changes in grapevine berry skin photochemistry may support metabolic responses to postharvest treatment by ultraviolet light. *Photosynthetica*, 2021, 59, 2, 286-293

Csepregi, K.; Teszlák, P.; Kőrösi, L.; Hideg, É. Changes in grapevine leaf phenolic during the day are temperature rather than irradiance driven. *Plant Physiol and Biochem*, 2019, 137, 169-178

Csepregi, K.; Hideg, É. Phenolic compound diversity explored in the context of photo-oxidative stress protection. *Phytochem Anal.* 2018, 29, 129-136

Csepregi, K.; Neugart, S.; Schreiner, M.; Hideg, É. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Mol.* 2016, 21, 208

Csepregi, K.; Kocsis, M.; Hideg, É. On the spectrophotometric determination of total phenolic and flavonoid contents. *Acta Biol Hung.* 2013, 64, 509-518

Csepregi, K.; Teszlák, P.; Kőrösi, L.; Hideg, É. Changes in grapevine leaf phenolic profiles during the day are temperature rather than irradiance driven. *Plant Physiol and Biochem.* 2019, 137, 169-178

Csepregi, K.; Teszlák, P.; Rácz, A.; Czégény, Gy.; Kőrösi, L.; Hideg, É. Changes in grapevine berry skin photochemistry may support metabolic responses to postharvest treatment by ultraviolet light. *Photosynthetica.* 2021, 59, 286-293

Del-Castillo, A.M.A.; Diagi, M.P.; Monforte, L.; Tardaguila, J.; Martínez-Abaigar, J.; Nunez-Olivera, E. Effects of UV exclusion on the physiology and phenolic composition of leaves and berries of *Vitis vinifera* cv *Graciano*. *J Sci Food Agric.* 2015, 95, 409-416

Dall'Osto, L.; Holt, N.E.; Kaligotla, Shanti.; Fuciman, M.; Cazzaniga, S.; Carbonera, D.; Frank, A.H.; Alric, J.; Bassi, R. Zeaxanthin protects plant photosynthesis by modulating chlorophyll triplet yield in specific light-harvesting antenna subunits. *J Biol Chem.* 2012, 287, 41820-34

Fridovich, I. Superoxide dismutase. *Adv Enzymol Ramb.* 1986, 58, 61-97

Guo, X.; Lu, L.; Zhao, A.; Zhao, W.; Liu, Y.; Li, Z.; Li, H.; Chen, X. Integrated transcriptome and metabolome analysis revealed differential drought stress response mechanisms of wheat seedlings with varying drought tolerance. *BMC Plant Biol.* 2025, 25, 571

Hideg, É.; Jansen, M.A.K.; Strid, A. UV-B exposure, ROS and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci.* 2013, 18, 107-115

Hofmann, R.W.; Swinny, E.E.; Bloor, S.J.; Markham, K.R.; Ryan, K.G.; Campbell, B.D.; Jordan, B.; Fountain, D.W. Responses of nine *Trifolium repens* L. populations to ultraviolet-B radiation: differential flavonol glycoside accumulation and biomass production. *Ann Bot.* 2000, 527-537

Huang, D.; Ou, B.; Prior, R.L.; Ronald, L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 2005, 53, 1841-1856

Jansen, M.A.K.; van den Noort, R.E.; Tan, M.Y.; Prinsen, E.; Lagrimini, L.M.; Thorneley, R.N. Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from ultraviolet radiation stress. *Plant Physiol.* 2001, 126, 1012-1023

Jansen, M.A.K.; Bilger, W.; Hideg, É.; Strid, A.; Urban, O. Interactive effects of UV-B radiation in a complex environment. *Plant Physiol and Biochem.* 2019, 134, 1-8

Kasote, D.M.; Katyare, S.S.; Hegde, M.V.; Bae, H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *Int J Biol Sci.* 2015, 11, 982-991

Klem, K.; Holub, P.; Stoch, M.; Nezval, J.; Spunda, V.; Triska, J.; Jansen, M.A.K.; Robson, T.M.; Urban, O. Ultraviolet and photosynthetically active radiation can both induce photoprotective capacity allowing barley to overcome high radiation stress. *Plant Physiol Biochem.* 2015, 93, 74-83

