

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

A hidrogén-peroxid szerepe a levelek UV-B-fényhez történő alkalmazkodásában

PhD értekezés tézisei

Czégény Gyula

Témavezető:

Dr. Hideg Éva

egyetemi tanár

PÉCS, 2017

1. Tudományos előzmények

A növények fejlődését, metabolizmusát és túlélését számos abiotikus stresszor befolyásolhatja. Ezek közül a fény kiemelkedő jelentőséggel bír, hiszen természetes körülmények között minden más abiotikus tényező a fénnel együtt jelenik meg. A fénystressz egyik fontos komponense a Napból érkező elektromágneses sugárzás ultraibolya tartománya (UV). A 100 és 280 nm közé eső UV-C-sugárzást a légköri ózonréteg teljes egészében, míg az UV-B-sugárzást (280 - 315 nm) részben elnyeli. A napfény UV-A-tartománya (315 - 400 nm) akadálytalanul jut el a Föld felszínére (Caldwell 1971). A növények képesek az UV-fényt fotoreceptorokon keresztül érzékelni, a fototropinok és a kriptokrómok az UV-A (Lin és mtsai. 1995, Franklin és mtsai. 2005), míg az UVR8 (ULTRAVIOLET RESISTANCE LOCUS 8) receptor az UV-B érzékelésére képes (Rizzini és mtsai. 2011, Ulm és Jenkins 2015). A környezeti UV-B-sugárzás potenciális membrán-, DNS-, és fehérjekárosító hatása (Mackerness 2000) az ezredforduló környékén erősen kutatott téma volt, azonban az azóta bekövetkezett paradigmaváltásnak köszönhetően manapság már a növényi fejlődés egyik fontos szabályozó faktorának tekintik (Jansen 2002). Ennek ellenére, a környezeti UV-B és más abiotikus tényezők szinergikus hatása reaktív oxigénszármazékok (ROS-ok) közvetítette oxidatív stressz kialakulásához is vezethet a növényi szövetekben (Hideg és mtsai. 2013).

A fényviszonyokhoz történő növényi alkalmazkodás egyik kulcsa a ROS koncentrációk megfelelő szabályozása, amit az antioxidáns rendszer végez. Amennyiben a ROS-ok és az antioxidánsok érzékeny egyensúlya sérül, és a ROS-keletkezés mértéke meghaladja az antioxidáns válaszokét, a sejtek oxidatív károsodásáról beszélhetünk. ROS-ok kétféle mechanizmussal alakulhatnak ki az élő szervezetekben: elektronátadással illetve energiaátadással. Utóbbi módon, az alapállapotú triplet oxigénből ($^3\text{O}_2$) keletkezhet a szinglet oxigén ($^1\text{O}_2$), elektronátadással pedig szuperoxidgyök-anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrogén-peroxid (H_2O_2) és hidroxilgyök ($\cdot\text{OH}$) alakulhat ki (Halliwell és Gutteridge 2007). Az UV-B-sugárzás tekintetében legmeghatározóbb ROS a H_2O_2 . Mint a legstabilabb, leghosszabb életidejű ROS, a H_2O_2 alacsony koncentrációban állandóan jelen van a növényi sejtekben (Cheeseman 2006). Lehetséges szignálmolekula szerepét a kétezres évek eleje óta valószínűsítik (Neill és mtsai. 2001, Apel és Hirt 2004), ugyanis aquaporinokon keresztül képes átjutni a membránokon (Bienert és mtsai. 2007). Azóta a kinázok aktiválásában betöltött szerepét is tisztázták (Choudhury és mtsai. 2013).

A kialakuló ROS-ok semlegesítését az antioxidánsok végzik, melyek között megkülönböztethetünk enzimátikus és nem enzimátikus antioxidánsokat (Gill és Tuteja 2010). Az alapvető különbség közöttük az, hogy míg az enzimátikus antioxidánsok jellemzően egyféle ROS-ra specializálódtak, addig a nem enzimátikusak különböző ROS-ok semlegesítésére is alkalmasak lehetnek. A $O_2^{\cdot-}$ és a H_2O_2 semlegesítése történhet enzimes és nem enzimátikus úton is, 1O_2 és $\cdot OH$ kioltására azonban nincs specifikus enzim. A növényi sejtekben a $O_2^{\cdot-}$ semlegesítését a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a H_2O_2 -ét az aszkorbát-peroxidáz (APX), a hármastípusú peroxidázok (POD), a kataláz (CAT) és a glutation-peroxidáz (GPX) végzi. A legjelentősebb nem enzimátikus antioxidánsok a fenolos vegyületek, a B₆-vitamin, a tokoferolok, a karotinok, az aszkorbát és a glutation.

