

Fotoreaktív nanorészecskék hatása vörösborszőlő-fajták levelének polifenol összetételére és tápelemtartalmára

BOUDERIAS SAKINA^{1,2}, TESZLÁK PÉTER¹, BOGNÁR BALÁZS³,
CSEPREGI KRISTÓF², HIDEG ÉVA², JAKAB GÁBOR^{1,2}, KÖRÖSI LÁSZLÓ^{1*}

¹Pécsi Tudományegyetem, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet

²Pécsi Tudományegyetem, Növénybiológiai Tanszék

³Pécsi Tudományegyetem, Szerves és Gyógyszerkémiai Intézet

E-mail: korosi.laszlo@pte.hu

Összefoglalás

A különleges tulajdonságokkal rendelkező nanoszerkezetű anyagok hasznosítása az iparban, a mezőgazdaságban és gyógyászatban egyaránt folyamatosan növekszik. A fotoreaktív titán-dioxid (TiO_2) nanorészecskék sajátja, hogy UV-fény hatására reaktív oxigén származékokat (ROS) generálnak, melyek jelentős antimikrobiális hatással bírnak, így a növényre kijuttatva potenciális növényvédőszerként funkcionálhatnak. A növényekben keletkező ROS a növények élettani folyamatainak szabályozásában is részt vesznek, ezért a mesterségesen, TiO_2 nanorészecskék segítségével keltett ROS a célzott antimikrobiális aktivitás mellett a levelek metabolizmusára is hatással lehet. Ez a hatás lehet negatív, mivel a ROS nagy mennyiségben sejtkárosító, de lehet pozitív is, a természetes úton keletkező ROS hatásához hasonlóan a stresszvédő utakat aktiváló. Habár a TiO_2 , mint alternatív növényvédőszer a gyakorlatban nagy érdeklődésre tarthat számot, fitotoxicitásáról még csak nagyon kevés információ áll rendelkezésünkre. Ebben a munkában azt tanulmányoztuk, hogy a levelek felszínére juttatott és ott napsugárzásnak kitett TiO_2 nanorészecskék miként befolyásolják a szőlőlevelek teljes fenolos tartalmát (antioxidáns kapacitását) és polifenol profilját. Ezek a paraméterek érzékenyen jelzik a növény oxidatív stresszre adott válaszreakcióit.

Nyomon követtük továbbá a levelek makro- és mikroelem összetételének változását is. Szabadföldi kísérletben öt vörösborszőlő-fajtát (Cabernet sauvignon, Cabernet franc, Merlot, Kékfrankos és Kadarka) vizsgáltunk. Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás mérésekkel kimutattuk, hogy szőlőfajtától függően a levelek kaftársav és flavonol-glikozid tartalma a kezelést követően

szignifikánsan emelkedett. A levelek teljes fenolos tartalmának növekedése szintén szignifikáns volt. Mindemellett ICP-AES méréseink azt mutatták, hogy TiO_2 nanorészecskék a levelek főbb makro- és mikroelemeinek (Ca, Mg, K, B és Mn) koncentrációját ugyancsak növelték.

Kulcsszavak: szőlő (*Vitis vinifera* L.), titán-dioxid nanorészecskék, polifenol, antioxidáns kapacitás, makro- és mikroelem

Bevezetés

Az egyedi fizikai-kémiai sajátosságokkal rendelkező nanoszerkezetű anyagok lehetséges alkalmazásait egyre szélesebb körben kutatják, melynek eredményeként az elmúlt két évtizedben a nanotechnológia több forradalmian új megoldást hozott az ipar és az orvostudomány számára. A nemzetközi szakirodalom szintén ígéretes alkalmazási lehetőségeket vet fel a nanorészecskék mezőgazdasági hasznosítására, amit jól mutat, hogy az idevonatkozó publikációk és szabadalmak száma exponenciálisan növekszik (Gogos et al. 2012). A szakirodalom szerint számos fém-, illetve fém-oxid nanorészecske kedvező hatással van a magok csírázására, a növények növekedésére, fejlődésére és stressztűrő képességére (Hatami et al. 2016). A sokféle és változatos tulajdonságokkal rendelkező nanoszerkezetű anyag közül a titán-dioxid (TiO_2) kiemelkedően nagy fotoreaktivitásával tűnik ki, melynek kiaknázása óriási lehetőséget jelent a környezetvédelem és az energiaipar területén egyaránt. A TiO_2 nanorészecskék fotoreaktivitása azt jelenti, hogy a félvezető sajátosságú anyagot megfelelő energiájú fényvel (UV-A/B, 280-400 nm) megvilágítva töltésszétválás játszódik le, azaz elektron-lyuk párok generálódnak. Lényegét tekintve az összes fotoindukált folyamatok alapját ez a jelenség képezi, legyen szó fotokatalízisről, fotovoltakáról, vagy akár fotoindukált szuperhidrofilitásról (Carp et al. 2004). A fotogenerált töltéshordozók a TiO_2 részecskék felületére kijutva különböző adszorbeált molekulákkal reakcióba léphetnek. Ha ezek az adszorbeált molekulák az oxigén vagy a víz, akkor ún. reaktív oxigén származékok (ROS) úgymint a hidroxilgyök (OH \cdot), a szuperoxid-gyökanion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), vagy a szingulett oxigén ($^1\text{O}_2$) képződnek. Ezen oxigénszármazékok nagy reakcióképességüknek köszönhetően szerves szennyezők lebontására (oxidációjára) és multirezisztens baktériumok inaktiválására egyaránt hasznosíthatók (Kőrösi et al. 2015; 2016; 2018). A reaktív nanorészecskék által termelt ROS minden bizonnyal növényi patogének ártalmatlanítására is alkalmasak, mint arra számos példát találhatunk a szakirodalomban (Yao et al. 2007; Zhang et al. 2013). Ugyanakkor a ROS – mint szignálmolekulák – fontos szerepet töltenek be a növények élettani folyamatainak szabályozásában. Közismert tény, hogy a ROS az aerob anyagcserefolyamatok melléktermékeként képződnek és szerepük kettős a növénybiológiában (Mittler 2017). Kontrollált folyamatokban keletkezve, alacsony szöveti koncentrációban szükségesek számos jelátviteli reakcióhoz. Másrészt viszont, koncentrációjuk túlzott emelkedése és elégtelen antioxidáns védelem mellett az oxidatív folyamatok kerülnek túlsúlyba, ami a sejtek pusztulásához, szöveti károsodáshoz vezethet. A ROS mennyiségének bizonyos szintű emelése – mely még nem okoz szöveti károsodást, de elegendően magas a növény antioxidáns védelmi rendszerének aktiválásához – elősegítheti a növény kondicionálását, ellenállóképességének növelését egy később megjelenő stresszel szemben.

