

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

MIHOK EMŐKE

DEBRECEN

2025.

DEBRECENI EGYETEM
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezető:

Dr. Komlósi István D.Sc.
egyetemi tanár, az MTA doktora

Témavezetők:

Dr. Máthé Endre Ph.D.
egyetemi docens

Dr. György Éva Ph.D.
egyetemi tanár

**Növényi extraktumok bioaktív hatásainak vizsgálata transzlációs
modellben és halivadék-takarmányozásban**

Készítette:

Mihok Emőke
doktorjelölt

Debrecen

2025.

**NÖVÉNYI EXTRAKTUMOK BIOAKTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA
TRANSZLÁCIÓS MODELLBEN ÉS HALIVADÉK-TAKARMÁNYOZÁSBAN**

**Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
az állattenyésztési tudományok tudományágban**

Írta: MIHOK EMŐKE
okleveles élelmiszeripari mérnök

Készült a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
(Takarmányozás, Halbiológia programja) keretében

Témavezetők: Dr. MÁTHÉ ENDRE Ph.D.

Dr. GYÖRGY ÉVA Ph.D.

Az értekezés bírálói:

Név	fokozat	aláírás
.....
.....

A bíráló bizottság:

Név	fokozat	aláírás
elnök:
tagok:
.....
.....
titkár:

Az értekezés védésének időpontja: 20.....

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
2.1. Növényi kivonatok jelentősége	14
2.1.1. A fekete ribizli (<i>Ribes nigrum</i> L.)	14
2.1.2. A szeder (<i>Rubus fruticosus</i> L.)	16
2.1.3. A fekete áfonya (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	18
2.2. A vizsgált növényi eredetű bioaktív hatóanyagok bemutatása	21
2.2.1. A polifenolok	21
2.2.2. A flavonoidok	22
2.2.3. Az aminosavak	23
2.2.4. A vitaminokról általánosan	24
2.3. Növényi kivonatok összetételének vizsgálata UHPLC-ESI-MS módszerrel	26
2.4. A kutatás során alkalmazott <i>in vitro</i> antioxidáns hatás mérésére szolgáló módszerek bemutatása	27
2.4.1. Vasredukáló képességen alapuló FRAP eljárás bemutatása	27
2.4.2. DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás eljárásának bemutatása	28
2.4.3. Össz polifenol-tartalom vizsgálata (TPC) Folin- Ciocâlteu reagenssel	28
2.5. Az alkalmazott antimikrobiális vizsgálatok	29
2.5.1. Az antimikrobiális vizsgálatokban alkalmazott mikroorganizmusok	30
2.6. Transzlációs modellrendszerek bemutatása	38
2.6.1. <i>Drosophila melanogaster</i> szerepe a táplálkozási modellrendszerben	38
2.6.2. A ponty (<i>Cyprinus carpio</i>) szerepe a táplálkozási modellrendszerben	41
2.6.3. Újfajta nutritív transzlációs modellrendszer megalkotása	43
2.6.3.1. ATP-mérés mint közvetlen bizonyíték a nutritív hatások értékelésében	44
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	45
3.1. Vizsgált növényi kivonatok	45
3.2. Növényi nyersanyagok előkészítése és extrakciója	45

3.3. Növényi GTE összetétel vizsgálata UHPLC-ESI-MS módszerrel.....	46
3.4. A rügykivonatok várható élettani hatásainak előjelzése	52
3.5. A rügykivonatok <i>in vitro</i> antioxidáns sajátosságainak vizsgálata.....	52
3.5.1. Össz polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel	52
3.5.2. A teljes antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP-módszerrel	53
3.5.3. Az antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH gyök megkötéssel	54
3.6. A GTE-k antimikrobiális hatásának vizsgálata	54
3.6.1. Vizsgált mikroorganizmusok	54
3.6.2. A vizsgált mikroorganizmusok tenyésztése	55
3.6.3. Az antimikrobiális hatás vizsgálata.....	55
3.6.4. A minimális gátló koncentráció kimutatása	56
3.6.4.1. Mikrohígítós módszer folyékony tápközegben	56
3.6.4.2. A minimális gátló koncentráció meghatározása (MIC).....	56
3.6.4.3. A minimális baktericid koncentráció meghatározása (MBC)	56
3.7. Transzlációs modellrendszer vizsgálata	57
3.7.1. <i>Drosophila melanogaster</i> tenyésztése.....	57
3.7.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> életképességi vizsgálatok.....	58
3.7.1.2. A <i>Drosophila w^{m4h}</i> lárvák transzkriptom vizsgálata NM és HS étrend hatására, GTE-kezelés nélkül.....	59
3.7.2. A zsenge ponty (<i>Cyprinus carpio</i>) előállítása és életképességi vizsgálata	60
3.7.2.1. A pontyivadék kiegészítő tápjának kidolgozása.....	61
3.7.2.2. A pontyivadék ATP-tartalmának meghatározása.....	62
3.8. Statisztikai elemzés	62
4. EREDMÉNYEK.....	63
4.1. Fitonutriens profil meghatározása a fekete ribizli, szeder és fekete áfonya rügykivonatok esetében.....	63
4.1.1. A GTE-ok bioaktív hatóanyag összetételének azonosítása.....	63
4.1.2. Azonosított fitonutriensek élettani hatásainak szakirodalmi áttekintése.....	70
4.1.3. A vizsgált GTE-k összes polifenol- és flavonoid tartalmának meghatározása	72
4.1.4. Szelektált polifenolok kvantitatív elemzése a tanulmányozott GTE-k kapcsán.....	74

4.2. A rügykivonatok antimikrobiális hatásának eredményei	76
4.2.1. Az agardiffúziós módszer alkalmazása során kapott eredmények.....	76
4.2.2. A rügykivonatok bakteriosztatikus hatásának a vizsgálata táplevesben történő tenyésztéses módszerrel	79
4.2.3. A rügykivonatok minimális baktericid koncentrációjának vizsgálati eredményei	81
4.3. A rügykivonatok nutritív hatásának vizsgálata a <i>Drosophila melanogaster</i> egyedfejlődésére	83
4.3.1. Normál és magas szénhidrát tartalmú étrend hatása a <i>Drosophila melanogaster</i> w^{m4h} egyedfejlődésére.....	84
4.3.2. A <i>Drosophila w^{m4h}</i> lárvák transzkriptom eredményei NM és HS étrend hatására, GTE-kezelés nélkül.....	85
4.3.3. Rügykivonatok hatásainak vizsgálata a <i>Drosophila</i> egyedfejlődésére	100
4.4. A rügykivonatok nutritív hatásának vizsgálata a zsenge pontyok kiegészítő táppal történő etetésében	110
5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	115
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	136
7. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK.....	138
8. ÖSSZEFOGLALÁS.....	140
9. SUMMARY	142
10. IRODALOMJEGYZÉK	144
11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN.....	178
12. NYILATKOZATOK.....	183