Az UV-B-hatásokat vizsgáló kísérletek között különbséget teszünk aszerint, hogy laboratóriumban (ellenőrzött körülmények között) vagy szabadföldön történtek. Az előbbi során, jellemzően a természetestől eltérő fényviszonyok mellett lehetőség nyílik az UV-B mint stresszor vizsgálatára, míg szabadföldön a környezeti UV-B és egyéb abiotikus stresszorok szinergikus hatását tanulmányozhatjuk. Munkánk során az antioxidánsokon keresztül ellenőrzött körülmények között megvalósuló UV-alkalmazkodást vizsgáltuk. Ehhez egyrészt rövid idejű monokromatikus, másrészt üvegházban és növénynevelő kamrákban 2-10 napig tartó kiegészítő UV-B-sugárzást alkalmaztunk. Modellnövényként dohányt (*Nicotiana tabacum*) és lúdfüvet (*Arabidopsis thaliana*) használtunk.

2. Célkitűzések

Munkánk célja, hogy a választott két modellnövény, a dohány (*Nicotiana tabacum*) és a lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) különböző intenzitású kiegészítő UV-B-megvilágításra adott antioxidáns-válaszait megvizsgáljuk. Az antioxidáns-válaszok pontos értelmezéséhez szükség volt annak ismeretére, hogy a levelekbe bejutott UV-B hogyan befolyásolja a szövetek H_2O_2 -koncentrációját. Ennek megismeréséhez az alábbi kérdések megválaszolására volt szükség:

1. A rövid idejű, monokromatikus UV-B-besugárzás hogyan befolyásolja az azt megelőzően kizárólag látható megvilágítás alatt nőtt növények leveleinek H_2O_2 koncentrációját, és ez hogyan hat a fotoszintetikus aktivitásukra?
2. Tapasztalható-e H_2O_2 -koncentráció-változás alacsony dózisu, kiegészítő UV-B megvilágításhoz alkalmazkodott levelek kloroplasztiszaiban?

3. Az UV-B fény vajon képes-e közvetlenül is a H₂O₂-ot átalakítani, és a mi a reakció terméke?

A fenti kérdések megválaszolása után növénynevelő kamrában elvégzett kísérleteinkben megvizsgáltuk a növények kiegészítő UV-B-sugárzásra adott antioxidáns-válaszait. Mivel az UV-B levelekben nem vezet ¹O₂ kialakuláshoz (Barta és mtsai. 2004), elsősorban arra voltunk kíváncsiak, hogy:

4. Melyik elektronátadással keletkező ROS elleni antioxidáns védelem kerül előtérbe?

A további, részletesebb antioxidáns-vizsgálathoz a két modellnövény vad genotípusa mellett megvizsgáltunk antioxidáns-profiljukban módosított növényeket is. Ezek kiválasztásakor az alábbiakat vizsgáltuk meg:

5. Hogyan befolyásolják a levelek UV-B-akklímációját az aszkorbátot és a glutationt a kloroplasztiszban helyreállító enzimek?
6. A több tanulmány szerint is eredményes [•]OH semlegesítő B₆-vitamin (Matxain és mtsai. 2009, Ristilä és mtsai. 2011) hiánya hogyan befolyásolja a levelek UV-akklímációját?

3. Anyag és módszer

Dohány (*Nicotiana tabacum*) és lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) modellnövényeken végzett kísérleteink ellenőrzött körülmények között, növénynevelő kamrákban és üvegházban történtek. Ezek során a fotoszintetikusán aktív sugárzást (400-700 nm) 3.9 - 13.6 kJ m⁻² d⁻¹ dózisú UV-B-megvilágítással egészítettük ki, emellett monokromatikus UV-B-megvilágítást is használtunk. A munka folyamán kloroplasztisz enzimeket túltermelő *N. tabacum*, illetve B₆-vitamin szintézisében csökkentett *A. thaliana* genotípusokat (*pdx1.3-1* és *rsr4-1*) vizsgáltunk.

Az UV-B-kezelés után a leveleket non-invazív klorofill fluoreszcencia analízisnek vetettük alá, melyet Imaging PAM műszerrel végeztünk. A megvilágított levelekben Klughammer és Schreiber (2008) alapján meghatároztuk a kettes fotokémiai rendszer fényadaptált effektív kvantumhatásfokát (Y(II)), szabályozott nem fotokémiai kioltási útvonal kvantumhatásfokát (Y(NPQ)) és a nem szabályozott nem fotokémiai kioltási útvonal kvantumhatásfokát (Y(NO)).