A szakirodalomban fellelhető eddigi eredmények alapján a TiO_2 nanorészecskék növényekre

gyakorolt hatásáról, lehetséges fitotoxicitásáról azonban még csak nagyon keveset tudunk. Fontos tehát először feltárni, hogy miként reagál a növény egy fotokatalitikusan aktív, UV-fény hatására ROS-t generáló anyagra (rövidebben fotokatalizátorra). Az itt bemutatott kutatási munkában ennek felderítését tűztük ki célul, melynek keretében TiO₂ nanorészecskék fitotoxicitását szabadföldi kísérletben, öt vörösborszőlő-fajta levelein vizsgáltuk.

A kerti szőlő (*Vitis vinifera* L.) más növényekhez hasonlóan az oxidatív stresszhatások mérséklésére számos antioxidáns hatású vegyületet, köztük polifenolokat termel. A napfényhez a termesztési körülmények folytán jól adaptálódott szőlőfajták levelében a legjelentősebb polifenolok a kaftársav és a glikozilált kvercetin-származékok, olyan vegyületek, melyek laboratóriumi kísérletekben hatékonyan semlegesítik a hidrogén-peroxidot és a szingulett oxigént, két erősen oxidáló ROS-t (Csepregi és Hideg 2018). Több tudományos munka eredménye utal arra, hogy a polifenolok, mint másodlagos anyagcseretermékek a növényi szövetekben reagálhatnak különböző szabadgyökökkel, így gátolják a lipidperoxidációt (membránok védelme), valamint védik a fehérjéket és a DNS-t az oxidatív károsodásoktól (Das és Roychoudhury 2014; Gil és Tuteja 2010). Ezt a hipotézist támasztja alá az a megfigyelés is, hogy a szőlő polifenol szintje érzékenyen reagál a biotikus és abiotikus stresszre (Lima et al. 2017). Az abiotikus stresszek közül a vízhiány – attól függően, hogy mennyire súlyos és milyen hosszú ideig tart a stresszhatás – különböző módon változtathatja meg a szőlőlevél polifenol tartalmát. Amíg a rövidtávú szárazság a polifenolok szintjének emelkedését idézte elő a levelekben, addig a hosszú idejű, súlyos vízhiány csökkentette pl. a kávésav, p-kumársav és a ferulasav szintjét (Król et al. 2014). Az alacsony hőmérséklet szintén csökkentette a fenolos savak szintjét, ami alacsonyabb ROS semlegesítő kapacitással jár a szőlőlevelekben (Król et al. 2015). A jó fagyűrőképeséggel rendelkező, interspecifikus Marechal Foch vörösborszőlő-fajta esetében a polifenol vegyületek jelentősen magasabb koncentrációban voltak jelen, mint pl. a fagyérzékeny Kismis lucsisztűj fajta leveleiben (Król et al. 2015). Jól ismert, hogy a napfény UV-tartománya is hatással van a polifenolok bioszintézisére. A Graciano fajta esetében kimutatták, hogy UV-sugárzás nélkül fejlődő levelekben a p-kaffeoil-tartarát tartalom csökkent (Del-Castillo-Alonso et al. 2015). A természetesnél magasabb dózisu UV-B besugárzással stressznek kitett szőlőlevelekben szoros összefüggést találtak az élettani jellemzők és a kvercetin- illetve kempferol-glikozidok változása között a Pinot noir és Rajnai rizling fajtáknál (Schoedl et al. 2013).

A fentiekben bemutatott kutatási eredmények jól példázzák, hogy a szőlőnél az abiotikus stresszre adott válaszreakciók során a polifenolok mennyisége és összetétele is változik. Ezen megfontolásból kutatómunkánkban azt vizsgáltuk, hogy a fotoreaktív TiO₂ nanorészecskék hogyan hatnak a levelek antioxidáns kapacitására és polifenol összetételére. Mivel a ROS sokféle hatása szignálútvonalakon a tápelemtartalmat érintő élettani folyamatokat is képes befolyásolni, a levelek főbb makro- és mikroelem tartalmának változását is nyomon követtük.