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ASA	<i>Acid ascorbic</i> / Aszkorbinsav
ATP	Adenozin-5'-trifoszfát
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> / Vasredukálóképességen alapuló hatás
GAE	<i>Gallic acid equivalent</i> / Galluszsav egyenérték
GTE	Gemmoterápis extraktum
HS	<i>High-sugar media</i> / Magas szénhidrát tartalmú tápközeg
LC/MS	<i>Mass spectrometry</i> / Tömegspektrometria
MBC	<i>Minimum Bactericidal Concentration</i> / Minimális baktericid koncentráció
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i> / Minimális gátló koncentráció
mRNS	hírvívő RNS
NEBH	növényi eredetű bioaktív hatóanyagok
NM	<i>Normal media</i> / normál szénhidrát tartalmú tápközeg
Rf	<i>Rubus fruticosus</i> L., Szeder
Rn	<i>Ribes nigrum</i> L., Fekete ribizli
RNS	Ribonukleinsav
RT-PCR	<i>Real-time Polymerase Chain Reaction</i> / Valós idejű polimeráz láncreakció
TPC	<i>Total Polyphenol Content</i> / Összes polifenol-tartalom
TPTZ	2,4,6-tripiridil-S-triazin
UHPLC-MS	<i>Ultra-high performance liquid chromatography</i> / Ultra nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia- tömegspektrometria
Vm	<i>Vaccinium myrtillus</i> L., Fekete áfonya

1. BEVEZETÉS

Az egészség és a jólét megőrzésében a fitoterápia a természetes gyógymódokra és a növények gyógyító tulajdonságaira támaszkodik. Alapelve, hogy a növényekben található aktív vegyületek és tápanyagok hozzájárulhatnak a szervezet működésének támogatásához és a betegségek kezeléséhez. A fitoterápia hatékonyságát és biztonságosságát egyre több tudományos kutatás vizsgálja, így a modern módszerek révén jobban megérthetővé válnak a hatásmechanizmusok és az egyes növények biológiai hatásai. Növekvő népszerűségét az indokolja, hogy sokan keresnek természetes, mellékhatásoktól mentes alternatívákat.

A fitoterápiában a növényeket különböző formákban alkalmazzák, például teák, tinktúrák, kivonatok vagy krémek készítésére. Felhasználhatók az egész növények, illetve részeik (levelek, virágok, termések, gyökerek, magvak). Ugyanakkor a növényi rügyek és hajtások hagyományos felhasználásáról, valamint modern kutatási eredményeiről mindeddig kevés információ áll rendelkezésünkre. A Dr. Máthé Endre vezette kutatócsoport munkái alapján feltételezhető, hogy a rügyek gazdagok olyan fitonutriens anyagokban, amelyek támogathatják a sejtek optimális működését.

Az embrionális növényi szövetekből készült rügykészítmények (gemmoterápiás extraktumok, GTE-k) potenciális szerepet játszhatnak a humán és használati egészség megőrzésében, mivel szintetikus megfelelőjük nincs, és egyedülálló hatóanyagaik révén preventív és terápiás jelentőségük is lehet. A rügykészítményekben található mikro- és makrotápanyagok befolyásolhatják a sejtanyagcserét, a redox állapotot, az intracelluláris kommunikációt és a sejtciklust, ezáltal hatással lehetnek az immun- és idegrendszer működésére, az adaptív stresszválaszokra és a gyulladási folyamatok mérséklésére.

Kutatásom célja volt a különböző zsenge növényi rügyekből készült extraktumok bioaktív hatóanyag-tartalmának, valamint élettani és antimikrobiális hatásainak vizsgálata. Ehhez az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) modellrendszert, majd kiegészítésként a ponty (*Cyprinus carpio*) táplálkozó lárváit alkalmaztam. Az ecetmuslica és a pontylárvák eredményeinek összekapcsolásával sikerült kialakítani egy transzlációs modellrendszert, amely hasznosítható a célzott haltáp-fejlesztésekben, különösen a zsenge halivadékok táplálkozási életképességének javítása érdekében.

CÉLKITŰZÉSEK

Kutatási munkám során olyan növényi rügyextraktumokat (GTE) vizsgáltam, amelyekről a szakirodalmi ismereteink hiányosak vagy éppen teljesen hiányoznak ellentétben például a bogyós termésekkel vagy a növényi levélrészekre vonatkozó tanulmányokkal. Céлом volt a fekete áfonya, szeder és fekete ribizli rügykivonatok beltartalmi vizsgálata analitikai módszerekkel és ezen komplex hatóanyag kivonatok antimikrobiális hatásainak jellemzése is. Ezt követően nutritív hatástani vizsgálatok következtek elsőként az ecetmuslica majd a ponty fajokat alkalmazva modellként. Ez utóbbi kísérletek eredményeit összekapcsolva egy ponty hallárva specifikus transzlációs modellrendszer létrehozása volt a cél, amely alkalmas lehet további hallárva tápok kifejlesztésére. Ugyanakkor tekintettel arra, hogy a rügykivonatok azonos protokoll alapján készültek, így a különféle kísérleti eredmények összehasonlíthatóak ezzel is megalapozva a disszertációban ismertetett kutatások és eredmények komparatív jellegét.

1. Fitokémiai célkitűzések

- A fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus*), a szeder (*Rubus fruticosus*) és a fekete ribizli (*Ribes nigrum*) gemmoterápiás extraktumok előállítás.
- Az UHPLC-ESI-MS módszer alkalmazásával a kivonatok növényi eredetű bioaktív hatóanyag-profiljának meghatározása, valamint a teljes polifenol- és flavonoid-tartalom mérése.
- A kapott hatóanyag-profilok összehasonlítása, valamint szakirodalmi áttekintés készítése a komponensek ismert biológiai hatásairól.
- Prediktív becslések megfogalmazása a kivonatok feltételezhető élettani hatásaira, amelyek további kutatási irányokat jelölhetnek ki.

2. Antimikrobiális hatásvizsgálatok

- A GTE-k antimikrobiális hatásának vizsgálata olyan mikroorganizmusok esetében, amelyek takarmányokban és élelmiszerekben fordulhatnak elő, és állati, illetve emberi fogyasztók megbetegedését okozhatják.
- A mikrobiális gátló hatás vizsgálata agar-diffúziós módszerrel, majd a minimális gátló koncentráció (MIC) és a minimális baktericid koncentráció (MBC) meghatározása.