A levélszövetek H₂O₂ koncentrációját kétféle módszerrel vizsgáltuk:

- A 3,3'-diaminobenzidin (DAB) festék a levélbe infiltrálva reagál a celluláris H₂O₂-dal, és barna, vízben és etanolban oldhatatlan csapadékot képez (Thordal-Christensen és mtsai. 1997). A DAB levelekbe történő bejuttatását a fotoszintetikus elektrontranszportot korlátozó tulajdonsága (Šnyrychová és mtsai. 2009) és UV-érzékenysége (Czégény és mtsai. 2016b) miatt az UV-B-kezelés után végeztük. A klorofillmolekulák eltávolítása után a barnás elszíneződés mértékéből következtethettünk a levelek H₂O₂-koncentrációjára. A munkához B₆-vitamin szintézisében csökkentett *A. thaliana* genotípust (*pxd1.3-1*) használtunk.
- Az alacsony fluoreszcenciájú Amplex Red (AR) jelző azon tulajdonságát használtuk ki, miszerint H₂O₂-dal történő reakciója során erősen fluoreszkáló rezorufinná alakul (Šnyrychová és mtsai. 2009). Az AR-t levelekbe infiltrálva lehetőségünk nyílt a kloroplasztiszban keletkező H₂O₂ koncentrációját konfokális laser scanning mikroszkóppal vizsgálni. A kísérletet vad típusú *N. tabacum* növényeken végeztük.

A *N. tabacum* és *A. thaliana* levélkivonatok elkészítése után a minták enzimaktivitásainak meghatározását spektrofotométerrel végeztük. Megvizsgáltuk az APX, a CAT, a POD és a SOD antioxidáns enzimeket, illetve az aszkorbát és glutation helyreállító mechanizmusában szerepet játszó dehidroaszkorbát-reduktáz (DHAR), glutation reduktáz (GR) és glutation-S-transzferáz (GST) enzimeket. Az APX és POD izoformák ezen felül végzett analízise nem denaturáló poliakrilamid gélen történt.

A hidroxilgyök-semlegesítő antioxidáns-kapacitás mérése azon alapul, hogy a levélminták képesek megátolni a tereftálsav (TPA) és a [•]OH reakciójából származó, erősen fluoreszkáló 2-hidroxitereftálsav (HTPA) kialakulását, amit spektrofluoriméterrel detektáltuk (Šnyrychová és Hideg 2007). Az UV-B közvetítette H₂O₂ → [•]OH átalakulást szintén ezzel a módszerrel vizsgáltuk *in vitro*, az átalakulás akciós spektrumának felvételéhez hangolható UV-lézert használtunk.

4. Eredmények és megvitásuk

4.1. Hidrogén-peroxid megjelenítése levelekben

Egyperces, 308 nm monokromatikus UV-B-megvilágítás hatására az *A. thaliana* levelekben megemelkedett H₂O₂ koncentrációt tapasztaltunk a DAB-bal történő festés után. Emellett a levelek Y(II) paramétere lecsökkent, ami azt mutatja, hogy az ebben a dózisban alkalmazott UV-B rendkívül gyorsan hatott a levelekre, és azokban jelentős károsodást idézett elő. Ez a károsodás a B₆-vitamin hiányos *pxl1.3-1* genotípusban lényegesen nagyobb mértékű volt, mint a vad típusban, ami a B₆ UV-B-válaszokban feltételezett fontos szerepét igazolja (Brosché és mtsai. 2002).

AR fluoreszcenciával *N. tabacum* leveleket vizsgáltuk a környezetihez hasonló dózisu UV-B-kezelés után, hogy az ehhez történő alkalmazkodás során jellemző H₂O₂-koncentrációt detektálhassuk. Ennek megfelelően a dohánylevelek Y(II) paramétere kisebb mértékben csökkent. A kloroplasztiszban akkumulálódó AR az ott keletkező H₂O₂-dal reagálva rezorufinná alakul, melynek fluoreszcenciáját a kloroplasztiszok lokalizációját azonosító klorofill fluoreszcenciával egyszerre detektáltunk. Lényegesen erősebb rezorufin jelet azonosítottunk az UV-B-kezelt levelekben, amely a klorofill molekulákból származó fluoreszcens jellel azonos helyen lokalizálódott, ezáltal következtethetünk arra, hogy a környezeti UV-B-dózisok megemelik a kloroplasztisz H₂O₂ koncentrációját.