Anyag és módszer

A szabadföldi kísérletet a Pécsi Tudományegyetem Szőlészeti és Borászati Kutatóintézetének központi telepén állítottuk be (északi szélesség: 46°04', keleti hosszúság: 18°11', 150 m tengerszint feletti magasságban), ahol a talaj permi vörös homokkő alapkőzeten pannon homok és pannon

agyag keveréke, a talaj típusa pedig Ramann-féle barna erdőtalaj. A terület a Praeillyricum flóraidéken belül helyezkedik el, ahol az éves csapadékösszeg 782 mm, a napfényes órák száma 2021 óra, és az éves átlaghőmérséklet pedig 11,6 °C (a Kutatóintézet meteorológiai adatbázisa alapján, 1950 és 2010 közötti periódusban). A mikroklimatikus tényezők a kísérlet ideje alatt kedvezőek voltak, a szőlő zavartalan fejlődése és növekedése biztosított volt. A meteorológiai adatokat (csapadék, levegő hőmérséklet, páratartalom, UV-A+UV-B sugárzás adatok) Lufft WS600 automata meteorológiai állomás segítségével gyűjtöttük.

Az 1996-os telepítésű, génbanki ültetvényben fenntartott *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon, Cabernet franc, Merlot (*convarietas occidentalis*), Kékfrankos (*convarietas orientalis*) és Kadarka (*convarietas pontica*) fajtákat állítottuk kísérletbe a 2017-es év vegetációs periódusában. Mind az öt fajta esetében Teleki 5C volt az alanyfajta (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*). A tőkék 2 x 1 méteres térállásban helyezkedtek el, észak-déli sorvezetéssel, közép magas kordon művelésben, váltócsapos metszéssel, 14-16 rügy/tőke terheléssel. A nanopartikulumos kezelést 1 mg ml⁻¹ koncentrációjú Degussa P25 TiO₂ szuszpenzióval ép, egészséges, kifejtett, teljes napfény mellett növekedett leveleken 2017. május 23-án végeztük. A szuszpenziót a levelek színi oldalára egy kézi pumpás permetezővel juttattuk ki, a levelek fonákját nem kezeltük. A „kontroll” leveleket nanorészecskéket nem tartalmazó ioncserélt vízzel permeteztük le. A kezelést követő két hét elteltével a levélmintákat a 3 - 5. levélemeletről gyűjtöttük. A levélmintákat fajtánként három véletlenszerűen kiválasztott tőkéről szedtük (tőkéenként 5-5 levél), melyeket aztán sötétben, 35 °C-on 24 órán keresztül szárítottunk, végül porcelánmózsárban eldörzsöltünk. Az így kapott légszáraz pormintákból – az előző tanulmányunkban leírt módon (Kőrösi et al. 2019) – különböző metanolos kivonatokat készítettünk. A kivonatok teljes fenolos tartalmát Folin-Ciocalteu módszerrel, míg kaftársav- és flavonol-glikozid tartalmukat nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC-DAD, PerkinElmer Series 200) határoztuk meg (Kőrösi et al. 2019). A levelek makro- és mikroelem összetételét induktív csatolású plazma atomemissziós spektroszkópiával (ICP-AES) tanulmányoztuk. Az ICP-AES mérések előtt a levélmintákat 69%-os salétromsavban mikrohullámú roncsolóval tártuk fel (Multiwave 3000, Anton Paar).

A statisztikai elemzéseket az IBM SPSS 24.0 program segítségével végeztük. A kezelt és kontroll minták közötti különbségeket kétmintás t-próbával $P < 0,05$ szignifikancia szinten ellenőriztük.

Eredmények és megvitatás

A TiO₂ nanorészecskék jellemzése

A levelek kezelése előtt az alkalmazott Degussa P25 TiO₂ nanorészecskék szerkezeti, morfológiai, optikai és fotokatalitikus tulajdonságait részletesen tanulmányoztuk (Kőrösi et al. 2019). Röntgendiffrakciós (XRD) mérések azt mutatták, hogy a TiO₂ nem fázisztiszta, hanem két kristálymódosulat keverékéből áll, avagy 88 m/m% anatázt és 12 m/m% rutilt tartalmaz. Az 1. ábrán szemléltetett transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) felvételen jól látszik, hogy a nanorészecskék változatos morfológiával rendelkeztek, szférikus és poliéderek részecskéket egyaránt tartalmazott a TiO₂ minta. A nanorészecskék mérete ~10-60 nm közötti tartományba esett, méreteloszlásuk erősen polidiszperz volt. Az optikai vizsgálatok

rámutattak, hogy a részecskék képesek a 410 nm-nél rövidebb hullámhosszú fényt abszorbeálni, tehát már UV-A fényvel is gerjeszthetők. A nanorészecskék ún. fotokatalitikus sajátosságát elektronspin-rezonancia spektroszkópia mérésekkel igazoltuk, mely során hidroxilgyököt, szuperoxid-gyökianiont és szingulett oxigént egyaránt kimutattunk az UV-A fényvel megvilágított TiO_2 szuszpenzióban (Kőrösi et al. 2019). Ennek alapján várható, hogy ugyanez a reakció a szőlőlevelek felszínén napfényvel megvilágított nanopartikulumokkal is lezajlik és ott ROS keletkezéséhez vezet.