- A kapott eredmények alapján a GTE-k antimikrobiális hatásának értékelése a fogyasztókra jellemző mikrobióta kapcsán.

3. Nutritív hatások és anyagcsere-értékelés

- A normál és magas szénhidrát-tartalmú táptalajon tenyésztett *muslica*-populációk teljes transzkriptomjának elemzése, különös tekintettel a hemolimfa/hormonok és a citoskeletális gének expressziójára.
- A GTE-k táplálkozástani hatásainak vizsgálata *Drosophila melanogaster* alapú nutració modelleiben, háromféle étrendi összeállítás alkalmazásával.
- A GTE-k hatásainak vizsgálata táplálkozó pontylárvákban: életképességi paraméterek mérése és az ATP-termelés mennyiségi analízise.

4. Modellrendszerek és transzlációs alkalmazás

- Transzlációs modellrendszer kialakítása, amely a *Drosophila melanogaster* és *Cyprinus carpio* pontyfajon szerzett eredményeket integrálva alkalmas lehet a GTE-k hatásmechanizmusainak jobb megértésére, valamint hallárva takarmányok fejlesztésének tudományos megalapozására.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A rügykivonatok élettani jelentősége egyre szélesebb körben kezd ismert lenni az emberek számára, egészségük fenntartása és megőrzésük kapcsán. Egyrészt, a rügyek minimális kalória- és zsírtartalma, másrészt kedvező makro- és mikrotápanyag-összetétele megfelelővé teszi őket mind emberi, mind állati felhasználásra. Ugyanakkor a rügyek gazdagok fitonutriensekben vagy bioaktív hatóanyagokban, amelyek tovább növelhetik a fogyasztók celluláris életjelenségeinek hatékonyságát. Tekintettel a **növényi eredetű bioaktív hatóanyagok** – NEBH előfordulási jellemzőire, gyakorta őket a mikronutriens kategóriába sorolják (CICERO és COLLETTI, 2016). A doktori dolgozatommal kapcsolatos kutatómunka az olyan növényi fajok rügyeire fókuszál, mint a **fekete áfonya** (*Vaccinium myrtillus*), **szeder** (*Rubus fruticosus*) és a **fekete ribizli** (*Ribes nigrum*). Egyre több indirekt kísérleti bizonyíték látszik igazolni a NEBH-knak a fogyasztókra gyakorolt kedvező élettani hatásait, azonban az ezekkel kapcsolatos celluláris (GULDIKEN és mtsai., 2018; RESCIGNO és mtsai., 2018) és antimikrobiális (BANDERIA és mtsai., 2018; JODAA HOLM és mtsai., 2016) hatásmechanizmusok kevésbé ismertek. Ilyen értelemben, minden olyan kutatás, amely arra irányul, hogy ismerjük meg jobban a növényi eredetű bioaktív hatóanyagoknak az élettani hatásait, abszolút időszerű és előremutató, hiszen mintegy feltételét jelenti az egészség-orientált táplálkozásnak és minőségi takarmányozásnak.

A NEBH-k a növények másodlagos anyagcsere-folyamatai során keletkező vegyületek, és a humán illetve állati fogyasztók szervezetében fontos szerepet játszanak a betegségek elkerülésében és esetleges terápiájában (CICERO és COLLETTI, 2016; HOWES és SIMMONDS, 2014). Ugyanakkor számos kutatás igazolni látszik a NEBH-k antimikrobiális hatásait (PISOSCHI és mtsai., 2018), miközben az *in vitro* körülmények között mért antioxidáns kapacitásuk közismert. A NEBH-kat lehet tanulmányozni koncentráció-függően egyenként, avagy komplex extraktumok formájában, ez utóbbi esetben, olyan komplementer élettani hatásokat és szinergiákat lehet feltételezni, amelyeknek okai inkább sztochasztikus, mint determinisztikus jelleggel bírnak. A NEBH-ek által, a fogyasztókra gyakorolt hatások kapcsán gyakorta megfigyelhető a dózis-függő hormézis jelensége is (CALABRESE és mtsai., 2012).

A növényi alapanyagból előállított extraktumok bioaktív hatóanyag összetételének vizsgálatával és celluláris hatásmechanizmusával már több mint tíz éve foglalkozik Dr. Máthé Endre kutatócsoportja (VÍGH és mtsai., 2016^a, 2016^b, 2017^a, 2017^b). Az is

igazolást nyert, hogy a növényi extraktumok *in vitro* antioxidáns kapacitása gyümölcsfajonként, de sok esetben fajtán belül is változik. Bebizonyított tény, hogy pl. a bogyók számottevően nagyobb antioxidáns kapacitással rendelkeznek, mint az alma és az őszibarack, de sok esetben ugyanúgy, mint a szőlő (SCALZO és mtsai., 2005; HEGEDŰS és mtsai., 2008). Ez a különbség számottevően többszörös eltéréssel is nagyobb lehet egyes fajtákban a fekete ribizli (*Ribes nigrum*), a szeder (*Rubus fruticosus*) és a fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus*) esetében (BALOGH és mtsai., 2010; MEMETE és mtsai., 2023; CIULCA és mtsai., 2021). A növényi extraktumoknak az *in vitro* körülmények között mért antioxidáns kapacitását, gyakorta ezen extraktumok *in vivo* redox potenciált közvetlenül szabályozó hatásával hozták összefüggésbe. Mára kiderült, hogy a növényi extraktumokban lévő bioaktív hatóanyagok nem annyira közvetlenül, mint inkább közvetve és számos intracelluláris jelenségen keresztül képesek növelni az adaptív stresszválasz hatékonyságát beleértve a redox potenciál szabályozását is. Ez pedig azt jelenti, hogy a tanulmányozandó növényi extraktumok indukálta élettani hatások kapcsán multidiszciplináris kutatási stratégiát fogok alkalmazni.