A két kísérlet alapján kijelenthetjük, hogy már rövid idejű UV-B-besugárzás is megemeli a metabolikus H₂O₂-koncentrációt, illetve az UV-B-hez történő alkalmazkodás is magasabb H₂O₂-koncentrációval jár együtt, és ez az extra H₂O₂ bizonyítottan jelen van a kloroplasztiszban.

4.2. Szöveti hidrogén-peroxid UV-B-indukált fotokonverziója

Hipotézisünk szerint a napfény UV-B-tartománya képes a H₂O₂-ot sokkal oxidálóbb [•]OH-ké alakítani. A nagyobb energiájú UV-C ezen képessége már régóta ismert volt (Harbour és mtsai. 1974), a földfelszínre is eljutó UV-B hullámhosszak esetében azonban mi vizsgáltuk ezt először. A H₂O₂ → [•]OH átalakulást TPA fluoreszcens jelzővel követtük nyomon a teljes UV-B-spektrumban *in vitro*. A négy, illetve két nanométerenként felvett akciós spektrum alapján az átalakulás maximuma a 290 és 300 nm közötti tartományba esik, amely UV-B-tartományt a Föld felszínére érkező napsugárzás is tartalmazza (Czégény és mtsai. 2014).

4.3. A peroxidázok kiemelt szerepe az UV-B-válaszokban

Az UV-B előzőekben ismertetett hatása miatt kézenfekvő a kérdés, hogyan történik a növényekben a megnövekedett mennyiségben keletkező H_2O_2 elleni védekezés, mely az akklimáció során kulcsfontosságúnak tűnik? Ezt *N. tabacum* növényeken vizsgáltuk, 6 napon át napi 6 órában a növényneveléshez használt fotoszintetikusan aktív megvilágítást kiegészítő UV-B-megvilágítást alkalmazva. A fotokémiai (Y(II) és kioltási) paraméterek alapján ez a kiegészítő kezelés akklimációs válaszokat eredményezett. A kezelés végeztével elkészítettük a levelek antioxidáns profilját. Az eredmények alapján a H_2O_2 és a $\cdot OH$ elleni védekezés fontossága rajzolódik ki, ezt az intenzívebb $\cdot OH$ semlegesítő kapacitás mellett APX és POD enzimek aktivitásának emelkedése bizonyítja (Majer és mtsai. 2014). A jelentősen megemelkedett POD-aktivitást az okozhatja, hogy az UV-B új POD izoformák szintézisét és/vagy aktiválódását indukálja (Yannarelli és mtsai. 2006, Rácz és mtsai. 2017). Az APX-aktivitás intenzív emelkedése arra enged következtetni, hogy a kloroplasztiszban keletkező H_2O_2 semlegesítése kulcsfontosságú.

4.4. A kloroplasztisz antioxidánsok szerepe az alkalmazkodásban

A kloroplasztisz enzimek UV-B-akklimációban betöltött szerepét kloroplasztisz genomjukban módosított (transzplasztomikus), plasztikus enzimeket túltermelő, így az oxidált aszkorbát- és glutation-helyreállító mechanizmusokban megerősített *N. tabacum* növényeken vizsgáltuk. A transzplasztomikus vonalakban mért magasabb plasztikus enzimaktivitások rávilágítottak arra, hogy az aszkorbát és a glutation rendkívül fontos szerepet játszik a ROS-ok semlegesítésében és így az UV-akklimációban, ezért oxidált formáik hatékony redukciója kulcsfontosságúnak tűnik. A transzplasztomikus levelek a vad típushoz mérten kevésbé intenzív POD-, illetve APX-aktivitás növekedését szintén az alternatív H_2O_2 -semlegesítő útvonalak megerősödése okozhatta. A korábbi munkáinkhoz hasonlóan, jelen kísérlet során is növekedett a növények $\cdot OH$ -kioltó képessége, tovább erősítve azt az elméletünket, miszerint UV-B-megvilágítás esetén a növények az UV-B-indukált $H_2O_2 \rightarrow \cdot OH$ fotokonverzió kivédése ellen alakítják ki antioxidáns mintázatukat (Czégény és mtsai. 2016a).