1. ábra. A szőlőlevelekre kijuttatott Degussa P25 TiO_2 nanorészecskék transzmissziós elektronmikroszkópos felvétele. A képen látható skála 100 nm-t jelöl

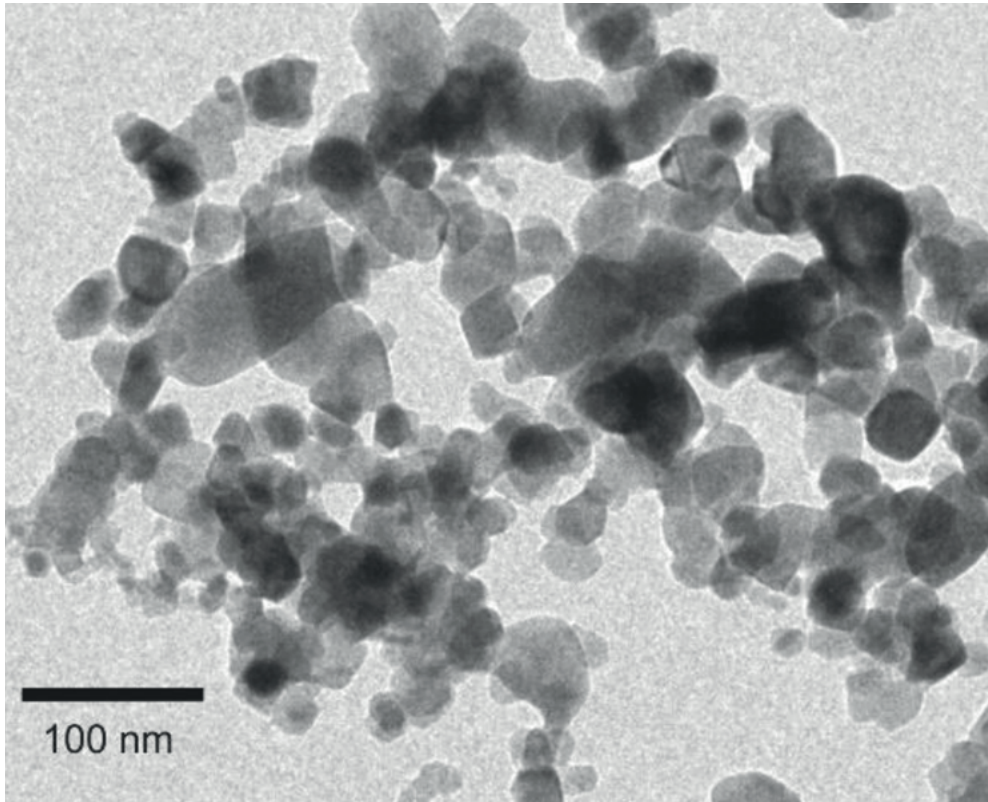


Figure 1. Representative TEM image of Degussa P25 TiO_2 nanoparticles.
Scale bar: 100 nm

A levelek teljes fenolos tartalma

A kezelést követően a levelek teljes fenolos tartalmát Folin-Ciocalteu módszerrel határoztuk meg. Az eredményeket a [2. ábrán](#) mutatjuk be.

2. ábra. Vörösborszőlő-fajták teljes fenolos tartalma TiO_2 nanorészecskékkel kezelt és kontroll levelekben

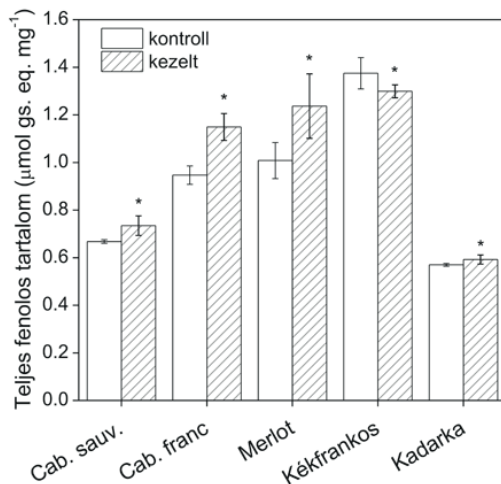


Figure 2. Total phenolic content in the control and TiO_2 -treated leaves of five red grapevine varieties. * significant at $P < 0.05$ level

A kezelés után két héttel mind az öt szőlőfajta „reagált” a TiO_2 nanorészecskék jelenlétére, amit a kezelt és kontroll levelek fenolos tartalma közötti szignifikáns különbség egyértelműen jelzett. A Kékfrankos kivételével a fenolos tartalom mindegyik fajtánál szignifikánsan emelkedett, mely azt jelzi, hogy a szőlőlevelek nem-enzimatisz rendszerét indukálta a fotokatalitikus reakcióban keletkező ROS. Kékfrankos esetén ennek az ellenkezőjét tapasztaltuk, ami azt mutatja, hogy érzékenyebb fajták esetében a nanorészecskékkel keltett ROS alacsonyabb koncentrációt kíván. Ennél a fajtánál az alkalmazott TiO_2 mennyiség által generált ROS-szint már valószínűleg az antioxidáns rendszer kimerülését indíthatta el. A 2. ábráról a kontroll eredmények alapján fajtajellegre utaló különbségek is leolvashatók. A kezeléstől függetlenül például a Cabernet sauvignon és a Kadarka mutatta a legalacsonyabb fenolos tartalmat.