Másfelől az is megállapítható, hogy ellentétben az antimikrobiális effektusokkal, a tanulmányozandó növényi fajokban előforduló bioaktív hatóanyagokról, valamint ezeknek a fogyasztókra *Drosophila melanogaster* w^{m4h} gyakorolt élettani hatásaikkal kapcsolatosan relatíve kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Annak érdekében, hogy többet tudjak meg a vizsgálandó növényekben előforduló hatóanyagokról és az általuk generált élettani effektusok hatásmechanizmusáról, összekapcsoltam az ecetmuslica és ponty modell fajokot. Mivel a *Drosophila melanogaster* w^{m4h} életszakaszaira jellemző táplálkozási feltételek viszonylag jól ismertek (PIPER és mtsai., 2014; BASS és mtsai., 2007), hasonlóan a *Cyprinus carpio* esetében is (TAKEUCHI és mtsai., 2002), a két faj kombinált vizsgálata lehetőséget ad arra, hogy a muslica lárvák táplálkozásának és egyedfejlődésének vizsgálati eredményeit felhasználjuk a ponty lárvák esetében is. A muslica kísérlet során kapott adatok, különösen a növényi extraktumok által kiváltott élettani hatások és a táplálkozás szabályozásának összefüggései, alapot nyújtanak a ponty lárvák tápanyagfelvételének és fejlődési folyamatainak az elemzéséhez. Kutatásom alapjául azért választottam az ecetmuslicát és a pontyot, mert egy ilyen kapcsolt modellrendszer szavatolja a választott tematika ok-okozati összefüggéseinek inter- és multidiszciplináris értelmezését a táplálkozás – génexpresszió szabályozás és egyedfejlődés összefüggéseiben. Ez egy újfajta transzlációs megközelítés, amelynek alapját a celluláris mechanizmusok evolúciós konzerváltsága adja. Az ecetmuslica

esetében sikerült bizonyítani, hogy a fölös mennyiségű szénhidrát- és lipid bevitel kóros élettani hatásokat idézhet elő (ZHANG és LERMAN, 2016; MUSSELMAN és mtsai., 2011), de bizonyos növényi eredetű hatóanyagok kedvező, preventív hatásokkal is rendelkezhetnek (NAGPAL és ABRAHAM, 2017; PROSHKINA és mtsai., 2016). Ugyanakkor az ecetmuslica összes génjeinek az expressziós egyedfejlődési profilja és az interaktomjainak ismeretében viszonylag hatékonyabban deríthetjük ki a vizsgálandó növényi extraktumok által generált élettani hatások genetikai szabályozottságát. Ezekre az eredményekre alapozva célunk annak vizsgálata, hogy a különböző növényi hatóanyagok milyen mértékben befolyásolják a pontylárvák táplálkozási és fejlődési sajátosságait. Ezzel hozzájárulhatunk az élettani szabályozás evolúciósan konzervált mechanizmusainak mélyebb megértéséhez. A *Cyprinus carpio*, mint mérsékelt égövi mindenevő halfaj (BAKOS, 1968; PINTÉR, 2002), a pontyfélék (*Cyprinidae*) családjába tartozik, és különösen alkalmas a táplálkozó lárvák (zsenge ivadékok) tápanyagfelvételének tanulmányozására. A ponty lárvái táplálkozásuk kezdetén, az első három napban kizárólag élő táplálékot képesek fogyasztani: zárt rendszerben ez jellemzően frissen kelt sórák (*Artemia salina*), míg természetes környezetben elsősorban kerekesszervek (*Rotatoria*) szolgálnak táplálékkul. Ezt követően etethetők élő táplálék alapú (planktonikus szervezeteket tartalmazó) vagy speciális, haltáp alapú étrenddel is. A speciális haltápnak több előnye van a zsákmányolható táplálékszervezetekkel szemben, mivel a táp összeállítása során jobban figyelembe lehet venni a lárvák tápanyagigényeit, elkerülhető a patogénekkal és toxinokkal történő szennyeződés, és növelhető a haltermelés költséghatékonysága. Ugyanakkor kísérleti adatok arra utalnak, hogy a pontynak (hasonlóan más tenyésztett halfajokhoz) ebben az érzékeny életszakaszában különösen fontos a megfelelő táplálékellátottság. (SHARMA és mtsai., 1999), bár a makronutriensek közötti arányok nagyon megoszlanak ((PHAN és mtsai., 2019; TERECH-MAJEWSKA és mtsai., 2016). A haltakarmányozás minden esetben a környezeti tényezők függvénye. Így, a táplálóanyag és energiaszükséglet becslést meghatározza a víz hőmérséklete (például minden 10 °C-ként való emelkedőfok kétszer annyi energiaszükségletet igényel), oxigén-, és sótartalma. De a tényleges energia szükségletet a metabolikus testtömeggel lehet megbecsülni. Továbbá, figyelembe kell venni a hal életkorát, aktivitását, élettani állapotát, táplálék összetételét és annak emészthetőségét. Standard környezeti hőmérsékleten (23 °C-on) a kifejlett pontyok számára a kiegyensúlyozott haltáp mintegy 35-45%-nyi fehérjét, 15-25%-nyi lipidet és 45-65%-nyi szénhidrátot tartalmazhat (TÖLG és TASNÁDI 1996; HANCZ, 2007).

Ugyanakkor a táplálkozó pontylárvák esetében – a gyors növekedés és a szövetépítés miatt – ennél jóval magasabb, akár 50–60% fehérjetartalomra van szükség, miközben a lipid- és szénhidrátszintek csak mérsékelten módosulnak, mivel a lárvák emésztőrendszere még nem képes hatékonyan hasznosítani ezeket az energiaforrásokat (GALKO és mtsai., 2023; FAO, 2004. Az is kiderült, hogy a ponty egyedfejlődésének egyes szakaszai eltérő makronutriens-igényeket mutatnak (SOUTHGATE és KOLKOVSKI, 2000). Például a táplálkozó hallárvák esetében a fehérje- és oxigéntartalom, valamint a zsírsav-összetétel szempontjából magasabb igény figyelhető meg a későbbi fejlődési szakaszokhoz képest (ZEITLER és mtsai., 1984; JELKIC és mtsai., 2012; HEINITZ és mtsai., 2018).

Összegzésképpen megállapítható, hogy a vizsgált növényi rügyextraktumok, valamint a *Drosophila melanogaster* és a *Cyprinus carpio* alapú kapcsolt táplálkozási modellrendszer alkalmas lehet a táplálkozó lárvák igényeire szabott tápfejlesztés genetikai alapjainak feltárására és a jövőbeli alkalmazásának megalapozására.

2.1. Növényi kivonatok jelentősége

Az általam vizsgálni kívánt növényi rügykivonatokkal szemben kevés információ áll rendelkezésre a szakirodalmi adatbázisban. Ebből a megközelítésből a növényi termésre vagy esetleg a levélrészekre közzétett összetétel és élettani hatásvizsgálatok irodalmát mutatom be az alábbiakban.