4.5. A B₆-vitamin lehetséges szerepe az alkalmazkodásban

Matxain és mtsai. (2009), illetve Ristilä és mtsai. (2011) eredményei alapján a B₆-vitamin eredményes $\cdot OH$ -semlegesítő molekula, ezért megvizsgáltuk egy B₆-vitamin csökkentett *A. thaliana* genotípus (*rsr4-1*) antioxidáns státuszát alacsony dózisu UV-B-kezelés során. A látható fény alatt fejlődött B₆ mutáns a vad típusnál lényegesen alacsonyabb

POD-szintézis mellett azonos SOD-, APX- és magasabb CAT-aktivitással szabályozta a metabolikus H_2O_2 -koncentrációt. UV-B-megvilágítás hatására a mutáns növény nem volt képes megemelni az APX- és POD-aktivitását, így feltehetően oxidatív úton károsodott, amit a jelentősen lecsökkent fotoszintetikus aktivitás (Y(II)) mutat. A kevésbé hatékony B_6 -vitamin szintézis és így kevésbé hatékony nem enzimatis $\text{O}_2^{\cdot-}$ -semlegesítés (Denslow és mtsai. 2005) ellenére az B_6 mutáns levelekben az enzimatis $\text{O}_2^{\cdot-}$ -semlegesítés (SOD) az UV-B hatására lecsökkent. Ennek lehetséges magyarázata a H_2O_2 -koncentráció ilyen úton történő emelkedésének elkerülése, illetve mérséklése a mutánsokban megfigyelt alacsony (és UV-B-kezelésre sem aktiválódó) POD-aktivitás ellenére. A magasabb CAT-aktivitástól függetlenül a mutáns növények UV-B hatására károsodtak, ami arra utal, hogy más abiotikus stresszválaszokkal szemben, a CAT szerepe a növényi UV-B-válaszokban kevésbé fontos. A fentiek alapján arra következtetünk, hogy az UV-B-kezelt mutáns levelekben nagyobb valószínűséggel játszódott le a $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH}$ fotokonverzió, aminek megfelelően UV-B hatására a mutáns $\cdot\text{OH}$ antioxidáns-kapacitása a vad típusnál nagyobb mértékben nőtt. Ez alapján viszont valószínűsíthető, hogy ezekben a növényekben az egyéb antioxidánsok a B_6 -vitaminnál jelentősebb mértékben járulnak hozzá a nem enzimatis $\cdot\text{OH}$ -semlegesítéshez.

4.6. Hipotézis

Az eredményeink alapján felállítottunk egy hipotézist, amely az UV-B és más abiotikus stresszhatások kölcsönhatásainak egyik aspektusát magyarázza. A hipotézis Sabater és Martín (2013) munkájának átgondolásával született meg, mely szerint stressz során a kloroplasztisban kialakuló ROS koncentrációk aránya ($[\text{}^1\text{O}_2] + [\text{O}_2^{\cdot-}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$) határozza meg, hogy a stressz oxidatív károsodáshoz vagy programozott sejthalálhoz vezet. A sejten belüli aktuális ROS-koncentrációk pontos meghatározása az alkalmazkodási válaszokat kiváltó kezelések esetén azok alacsony koncentrációja miatt problémás, ezért hipotézisünk a specifikus antioxidáns válaszokra épül. A növénynevelő kamrákban, a természetesnél sokkal alacsonyabb PAR mellett a fotoszintetikus apparátust nem károsító UV-B dózisok esetében $[\text{}^1\text{O}_2]$ várhatóan alacsony (Barta és mtsai. 2004), így a $\text{O}_2^{\cdot-}$ - és H_2O_2 -szintek határozzák meg a sejt ROS arányát. Egyenlőtlenül magas SOD- vagy peroxidáz-aktiválódás esetén a $[\text{}^1\text{O}_2] + [\text{O}_2^{\cdot-}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ extrém alacsony, illetve magas értékeket vehet fel, ami a Sabater és Martín (2013) által leírt sejt-károsodáshoz vezethet. Hipotézisünk lényege, hogy míg a más, potenciálisan oxidatív stresszekhez történő alkalmazkodás a két ROS-semlegesítő út arányos emelkedésével érhető el, az UV-B-hez történő alkalmazkodás kivételes. Ennek kulcsa a H_2O_2

→ $\cdot\text{OH}$ átalakulás megelőzésének szükségessége miatt a H_2O_2 semlegesítés nagyobb arányú növekedése. Ez a SOD H_2O_2 -termelő képessége miatt a SOD enziménél intenzívebb peroxidáz-aktivitásnövekedést feltételez, azaz a sikeres UV-B-alkalmazkodás abban az esetben valósul meg, ha a peroxidáz : SOD-aktiválódás aránya > 1 (Czégény és mtsai. 2016b). Hipotézisünket a dolgozatban leírt kísérletekben megfigyelt 1.5-4 relatív aktivitás növekedési arányok alátámasztják.