A levelek kaftársav és flavonol-glikozid tartalma

A kivonatok polifenol összetételét HPLC-DAD mérésekkel hasonlítottuk össze. Egy tipikus kromatogram sorozat látható a 3. ábrán, mely szerint mind az öt szőlőfajta nagyon hasonló összetételt mutatott. Az ábrán két jelentősebb intenzitású csúcsot láthatunk, melyek közül az első a kaftársavhoz, a második pedig a kvercetin-glükuronidhoz tartozik. E két főbb fenolos komponensen kívül azonosítottuk még a kvercetin-rutinozidot, a kvercetin-galaktozidot, a kvercetin-glükozidot, valamint a kemferol-glükozidot és a kemferol-glükuronidot. A kaftársavra vonatkozó koncentrációkat a 4. ábrán szemléltetjük, mely alapján megállapítható, hogy a kezelés hatására a szőlőlevelek fő fenolos savjának szintje – a Kékfrankos kivételével – minden fajta esetében növekedett. Kezeléstől függetlenül a Cabernet sauvignon és a Kadarka leveleire lényegesen

alacsonyabb kaftársav szint volt jellemző. Ez utóbbi eredmény összhangban van a teljes fenolos tartalom alakulásával, jelezvén, hogy a teljes fenolos tartalomban a kaftársav jelentős hányadot képviselhet.

3. *ábra.* Vörösborszőlő-fajták metanolos levélkivonatainak jellegzetes HPLC-DAD kromatogramjai 350 nm-en rögzítve. A csúcsok felett feltüntetett számok a következő komponensekhez tartoznak: (1) kaftársav, (2) kvercetin-rutinozid, (3) kvercetin-galaktozid, (4) kvercetin-glükózid, (5) kvercetin-glükuronid, (6) kempférol-glükózid, (7) kempférol-glükuronid

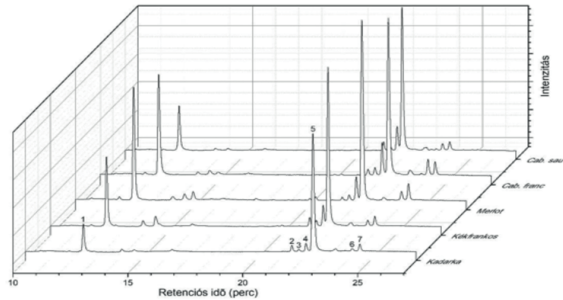


Figure 3. Typical HPLC-DAD chromatograms of methanolic leaf extracts of red grapevine varieties recorded at 350 nm. (1) Caftaric acid, (2) quercetin-3-O-rutinoside, (3) quercetin-3-O-galactoside, (4) quercetin-3-O-glucoside, (5) quercetin-3-O-glucuronide, (6) kaempferol-3-O-glucoside and (7) kaempferol-3-O-glucuronide

4. *ábra.* Vörösborszőlő-fajták kaftársav tartalma TiO_2 nanorészecskékkel kezelt és kontroll levelekben

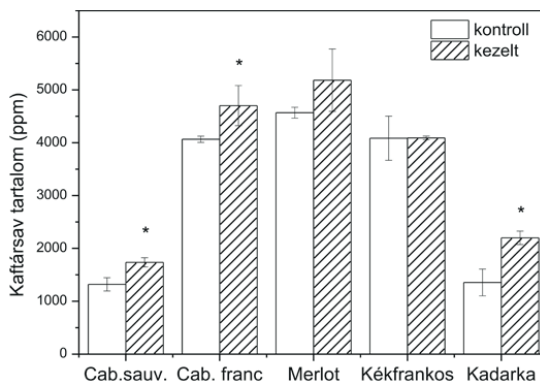


Figure 4. Caftaric acid content in the control and TiO_2 -treated leaves of five red grapevine varieties. * significant at $P < 0.05$ level

A levelek flavonol-glikozidjainak szintje többségében szintén emelkedést mutatott (5. ábra). Figyelemre méltó kivételt a levél fő flavonol-glikozidja, a kvercetin-glükuronid mutatott. E komponens mennyisége szignifikánsan csökkent Cabernet sauvignon, Cabernet franc és a Kékfrankos fajtáknál a nanopartikulumos kezelés hatására. Legjelentősebb mértékű csökkenést a Kékfrankos mutatta. Ezt az eredményt egybevetve azzal, hogy a kaftársav tartalom ennél a fajtánál nem emelkedett, a kezelés után tapasztalt teljes fenolos tartalom csökkenés könnyen értelmezhetővé válik. A Kékfrankos esetén az oxidatív/fotokatalitikus stressz már olyan mértékű lehetett, hogy bár néhány flavonol-származék koncentrációja növekedett, a kulcsfontosságú kaftársav szintje nem változott, ugyanakkor a kvercetin-glükuronid szint jelentősen csökkent. Ez együttesen a teljes fenolos tartalom csökkenéséhez vezetett. A kezeléstől függetlenül a fajta jellegre utaló különbségek a flavonol profilokon szintén jól megfigyelhetők és egybevágnak a kaftársav, valamint a teljes fenolos tartalom alakulásával. Így például a Cabernet sauvignon és Kadarka fajták alacsonyabb kvercetin-glükozid és kvercetin-glükuronid szinttel jellemezhetők a többi fajtához viszonyítva.