2.1.1. A fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.)

A fekete ribizli (*Ribes nigrum*) vagy ribiszke, mint kerti gyümölcs a *Glossulariaceae* családba tartozik, Közép-Európában és Észak-Ázsiában őshonos. Széles körben tanulmányozott termesztett *Ribes* nemzetség, amely mintegy 140-160 fajból áll. A ribizli általában tüskétlen cserje, zömök törzse közvetlenül a talaj felszíne fölött számtalan mellékágra oszlik el, körülbelül egy-két méter magas. A cserjetörzs minden évben hosszú szártagú hajtásokat hoz, így a ribizlicserje évente rendszeresen újhajtásokkal gyarapszik. Az első évben a hajtások elérik akár a 60-100 cm-es növekedést, a második években pedig, növekedésük csökken, és csak akkor ágaznak el. Az elágazások a csúcstól az alap felé haladva nőnek. A minden évben fejlődő tövesszők a fajtától, a növekedési képességtől és az ápolástól függenek. Jellemzően, a tövesszők csúcsrügyeiből leveles, hosszú szártagú hajtások fejlődnek. Az oldal- vagy hónaljrügyek többségéből rövid vagy hosszú szártagú termőrészek képződnek. A fekete ribizli

virágzata az éves vesszőkön jelenik meg, kérge nem hámlik, ugyanakkor a termesztett fajta éretten lehullatja bogyóit. Virágzata fürt, egy virágzatban a virágok száma 8-30 között van. A gyökérzet növekedése szakaszos, az évszakoktól és a talajhőmérséklettől függ. Legerőteljesebb 6-20 °C között. Az első növekedési szakasz tavasszal kezdődik, +2 °C talajhőmérséklet fölött. A ribizli gyökerének működése 25-30 nappal előzi meg a rügyfakadást. Ezt követi a hajtásrendszer első növekedési szakasza, amely a rügyfakadástól, azaz március elejétől május közepéig tart. A fekete ribizli második rügydifferenciálódásának az ideje július vége, augusztus eleje. Ennek fő energiaforrása a növény tartaléktápanyag-készlete. A hajtásrendszer második erőteljes növekedés június végétől július közepéig tart. Az ún. második növekedési szakasz egybeesik a hajtáscsúcs záródásával és az erőteljes rügydifferenciálódással. Ebben az időszakban bekövetkezhet egy harmadik, az ún. őszi hajtásnövekedési szakasz is, amelyet a szélsőséges időjárás, az idő előtti lombozat elvesztése vagy a szakszerűtlen termesztéstechnikai beavatkozások okozhatják. A rügyfakadás megindulásához optimális hőmérséklet a 37 °C. A fekete ribiszke inkább a hűvösebb és párásabb éghajlatot szereti. Gyakran szenved a túl erős napsugárzástól és a forróságtól, a hazai domb- és hegyvidékek mikrokozmetei felelnek meg leginkább. A ribizli nagy hozamú gyümölcsöt terem, szükséges számára az öntözés. A közepes humusztartalmú középmeley termőrétegű és jó vízgazdálkodó erdőszégi talajok alkalmasak számára. Leggyakrabban hegyek lábánál és az erdőzóna határán érzik jól magukat (PAPP, 2004).

A fekete ribizli ízének és egészségvédő tulajdonságainak köszönhetően értékes és kedvelt gyümölcs, amelyet magas antioxidáns aktivitás jellemzi, vitaminokban gazdag, ezek közül is jelentősebb a C-vitamin tartalma. RACHTAN-HANICKA és mtsai., (2021) vizsgálatuk során a friss bio bogyóban 120-280 mg/100 g C-vitamint sikerült mérni, de ezt az értéket meghatározza a termesztési hely és fajta (PAPP, 2004; KARJALAINEN és mtsai., 2008). A ribizli polifenolokban gazdag és nagy mennyiségű biológiailag aktív vegyületeket tartalmaz. Amelyek többek között flavonoidok, fenolsavak, antocianinok és vitaminok (GOPALAN és mtsai., 2012). A flavonoidok fogyasztása egészségmegőrző előnnyel jár, képesek megkötni a szabad gyököket és fémekkel kelátokat képesek képezni (főleg rézzel). Ezáltal megvédik az oxidációtól a C-vitamint és támogatják a szervezetben belüli megmaradást. RACHTAN-HANICKA és mtsai., (2021) tanulmányuk során a ökológiai termesztésből származó átlagos ribizli összes polifenol tartalom a friss tömegben 189,15 mg/100 g, míg a hagyományos termesztésnél 128,68 mg/100 g között mozgott. A fekete ribizli összetétele potenciálisan is egészségjavító képességekkel bír, és

pozitív hatással van a vércukorszint szabályozására, valamint gyulladáscsökkentő, antioxidáns, antimikrobiális és rákellenes tulajdonsággal rendelkezik (TABART és mtsai., 2012; GOPALAN és mtsai., 2012). A fekete ribizli polifenolos vegyületei közül a kvercetin, a miricetin, az izorhamnetin, rutin, és a kempferol fordul elő (HUKKANEN és mtsai., 2001; RACHTAN-HANICKA és mtsai., 2021), amelyek neuroprotektív hatással rendelkeznek (KARJALAINEN és mtsai., 2008). Élettani hatások kapcsán egyre több tanulmányt lehet olvasni, ahol arról számolnak be, hogy a ribizli egyes összetevői antihipertenzív, antineurodegeneratív és az antidiabetikus hatásúak (GOPALAN és mtsai., 2012), ugyanakkor a ribizli apigenin (SOJKA és mtsai., 2009) jelenlétét is kimutatták, amely 200-szor erősebb aktivátor, mint a metformin (cukorbetegség elleni gyógyszer) (KOCH, 2019). KRISCH és mtsai., (2009). További vizsgálatok megerősítették, a fekete ribizli gyümölcs extraktumának hatását 12 kórokozó gombafajjal szemben, melynek eredményeként 8 *Candida* élesztőgomba fajra (*C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. norvegica*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* és *C. zeylanoides*) gátló hatást mutattak ki. RAICIU és mtsai., (2010) arról számoltak be, hogy a fekete ribizli rügykivonatok antimikrobiális vizsgálat során a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, az *Escherichia coli* ATCC 35218, az *Aspergillus niger* ATCC 16,404 és *Candida albicans* ATCC 10231 gátolják. Ugyanakkor, összehasonlítottak különböző fekete ribizli fajtákat, ahol különböző növényi részeinek (rügyek, levelek és bogyók) antioxidáns kapacitását és profilját vizsgálták meg. És azt tapasztalták, hogy a levelek és a rügyek fenoltartalma jelentősen nagyobb volt, mint a bogyótermésnek (TABART és mtsai., 2006, TABART és mtsai., 2011).