5. Összefoglalás

A H_2O_2 a legstabilabb ROS, amely a jelátvitelben fontos szerepet játszó molekulaként metabolikus koncentrációban állandóan jelen van a növényi szövetekben. Ezek a metabolikus szintek környezeti tényezők (így az UV-B) hatására megemelkedhetnek, és UV-B-besugárzás esetén potenciális veszélyforrásként hathatnak. A természetes napfényben is jelen lévő UV-B-tartomány ugyanis az egyetlen abiotikus faktor, amely képes a H_2O_2 -ot sokkal oxidálóbb $\cdot\text{OH}$ -ké alakítani (Czégény és mtsai. 2014).

Növénynevelő kamrában végzett kísérleteink során bebizonyítottuk, hogy a dohánynövények a celluláris $\cdot\text{OH}$, de leginkább a H_2O_2 -koncentrációk megfelelő szabályozása esetén képesek sikeresen alkalmazkodni az UV-B-sugárzáshoz (Majer és mtsai. 2014). Már alacsony dózisu, kiegészítő UV-B-hez történő alkalmazkodás során is megemelkedik a kloroplasztisz H_2O_2 koncentrációja, amelynek szabályozásában a megfelelő APX- és POD-aktivitás mellett az aszkorbát és a glutation hatékony helyreállítása is rendkívül fontos (Czégény és mtsai. 2016a).

Számos abiotikus stresszhatás eredménye a B_6 -vitamin fokozott szintézise. A B_6 -szintézisében gyengített *Arabidopsis* mutánsok UV-B-kezelés hatására az intenzívebb SOD-, illetve CAT-aktivitásuk, valamint nagyobb $\cdot\text{OH}$ antioxidáns-kapacitásuk ellenére is oxidatív károsodást szenvedtek. Ennek oka, hogy nem voltak képesek megfelelő APX- és POD-aktivitásnövekedéssel válaszolni a megemelkedő kloroplasztiszos és vakuoláris H_2O_2 -koncentrációra.

Az eredmények összegzése után felállítottunk egy hipotézist, amely a növényi UV-B-akklímációhoz szükséges antioxidáns-utak felerősödésének arányait modellezi. Eszerint a növénynevelő kamrákban alkalmazott alacsony PAR (és ezzel együtt elhanyagolható

mennyiségű $^1\text{O}_2$) mellett a sikeres UV-B-alkalmazkodás abban az esetben valósul meg, ha a peroxidáz : SOD-aktivitás növekedések aránya > 1 (Czégény és mtsai. 2016b).

6. Irodalomjegyzék

Apel, K., Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373–399.

Barta, Cs., Kálai, T., Hideg, K., Vass, I., Hideg, É. (2004) Differences in the ROS-generating efficacy of various ultraviolet wavelengths in detached spinach leaves. *Funct. Plant Biol.* 31: 23-28.

Bienert, G.P., Møller, A.L.B., Kristiansen, K.A., Schulz, A., Møller, I.M., Schjoerring, J.K., Jahn, T.P. (2007) Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *J. Biol. Chem.* 282: 1183-1192.

Brosché, M., Schuler, M.A., Kalbina, I., Connor, L., Strid, Å. (2002) Gene regulation by low level UV-B radiation: identification by DNA array analysis. *Photochem. Photobiol. Sci.* 1: 656-664.

Caldwell, M. M. (1971) Solar UV irradiation and the growth and development of higher plants. In: *Photophysiology*. Ed by A. C. Giese. Vol. 6. New York: Academic Press, pp. 131-177.

Cheeseman, J.M. (2006) Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions. *J. Exp. Bot.* 57: 2435-2444.

Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., Panda, S.K. (2013) Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signal. Behav.* 8: e23681.

Czégény, Gy., Wu, M., Dér, A., Eriksson, L.A., Strid, Å., Hideg, É. (2014) Hydrogen peroxide contributes to the ultraviolet-B (280–315nm) induced oxidative stress of plant leaves through multiple pathways. *FEBS Lett.* 588: 2255-2261.

Czégény, Gy., Le Martret, B., Pávkovics, D., Dix, P.J., Hideg, É. (2016a) Elevated ROS-scavenging enzymes contribute to acclimation to UV-B exposure in transplastomic tobacco plants, reducing the role of plastid peroxidases. *J. Plant Physiol.* 201: 95-100.