Koja, E.; Ohata, S.; Maruyama, Y.; Suzuki, H.; Shimosaka, M.; Taguchi, G. Identification and characterization of rhamnosyltransferase involved in rutin biosynthesis in *Fagopyrum esculentum* (common buckwheat). *Biosci Biotechnol Biochem.* 2018, 82, 1790- 1802

- Larson, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochem.* 1988, 27, 969-978
- Majer, P.; Neugart, S.; Krumbein, A.; Schreiner, M.; Hideg, É. Singlet oxygen scavenging by leaf flavonoids contributes to sunlight acclimation in *Tilia platyphyllos*. *Environ Exp Bot.* 2014, 100, 1-9
- Mira, L.; Fernandez, M.T.; Santos, M.; Rocha, R.; Florencio, M.H.; Jennings, K.R. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic Res.* 2002, 36, 1199-1208
- Müller-Xing, R.; Xing, Q.; Goodrich, J. Footprints of the sun: memory of UV and light stress in plants. *Front Plants Sci.* 2014, 5, 474
- Pérez, F.J.; Villegas, D.; Meija, N. Ascorbic acid and flavonoid-peroxidase reaction as a detoxifying system of H₂O₂ on grapevine leaves. *Phytochem.* 2002, 60, 573-580
- Rácz, A.; Czégény, Gy.; Csepregi, K.; Hideg, É. Ultraviolet-B acclimation is supported by functionally heterogeneous phenolic peroxidases. *Sci Rep.* 2020, 16303
- Rácz, A.; Czégény, Gy.; Kutváncsánin, D.; Nagy, N.; Hideg, É.; Csepregi, K. Fight against cold: photosynthetic and antioxidant responses of different bell pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) to cold stress. *Biol Futura.* 2023, 74, 327-335
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999, 26, 1231-1237
- Reynolds, A. Grapevine breeding programs for the wine industry. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technol and Nutr.* 2015, 439
- Rodríguez-Calzada, T.; Qian, M.; Strid, A.; Neugart, S.; Schreiner, M.; Torres-Pacheco, I.; Guava-Gonzalez, R.G. Effect of UV-B radiation in morphology, phenolic compound

production, gene expression, and subsequent drought stress responses in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiol Biochem.* 2019, 134, 94-102

Ruban, A.V., Phillip, D., Young, A.J. and Horton, P. Excited-state energy level does not determine the differential effect of violaxanthin and zeaxanthin on chlorophyll fluorescence quenching in the isolated light-harvesting complex of photosystem II. *Photochem and Photobiol.* 1998, 68, 829-834

Sanchez-Rodriguez, E.; Rubio-Wilhelmi, M.A.M.; Cervilla, L.M.; Blasco, B. Rios, J.J.; Rosales, M.A.; Romero, L.; Ruiz, J.M. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci.* 2010, 178, 30-40

Saunders, J.A.; McClure, J.W. The distribution of flavonoids in chloroplasts of twenty-five species of vascular plants. *Phytochem.* 1976, 15, 809-811

Schützendübel, A.; Polle, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J Exp Bot.* 2002, 53, 1351-1356

Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965, 161, 144-158

Stahl, W., Sies, H., 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol. Aspects Med.* 24, 345–351

Szarka, A.; Tomasskovics, B.; Bánhegyi, G. The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. *Int J Mol Sci.* 2012, 13, 4458-4483

Van Doorn, W.G.; Ketsa, S. Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiacol) peroxidase. *Postharvest Biol Tec.* 2014, 95, 64-69

Volpi e Silva, N.; Mazzafera, P.; Cesarino, I. Should I stay or should I go: are chlorogenic acids mobilized towards lignin biosynthesis? *Phytochem.* 2019, 166, 112063

Weissenböck, G.; Hedrich, R.; Sachs, G. Secondary phenolic products in isolated guard cell, epidermal cell and mesophyll cell protoplasts from pea (*Pisum sativum* L.) leaves: distribution and determination. *Protoplasma*. 1986, 134, 141-148