Egy friss tanulmányban arról számoltak be, hogy a fekete ribizli levélkivonatoknak sebgyógyító hatásai vannak, köszönhetően a fenolos vegyületeknek, különös tekintettel a klorogénsavnak és a rutinnak (KENDIR és mtsai., 2019). Egy általunk végzet kísérletben kimutattuk, hogy a fekete ribizli kivonatok megakadályozták az ideggyulladást lipopoliszacharidos kezeléssel átesett patkányokban (TÉGLÁS és mtsai., 2023).

2.1.2. A szeder (*Rubus fruticosus* L.)

A mérsékelt égövi gyümölcsök közül a szeder *Rubus fruticosus* L., egyik legrégebbi gyümölcs egész Európában és Észak-Amerikában, valamint a sivatagok kivételével az egész Földrészen megtalálható. A szeder (*Rubus*) a rózsafélék (*Rosaceae*) családjába

tartozó gyümölcsöző cserje vagy félcserje. A *Rubus* közel 700 fajjal rendelkező egyik legnagyobb nemzetség. A szeder fajok alapvetően három csoportra oszthatók, mégpedig a merev szárú, a félig elterülő és a kúszó szeder fajták, amely évelő, lombhullató ívelő szárral, gyors ütemben 3 m-t is elérheti. Minden csoportban található tüskével borított és tüskementes fajták. Erdei kertekben napos szélű, félárnyékos vagy árnyékos széleken nő (ZIA-UJ-HANG és mtsai., 2014). A szárrész elérheti akár 7 métert, amely zölde, lilás vagy vörös színű. Minden tavasszal a fás szárú gyökér fiatal rügyei vesszőket hoznak létre, és napi 50-80 mm-rel nőnek (HUMMER és JANICK, 2006). Az ágszerkezet szerint két csoportba oszthatók: az első évben a vegetatív részek (primocane), a második évben a generatív (floricane) részek, amelyek gyümölcsöt hoznak (EYDURAN és mtsai., 2008).

A növény a humuszban gazdag, mély termőrétegű, jó levegő- és vízgazdálkodású talajokat kedveli, mint a homokos vályog- és vályogos kötöttségű talajok felelnek meg, amelyben a talajvíz még ideiglenesen sem érheti el a gyökérszót. A vízállásos, túl nedves talajokon a gyökérpusztulás következik be és a *Phytophthora*-fertőzés veszélye is megnő. De, a mélyebb gyökérelhelyezkedése miatt szárazságtűrőbb, biológiai sajátosságai miatt szintén nagyon vízigényes gyümölcsfajnak mondható (PAPP és PORPÁČZY, 1999). A szeder kora nyáron és késő tavasszal virágzik. A virág átmérője körülbelül 2-3 cm, 5 halvány fehér vagy rózsaszín szirmok képezik. A termés júliustól szeptember közepén érik. A gyümölcsök, amelyek korábban világoszöldek, éréskor később pirosra vagy feketére változnak meg. Íze és zamata miatt ősidők óta kedvelt emberi táplálék. A szeder beltartalmi összetétele a málna kémiai összetételéhez áll közel, de szín-, aroma-, íz anyaga attól jelentős mértékben eltér. Szárazanyag-, szénhidrát-, és pektin tartalma magasabb, C-vitamin tartalma alacsonyabb, mint a málnáé. A kémiai összetételéről és élettani hatásairól számos publikáció jelent meg (LI és mtsai., 2014; VERMA és mtsai., 2014). BENVENUTI és mtsai., (2004) kimutatták, hogy Európában és Észak-Amerikában termesztett szederben jelentős mennyiségű redukált aszkorbinsav (12,4-13,1 mg/100 g friss tömeg) van. De ezzel ellentétben, nagyon alacsony volt a mediterrán térségben termelt öt különböző szeder aszkorbinsav mennyisége, valamint jelentős arányban fruktózt mértek és szerves savként azonosították az almasavat, míg citromsavat nem találtak (KAFKAS és mtsai., 2006). STAJČIĆ és mtsai., (2012) vizsgálatuk alapján a szeder az összes polifenol-tartalma 1,74 mg GAE/g és 1,97 mg GAE/g között van. A szeder gyümölcsben és leveleiben azonosítottak fenolsavakat, mint kávésav, ellagsav, galluszsav, és *p*-kumársav, valamint flavonoidokat, például kvercetin, hiperozid, kaempferol, miricitin, (+)-katekin, (–)-epikatechin, epikatekin-gallát, procianidin B1 és

kvercetin-3-d-glükozidot (HENNING, 1981; LEI és mtsai., 2001; CARLSEN és mtsai., 2003; GUDEJ és TOMCZYK, 2004; SANJUST és mtsai., 2008; MILIVOJEVIĆ és mtsai., 2011; RADOVANOVIĆ és mtsai., 2013). A szederből származó fenolos vegyületek nagy fiziológiai tulajdonságokat képviselnek, amelyek számos megelőző vagy kezelhető betegséghez kapcsolódnak, beleértve az anyagcserezavarokat és a krónikus betegségeket, mint a rákot, cukorbetegséget, magas vérnyomást, szív-, és érrendszeri betegségeket, gyomor-bélrendszeri betegségeket, a szürkehályogot érelmeszesedést, öregedést, az asztmát, a hepatitiszt, az ízületi gyulladást, az immunhiányos betegségeket Parkinson és Alzheimer-kórt (ZIA-UJ-HANG és mtsai., 2014; SKROVANKOVA és mtsai., 2015; OSZMIANŃSKI és mtsai., 2015; MILLER és mtsai., 2019). HUANG és mtsai., (2012), arról számoltak be, hogy 95,37%-os DPPH-megkötő aktivitást sikerült kimutatni 2 mg/ml szederkivonatnál, ugyanakkor a TPC érték 5,58 mg GAE/g szárazanyag volt. Valamint egy újabb tanulmányban a szeder gyümölcs kivonata a HUVEC sejtekben figyelemre méltó hatást fejtett ki az *in vitro* sejtes antioxidáns aktivitás során 5 mg/ml koncentrációban.