Czégény, Gy., Máтай, A., Hideg, É. (2016b) UV-B effects on leaves – oxidative stress and acclimation in controlled environments. *Plant Sci.* 248: 57-63.

Denslow, S.A., Walls, A.A., Daub, M.E. (2005) Regulation of biosynthetic genes and antioxidant properties of vitamin B₆ vitamers during plant defense responses. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 66: 244-255.

Foyer, C., Noctor, G. (2011) Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiol.* 155: 2-18.

- Franklin, K.A., Lerner, V.S., Whitlam, G.C.** (2005) The signal transducing photoreceptors of plants. *Int. J. Dev. Biol.* 49:653-664.
- Gill, S.S., Tuteja, N.** (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909-30.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.** (2007) *Free radicals in biology and medicine*, 4th edn. Oxford: Oxford University Press.
- Harbour, J.R., Chow, V. Bolton, J.R.** (1974) An electron spin resonance study of the spin adducts of OH and HO₂ radicals with nitrones in the ultraviolet photolysis of aqueous hydrogen peroxide solutions. *Can. J. Chem.* 52: 3549-3553.
- Hideg, É., Jansen, M.A.K., Strid, Å.** (2013) UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci.* 18: 107-115.
- Jansen, M.A.K.** (2002) Ultraviolet-B radiation effects on plants: induction of morphogenic responses. *Physiol. Plant.* 116: 423-429.
- Klughammer, C., Schreiber, U.** (2008) Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Application Notes* 1: 27-35.
- Lin, C., Ahmad, M., Gordon, D., Cashmore, A. R.** (1995) Expression of an *Arabidopsis* cryptochrome gene in transgenic tobacco results in hypersensitivity to blue, UV-A, and green light. *PNAS USA* 92: 8423-8427.
- Mackerness, S.A.H.** (2000) Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators? *Plant Growth Regul.* 32: 27-39.
- Majer, P., Czégény, Gy., Sándor, Gy., Dix, P.J., Hideg, É.** (2014) Antioxidant defence in UV-irradiated tobacco leaves is centred on hydrogen-peroxide neutralization. *Plant Physiol. Biochem.* 82: 239-243.
- Matxain, J.M., Padro, D., Ristilä, M., Strid, Å., Eriksson, L.A.** (2009) Evidence of high [•]OH radical quenching efficiency by vitamin B₆. *J. Phys. Chem. B* 113: 9629-9632.
- Neill, S.J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R.D., Hancock, J.T.** (2001) Hydrogen peroxide and nitric oxide molecules in plants. *J. Exp. Bot.* 53: 1237-1247.
- Rácz, A., Hideg, É., Czégény, Gy.** (2017) Selective responses of class III plant peroxidase isoforms to environmentally relevant UV-B doses. *Közlésre beküldve.*
- Ristilä, M., Strid, H., Eriksson, L.A., Strid, Å., Sävenstrand, H.** (2011) The role of the pyridoxine (vitamin B₆) biosynthesis enzyme PDX1 in ultraviolet-B radiation responses in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 49: 284-292.
- Rizzini, L., Favory, J.J., Cloix, C., Faggionato, D., O'Hara, A., Kaiserli, E., Baumeister, R., Schäfer, E., Nagy, F., Jenkins, G.I., Ulm, R.** (2011) Perception of UV-B by the *Arabidopsis* UVR8 Protein. *Science.* 332: 103-106.

Sabater, B., Martín, M., (2013) Hypothesis: increase of the ratio singlet oxygen plus superoxide radical to hydrogen peroxide changes stress defense response to programmed leaf death. *Front. Plant. Sci.* 4: 479.

Šnyrychová, I., Hideg, É. (2007) The first application of terephthalate fluorescence for highly selective detection of hydroxyl radicals in thylakoid membranes. *Funct. Plant Biol.* 34: 1105-1111.

Šnyrychová, I., Ayaydin, F. and Hideg, É. (2009) Detecting hydrogen peroxide in leaves *in vivo* - a comparison of methods. *Physiol. Plant.* 135: 1-18.

Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y.D. and Collinge, D.B. (1997) Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J.* 11: 1187-1194.

Ulm, R., Jenkins, G. I. (2015) Q&A: How do plants sense and respond to UV-B radiation? *BMC Biology* 13:45.

Yannarelli, G.G., Gallego, S.M., Tomaro, M.L (2006) Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Env. Exp. Bot.* 56: 174-181.