5. ábra. Vörösborszőlő-fajták flavonol profilja TiO_2 nanorészecskékkel kezelt és kontroll levelekben

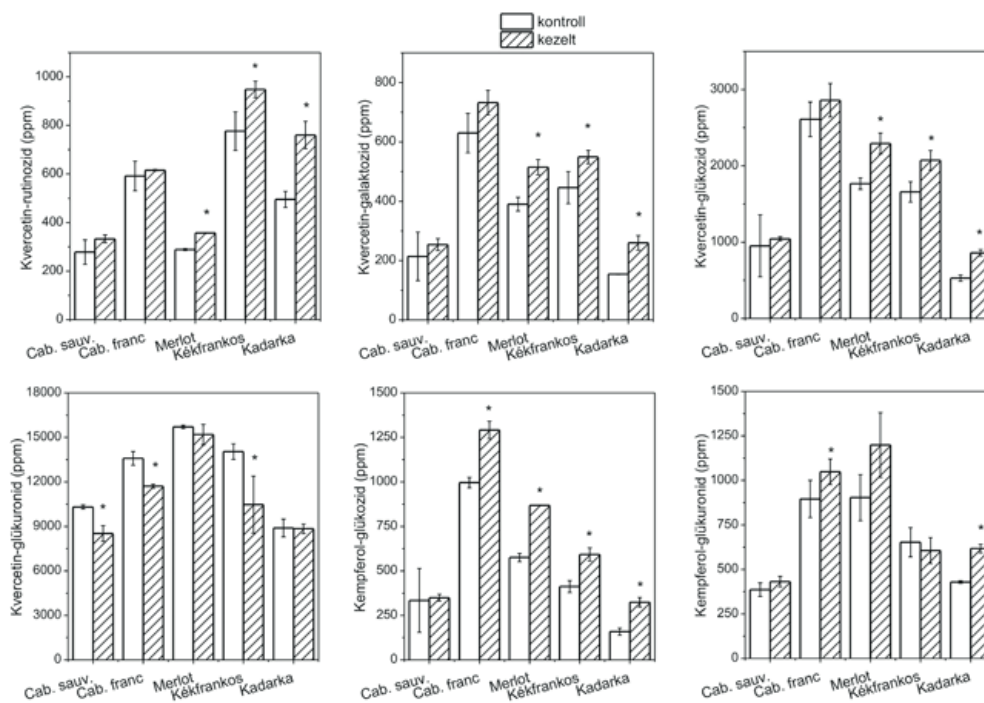


Figure 5. Effects of the TiO_2 treatment on the flavonol profile in the leaves of five red grapevine varieties. * significant at $P < 0.05$ level

A levelek makro- és mikroelem tartalma

Végül ICP-AES mérésekkel tanulmányoztuk a levelek főbb makro- és mikroelem tartalmát. A 6. ábrán bemutatott eredmények alapján a levelek K, Mg, Ca, B és Mn koncentrációja a TiO₂ nanorészecskék hatására emelkedett. Kezeléstől függetlenül a Ca, Mg és B tartalom változása között pozitív korrelációt mutattunk ki. Habár a kezelt és kontroll levelek foszfor tartalma között nem volt szignifikáns különbség, a Kadarka levelekben (a kezeltnél és a kontrollnál is) lényegesen magasabb foszfor koncentrációt mutattunk ki a többi vörösorszóló-fajtához viszonyítva. A Kadarka magasabb P tartalmát valószínűleg genotípus miatti különbségnek tudhatjuk be, mivel a tőkék azonos parcellán helyezkedtek el, megegyező természetés-technológia mellett. A TiO₂ hatására megemelkedett makro- és mikroelem tartalom oka egyelőre még nem tisztázott, így további vizsgálatok szükségesek. Feltételezhetjük azonban, hogy a fotokatalitikus úton generált ROS a szőlő hormonális szabályozására is hatott, megváltoztatva ezzel fiziológiai folyamatait, pl. a sztómák szabályozását és ezen keresztül transzspirációs rátáját. Így például egy fokozott transzspiráció előidézhette a levelekben a tápelemek akkumulációját (Teszák et al. 2018).

6. ábra. Vörösorszóló-fajták K, P, Mg, Ca, B és Mn tartalma TiO₂ nanorészecskékkel kezelt és kontroll levelekben