Egy tanulmányban megvizsgálták a szeder levélrügyek kivonatát, ahol legnagyobb mennyiségben K található, de ezen kívül azonosítottak Ca-t, Mg-t, Fe-t, Cu-t, Mn-t és Zn-t. TPC tartalom 5,89 és 25,88 mg/ 100 g között volt, és a vad szeder levélkivonat DPPH értéke 23,76 mM/100 g. Az antimikrobiális vizsgálat során, az összes baktérium törzssel szemben nem találtak gátló hatást (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*), (KRZEPIŁKO és mtsai., 2021). A szeder antimikrobiális hatásait kimutatták a Gram-negatív *Escherichia coli*, *Salmonella enterica subsp. enterica*, és a Gram-pozitív *Staphylococcus aureus* és *Bacillus cereus* baktériumok, illetve a *Candida albicans* élesztőgomba esetében (DEMIRBAS és mtsai., 2017), de gátolta a *Listeria monocytogenes*, a *Salmonella typhimurium* és az *Escherichia coli* O157:H7 baktériumokat is (YANG és mtsai., 2014). Az antimikrobiális vizsgálat során a legérzékenyebb 12,5 mg/ml MBC-él Gram-pozitív baktériumok közül az *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* és Gram-negatív *Escherichia coli* volt (GIL-MARTÍNEZ és mtsai., 2023).

2.1.3. A fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus* L.)

A fekete áfonya botanikai neve *Vaccinium myrtillus* L., a hangafélék (farmakológiai: *Ericaceae*) családba tartozó, őshonos lombhullató vagy örökzöld törpecserje, de vannak, amelyek szára nem fásodik el, ezek a félcserjék (MIKLÓS, 2004).

Európában, Észak-Amerikában és Észak-Afrikában mérsékelt éghajlati övezetben igen elterjedt növény, de Ázsiában is előfordulnak (ZORATTI és mtsai., 2016). Megtalálható félárnyékos dombvidéken, alpesi területeken, nyirkos, savanyú talajú tölgy-, bükk-lucfenyő erdőkben, tisztásokon és erdő szélén. Jellemző élőhelye az erdélyi havasok. Népszerű megnevezései: áfonya, Európai áfonya, hegyi vagy havasi áfonya, fekete áfonya.

Gyökérzetük gazdagon elágazó, ugyanakkor gazdag hajsza gyökérzettel rendelkeznek. Ágai vékonyak és sűrűn elágazóak, a cserje elérheti a 20-50 cm magasságot, idősebb korban az erősen bordás ágai könnyen legyökereznek, és optimális feltételek mellett a növény vegetatív úton nagy sarjtelepeket alkot. A rügyek kicsik, laposak, és a szárhoz tapadnak. A virágok rügyei nagyobbak, teltebbek és kerekesebbek, mint a levelek rügyei. A rügyek begyűjtése márciustól április közepéig tart. Levelei tojásdad-ellipszis alakúak, 2-3 cm hosszúak, vége felfelé ívelnek, télen lehullanak. Virágzási ideje május-június, virágai lecsüngő kocsányú harang vagy korsó alakúak, forrt szirmú, magányosan vagy párosan fejlődnek ki a felsőbb levelek hónaljából (BORSODI és FÜLÖP, 1984; MIKLÓS, 2004).

A bogyók a termőágon nőnek, az ágak oldalain. Az érett húsos áfonya gömbös, fekete-kékes, hamvas színű, szagtalan édes-savanykás jó ízű, aromás, összehúzó utóízzel rendelkezik. Érés időszaka augusztustól-október tart és a gyümölcsök átmérője 6-10 mm között változik. A fekete áfonya az egyik legjelentősebb, változatos gyógyhatású természetes gyógyszer, amelyet évszázadok óta felhasználnak a hagyományos népgyógyászatban (JAAKOLA és mtsai., 2004). A fekete áfonya levelei és bogyói egyaránt tartalmaznak hatóanyagokat. Házi használatban vagy értékesítés céljából a leveles ágakat és a bogyóterméseket gyűjtik. Az előbbieket arbutint, csersavakat, glikozidokat, az utóbbi gyümölcssavakat, antociánokat, pektint, A-, B-, C-vitamint tartalmaznak. A szárított levelek és fiatal hajtások Erdély falvaiban csaknem minden családban az étkezési teát képezték. A termésekből lekvárt, szörpöt, bort készítettek (BORSODI és FÜLÖP, 1984). Az antocianinban gazdag fekete áfonya kivonatokat hagyományosan étrend-kiegészítők részeként alkalmazzák, elsősorban a szemek egészségének és a érgyulladások kezelésére (JAAKOLA és mtsai., 2004; ULLAH és mtsai., 2019). Összességében a fekete áfonya igen gazdag forrása a fitokémiai vegyületeknek és mikrotápanyagoknak, például vitaminoknak, szerves savaknak, rostoknak, cukroknak és fenolvegyületeknek (antociáninok), funkcionális és táplálkozási tulajdonságokkal, amelyek megerősítik a bogyók iránti növekvő keresletet, nem csak az

élelmiszeripari felhasználásra, hanem a gyógyszeriparban is (DE OLIVEIRA, 2019; PIRES és mtsai., 2020). A fekete áfonya kémiai összetevőiről és polifenol tartalmáról, illetve az antioxidáns kapacitásával magyarázott anti-inflammatorikus hatásáról számos publikációt közöltek (YATOO és mtsai., 2018). Ugyanakkor, az áfonya levelei olyan antidiabetikus és antioxidáns vegyületek forrásaként is ismertek, mint például a kvercetin származékok, klorogénsav, proantocianidinek, és antocianinok (HARRIS és mtsai., 2007; MCINTYRE és mtsai., 2009). Ezen kívül, a fekete áfonyát hagyományosan a szem erősítésére, epebántalmak, hólyagkövek, köhögés, skorbut és tüdőtuberkulózis kezelésére is alkalmazzák (GÜDER és mtsai., 2015), ugyanakkor szívvédő, gyulladáscsökkentő, elhízás elleni, antimikrobiális és egyéb jótékony egészségügyi tulajdonságokkal is rendelkezik (PIRES és mtsai., 2020). A fekete áfonyában 22 illóolaj komponenszt azonosítottak és ezek közül az 1,8-cineol, a β -linalol, α -pinen és myrtenol kapcsán mutattak ki antimikrobiális hatást egyes növényi korokozó gombákkal (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* és *Verticillium dahliae*) szemben (BAYAR és mtsai., 2018). A *Vaccinium myrtillus* kivonatának antimikrobiális hatása van az *Escherichia coli* és a *Pseudomonas aeruginosa* (KOKOSKA és mtsai., 2002), valamint a *Citrobacter freundii* és az *Enterococcus faecalis* baktériumokkal szemben (BURDULIS és mtsai., 2009). VUČIĆ és mtsai., (2013) a fekete áfonya gyümölcs-, és levél kivonatokat 30 klinikai izolátummal szemben vizsgálták meg, ahol a legérzékenyebb baktériumtörzsnek az *Enterococcus faecalis* MF-Ef8 bizonyult. Megfigyelték, hogy az etanolos gyümölcs és etil-acetátos kivonat jobb aktivitással rendelkezett, mint a vizes kivonatok az *Enterococcus faecalis* és a *Proteus vulgaris* törzsekkel szemben. A levél kivonatok hasonló gátlásokat adtak az *Escherichia coli*, az *Enterococcus faecalis* és a *Proteus vulgaris* törzsekkel szemben. A MIC (minimális baktericid koncentráció) gátló legkisebb érték, pedig 5 és 40 mg/ml kivonat között mutatkozott meg. Megvizsgálták a gyümölcsök összes-polifenol tartalmát, ahol 31,44 és 99,34 mmg GAE/ g közötti adatokat kaptak, míg a levelekből kinyert kivonat hatóanyag 119,17 mg GAE/g volt. A növényi részek összes flavonoid tartalma 5,20 és 94,49 mg rutin/g közötti adatokat eredményezett. További jelentős számú tanulmány igazolja a bogyók és a növény további vegetatív részéből kinyert kivonatok antimikrobiális hatásait (HUANG és mtsai., 2012; ELKIRAN és mtsai., 2020; SATOH és mtsai., 2020; KLAVINS és mtsai., 2021).