I. A dolgozat témájához kapcsolódó, bírált folyóirat-közlemények

Majer, P., Czégény, Gy., Sándor, Gy., Dix, P.J., Hideg, É. (2014) Antioxidant defence in UV irradiated tobacco leaves is centred on hydrogen-peroxide neutralization. *Plant Physiol. Biochem.* 82: 239-243.
Q1, IF: 2.756

Czégény, Gy., Wu, M., Dér, A., Eriksson, L.A., Strid, Å., Hideg, É. (2014) Hydrogen peroxide contributes to the ultraviolet-B (280–315nm) induced oxidative stress of plant leaves through multiple pathways. *FEBS Lett.* 588: 2255-2261.
D1, IF: 3.169

Czégény, Gy., Le Martret, B., Pávkovics, D., Dix, P.J., Hideg, É. (2016) Elevated ROSscavenging enzymes contribute to acclimation to UV-B exposure in transplastomic tobacco plants, reducing the role of plastid peroxidases. *J. Plant Physiol.* 201: 95-100.
Q1, IF: 3.121

Czégény, Gy., Mátai, A., Hideg, É. (2016) UV-B effects on leaves – oxidative stress and acclimation in controlled environments. *Plant Sci.* 248: 57-63.
D1, IF: 3.437

II. Konferenciakivonatok

Hideg, É., Majer, P., Czégény, Gy., Sándor, Gy., Poage, M., Dix, P.J. (2012) Consequences of enhanced chloroplast SOD activity on the acclimation of leaves to supplemental UV-B. *Plant Biology Congress, 29 July - 3 August 2012, Freiburg, Germany*

Czégény, Gy., Dér, A., Strid, Å., Hideg, É. (2013) Hydrogen peroxide has a multiple role in UV-B irradiated leaves. COST UV4growth – Action FA0906 2nd Annual Network Meeting, 14-16 April 2013, Mikulov, Czech Republic

Czégény, Gy., Majer, P., Csepregi, K., Teszlák, P., Jakab, G., Dér, A., Strid, Å., Hideg, É. (2014) ROS specific antioxidant responses to UV. Final Network meeting of COST Action FA0906 UV4Growth, 30 March - 2 April 2014, Bled, Slovenia

Czégény, Gy., Majer, P., Wu, M., Dér, A., Eriksson, L.A., Dix, P.J., Strid, Å., Hideg, É. (2014) A specific role of hydrogen peroxide in UV-B exposed leaves. Plant Biology Europe FESPB/EPSO Congress, 22-26 June 2014, Dublin, Republic of Ireland

Czégény, Gy., Majer, P., Sándor, Gy., Dér, A., Strid, Å., Hideg, É. (2015) UV acclimation - hydrogen peroxide in focus. Plant Biology Scandinavia 2015 – The XXVI Congress of SPPS, 9-13 August 2015, Stockholm, Sweden

Czégény, Gy., Majer, P., Pávkovics, D., Ayaydin, F., Dix, P.J., Hideg, É. (2016) The role of chloroplast hydrogen peroxide neutralization in the acclimation of leaves to supplementary UV. 1st Network Meeting of UV4Plants, International Association for Plant UV Research, 30-31 May 2016, Pécs, Hungary

Czégény, Gy., Majer, P., Pávkovics, D., Dix, P.J., Hideg, É. (2016) Acclimation to UV-B is orchestrated by peroxidase enzymes. Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress, 26-30 June 2016, Prague, Czech Republic

Czégény, Gy., Strid, Å., Hideg, É. (2017) The importance of antioxidant protection against UV-mediated photoconversion of hydrogen peroxide in plant leaves. 17th Congress of the European Society for Photobiology, 4-8 September 2017, Pisa, Italy

III. Egyéb folyóirat-közlemények

Kakuszi, A., Sárvári, É., Solti, Á., Czégény, Gy., Hideg, É., Hunyadi-Gulyás, É., Bóka, K., Böddi, B. (2016) Light piping driven photosynthesis in the soil: Low-light adapted active photosynthetic apparatus in the under-soil hypocotyl segments of bean (*Phaseolus vulgaris*). J. Photochem. Photobiol. B. 161: 422-429.
Q2, IF: 2.673

Majer, P., Vidović, M., Czégény, Gy., Veljović Jovanović, S., Strid, Å., Hideg, É. (2016) Evaluation of procedures for assessing anti- and pro-oxidants in plant samples. Anal. Methods 8: 5569-5580.
Q1, IF: 1.900

Rácz, A., Hideg, É., Czégény, Gy. (2017) Selective responses of class III plant peroxidase isoforms to environmentally relevant UV-B doses. J. Plant Physiol. (*elfogadott kézirat*)
Q1, IF: 3.121