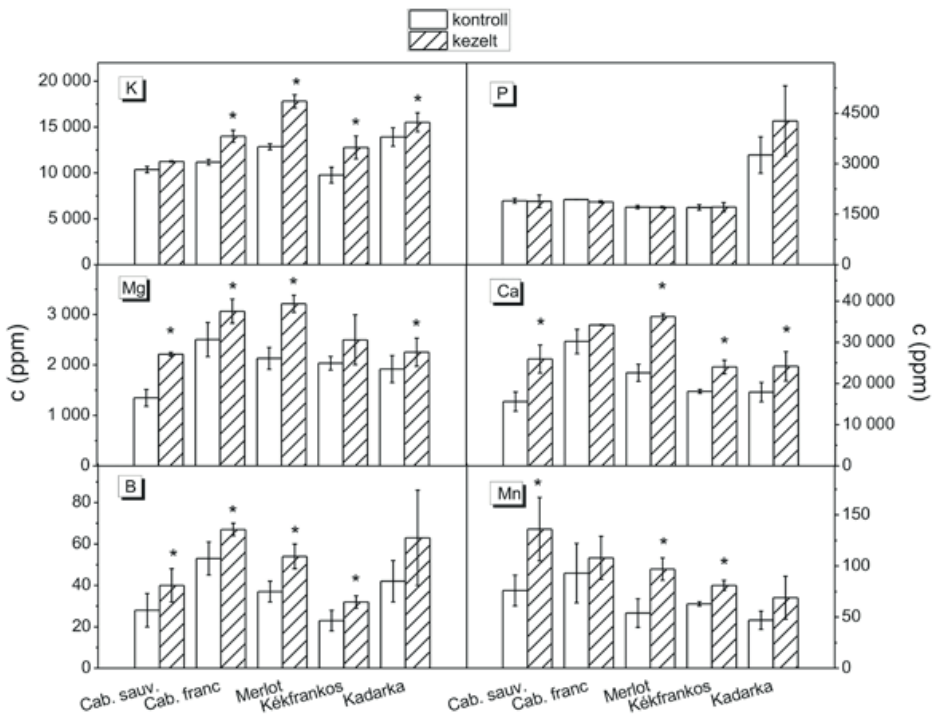


Figure 6. Effects of the TiO₂ treatment on the K, P, Mg, Ca, B and Mn contents in the leaves of five red grapevine varieties. * significant at P < 0.05 level

Összefoglalva elmondható, hogy a fotoreaktív TiO_2 nanorészecskék szőlőlevelekre permetezve hatással vannak azok nem-enzimatikus antioxidáns rendszerére és tápelemtartalmára. Munkahipotézisünk szerint a levelek felületén fotogenerált ROS - mint szignálmolekulák - fajtától függően a kaftársav és a különböző flavonol-glikozidok szintézisének szabályozásán keresztül növelhetik a levelek antioxidáns kapacitását. Az öt vörösborszőlő-fajta közül négy pozitívan reagált a nanorészecskék jelenlétére, míg egynek (Kékfrankos) csökkent a teljes fenolos tartalma. Ez utóbbi eredmény felhívja a figyelmet arra, hogy az érzékenyebb fajták esetén a túlzott ROS-generálás a növény védelmi rendszerének kimerülését okozhatja. A négy fajta pozitív eredménye pedig azt mutatja, hogy a TiO_2 kezelés nem csak közvetlen kémiai úton (például a nanopartikulumok antimikrobiális tulajdonságát kihasználva), hanem közvetve a levelek biológiai védekezőképességét megerősítve is fontos növényvédelmi módszer lehet (Kőrösi et al. 2019).

Köszönetnyilvánítás

A tanulmány az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának és a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíjának támogatásával készült.

Irodalomjegyzék

1. Carp, O., Huisman, C.L. and Reller, A. 2004. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Prog. Solid State Ch.* 32: 33-177.
2. Csepregi, K. and Hideg, É. 2018. Phenolic compound diversity explored in the context of photooxidative stress protection. *Phytochem. Analysis*, 29: 129-136.
3. Das, K. and Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci.* 2: 1-13.
4. Del Castillo Alonso, M.Á., Diago, M.P., Monforte, L., Tardaguila, J., Martínez Abaigar, J. and Núñez Olivera, E. 2015. Effects of UV exclusion on the physiology and phenolic composition of leaves and berries of *Vitis vinifera* cv. Graciano. *J. Sci. Food Agr.* 95: 409-416.
5. Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Bioch.* 48: 909-930.
6. Gogos, A., Knauer, K. and Bucheli, D.T. 2012. Nanomaterials in Plant Protection and Fertilization: Current State, Foreseen Applications and Research Priorities. *J. Agric. Food Chem.* 60: 9781-9792.
7. Hatami, M., Kariman, K. and Ghorbanpour, M. 2016. Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Sci. Total Environ.* 571: 275-291.
8. Kőrösi, L., Bognár, B., Horváth, M., Schneider, G., Kovács, J., Scarpellini, A., Castelli, A., Colombo, M. and Prato, M. 2018. Hydrothermal evolution of PF-co-doped TiO_2 nanoparticles and their antibacterial activity against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Appl. Catal. B-Environ.* 231: 115-122.
9. Kőrösi, L., Boudérias, S., Csepregi, K., Bognár, B., Teszlák, P., Scarpellini, A., Castelli, A., Hideg, É. and Jakab, G. 2019. Nanostructured TiO_2 -induced photocatalytic stress enhances the antioxidant capacity and phenolic content in the leaves of *Vitis vinifera* on a genotype-dependent manner. *J. Photoch. Photobio. B*: 190: 137-145.
10. Kőrösi, L., Prato, M., Scarpellini, A., Kovács, J., Dömötör, D., Kovács, T. and Papp, S. 2016. H_2O_2 -assisted photocatalysis on flower-like rutile TiO_2 nanostructures: Rapid dye degradation and inactivation of bacteria. *Appl. Surf. Sci.* 365: 171-179.

11. Kőrösi, L., Prato, M., Scarpellini, A., Riedinger, A., Kovács, J., Kus, M., Meynen, V. and Papp, S. 2015. Hydrothermal synthesis, structure and photocatalytic activity of PF-co-doped TiO₂. *Mat. Sci. Semicon. Proc.* 30: 442-450.
12. Król, A., Amarowicz, R. and Weidner, S. 2014. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiol. Plant.* 36: 1491-1499.
13. Król, A., Amarowicz, R. and Weidner, S. 2015. The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *J. Plant Physiol.* 189: 97-104.
14. Lima, M.R.M., Felgueiras, M.L., Cunha, A., Chicau, G., Ferreres, F. and Dias, A.C.P. 2017. Differential phenolic production in leaves of *Vitis vinifera* cv. Alvarinho affected with esca disease. *Plant Physiol. Bioch.* 112: 45-52.
15. Mittler, R. 2017. ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22: 11.
16. Schoedl, K., Schuhmacher, R. and Forneck, A., 2013. Correlating physiological parameters with biomarkers for UV-B stress indicators in leaves of grapevine cultivars Pinot noir and Riesling. *J. Agric. Sci.* 151: 189-200.
17. Teszlák, P., Kocsis, M., Scarpellini, A., Jakab, G. and Kőrösi, L. 2018. Foliar exposure of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to TiO₂ nanoparticles under field conditions: Photosynthetic response and flavonol profile. *Photosynthetica*, 56: 1378-1386.
18. Yao, K.S., Wang, D.Y., Ho, W.Y., Yan, J. and Tzeng, K.C. 2007. Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin film on plant pathogens. *Surf. Coat. Tech.* 201: 6886-6888.
19. Zhang, J., Liu, Y., Li, Q., Zhang, X. and Shang, J.K. 2013. Antifungal activity and mechanism of palladium-modified nitrogen-doped titanium oxide photocatalyst on agricultural pathogenic fungi fusarium graminearum. *ACS Appl. Mater. Inter.* 5: 10953-10959.

Impact of photoreactive nanoparticles on polyphenol profile and macro- and micro elements in the leaves of red grapevine varieties

BOUDERIAS, S.^{1,2}, TESZLÁK, P.¹, BOGNÁR, B.³,
CSEPREGI, K.², HIDEG, É.², JAKAB, G.^{1,2}, KŐRÖSI, L.^{1*}

¹Research Institute for Viticulture and Oenology, University of Pécs

²Department of Plant Biology, University of Pécs

³Institute of Organic and Medicinal Chemistry, University of Pécs

E-mail: korosi.laszlo@pte.hu

Summary

Application of nanostructured materials possessing unique features has been continuously increasing in the industrial, agricultural and medical fields. The special property of photoreactive titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles is the ability to produce reactive oxygen species (ROS) under UV light illumination. This feature enables the exploitation of TiO₂ nanoparticles as potential plant protection agents. Moreover, because controlled low concentrations of ROS play a key role in the regulation of several biosynthetic pathways including antioxidant protection,

nanoparticle-derived ROS may strengthen the leaves' natural protective system. Latter, however, should be performed avoiding oxidative stress via generating too high ROS fluxes. Although the antimicrobial property of TiO₂ nanoparticles is of great interest in practice, the available information on their phytotoxicity is limited. In this work, we studied how TiO₂ nanoparticles affect the total phenolic content, flavonol profile and the nutrient composition of grapevine leaves. Five red grapevine varieties (Cabernet sauvignon, Cabernet franc, Merlot, Kékfrankos and Kadarka) were examined in field experiments. Based on the high-performance liquid chromatography (HPLC) measurements, we found that the level of caftaric acid and flavonol glycosides increased significantly in the TiO₂-treated leaves depending on the grapevine variety. The enhancement of the total phenolics production was also confirmed. Moreover, TiO₂ nanoparticles increased the concentration of the main macro- and microelements (Ca, Mg, K, B, and Mn) in the leaves as shown by ICP-AES measurements.

Keywords: grapevine (*Vitis vinifera* L.), polyphenols, antioxidant capacity, titanium dioxide nanoparticles, macro- and microelements

Szerzők:

Boudierias Sakina – PhD hallgató, Pécsi Tudományegyetem, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet, H-7634 Pécs, Pázmány Péter u. 4.

Tesztlák Péter – PhD, tudományos munkatárs, Pécsi Tudományegyetem, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet, H-7634 Pécs, Pázmány Péter u. 4.

Bognár Balázs – PhD, egyetemi adjunktus, Pécsi Tudományegyetem, Szerves és Gyógyszerkémiai Intézet, 7624 Pécs, Honvéd u. 1.

Csepregi Kristóf – PhD, egyetemi adjunktus, Pécsi Tudományegyetem, Növénybiológiai Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6.

Hideg Éva – DSc, egyetemi tanár, tanszékvezető, Pécsi Tudományegyetem, Növénybiológiai Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6.

Jakab Gábor – PhD, egyetemi tanár, intézetigazgató, Pécsi Tudományegyetem, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet, H-7634 Pécs, Pázmány Péter u. 4.; Pécsi Tudományegyetem, Növénybiológiai Tanszék, 7624 Pécs, Ifjúság u. 6.

Kőrösi László Tamás (kapcsolattartó szerző) – PhD, tudományos főmunkatárs, Pécsi Tudományegyetem, Szőlészeti és Borászati Kutatóintézet, H-7634 Pécs, Pázmány Péter u. 4.