2.2. A vizsgált növényi eredetű bioaktív hatóanyagok bemutatása

A növényi kivonatok tanulmányozása kiterjed a növényi alapanyagok kiválasztásától egészen az azonosított vegyületek hatástani elemzéséig. A modern fitoterápia szempontjából elengedhetetlen az ún. fitokémiai elemzés, mivel fontos információkat nyújtanak a növények összetételi profiljáról és a lehetséges terápiás alkalmazásáról. Több olyan fitokémiai komponens is azonosítottak ezekben a kivonatokban, amelyeknek egyedi antioxidáns, rákellenes, gyulladáscsökkentő, gombaellenes, antibakteriális és vírusellenes biológiai tulajdonságait igazolták. Mindent egybevetve, a fitoterápia célja a biztonságos és hatékony egészségmegoldások nyújtása a természetes növényi eredetű hatóanyagok komplex összetételére alapozottan.

Manapság, jelentős érdeklődés mutatkozik a növényi részekben beazonosítható különféle fitonutriensekkel kapcsolatban és azok lehetséges élettani, illetve antimikrobiális hatásaikkal kapcsolatban. Az idevonatkozó közölt kutatási eredmények bár számottevőek, még mindig kevésnek bizonyulnak, mert a civilizáció rohamos fejlődése maga után vonja az emberi társadalom egészségére káros tényezők diverzifikációját.

Az elmúlt 20 évben a fitonutrienseket gyakran tekintették anti-nutriensnek is, de számos felfedezés igazolta az emberi szervezetre gyakorolt pozitív élettani hatásukat, különösen a krónikus betegségek (szív- és agyi érrendszeri betegségek, rákos-, endokrin/anyagcsere, mentális-, vázizom-, és a gyomor-bélrendszeri rendellenességek) megelőzésében betöltött szerepüket (LUGASI és mtsai., 2003; GROSSO és mtsai., 2017). A fitonutriensek, a növények másodlagos anyagcseretermékei és közülük is a polifenolok az egyik leggyakrabban tanulmányozott kategória (GROSSO és mtsai., 2017). Az általam vizsgált fitonutriensek a fekete ribizli-, a szeder-, és a fekete áfonya rügyekből származnak, és ezen rügykivonatok bioaktív hatóanyag profilja nem volt ismert. Azt feltételeztük, hogy az említett fajok gyümölcsterméseik által tartalmazott összetevők jelenlétére a rügykivonatokban is lehet számítani, és ezért ezek közül egy néhányat fogok röviden ismertetni az alábbiakban.

2.2.1. A polifenolok

A polifenolok a növényei metabolizmus másodlagos termékei, melyek védelmet biztosítanak a különböző stresszhatások ellen. Jelenleg a polifenolokból 8000-nél is többet sikerült beazonosítani különböző szerkezetüknek köszönhetően (YONEKURA-SAKAKIBARA és SAITO, 2009; TSAO, 2010).

A polifenolokat két főcsoportba sorolják: (1) a flavonoidok és (2) a nem-flavonoidok. A nem flavonoidok csoportot a fenolos savak, benzoésavak, kumarinok, sztilbének, xantonok, kalkonok, lignánok alkotják. (GIACOPPO és mtsai., 2016). A kumarinok fenolos sav származékok, amelyek a hidroxifahéjsavak laktonjai. A természetben bizonyos növényekben szabad vagy glikozidos formában vannak jelen. A kumarinok közül a legfontosabb a furaokumarinok, piranokumarinok (SHAHIDI és NACZK, 2003). Az emberi egészségre jótékony hatással levő anyagokat 1960-as és 1970-es években végzett vizsgálatok bizonyítják elsőként (BARABOI és MEDOVAR, 1963; HUR és mtsai., 2009). Jelenleg, a járványügyi vizsgálatok kimutatták, hogy a polifenoloknak szerepük van a rák, a szív-, és érrendszeri betegségek megelőzésében, valamint csökkenthetik a neurodegeneratív rendellenességek kialakulásának kockázatát. (MUKHTAR és AHMAD, 2000; VITA, 2005; ALBARRACIN és mtsai., 2012). A polifenolokat az elmúlt évtizedben kognitív betegségek megelőzésére és kezelésére is ajánlják, leginkább az antioxidáns és anti-amiloidogén tulajdonságaik miatt (NGOUNGOURE és mtsai., 2015). A magas polifenol tartalom, és leginkább a flavonoidok, számos előnnyel járnak a szív- és érrendszer egészsége szempontjából. A flavonoidok csökkentik a szívbetegségek, illetve az ischaemiás stroke kockázatát, javítják az endothel funkciókat. (CASSIDY és mtsai., 2011).

2.2.2. A flavonoidok

A polifenolok alosztályába tartoznak a flavonoidok. A természetben a magasabb rendű növényekben találhatóak meg a flavonoidok, és közöttük hat alcsoportot különböztetnek meg szerkezetük alapján, amelyek a flavonok, flavonolok, flavanolok, flavanonok, izoflaonok és antociánok (GIACOPPO és mtsai., 2016). A flavonoidok mindazok az oxigéntartalmú heterociklikus vegyületek, valamint szerkezeti izomér nyíltláncú származékok, amelyek difenil-propán-vázatot ($C_6-C_3-C_6$) tartalmaznak. Alapszerkezetük rendkívül változatos, a természetben leggyakrabban glikozidok formájában fordulnak elő, azáltal, hogy az aglikon alapvázhhoz különböző cukormolekulák kapcsolódnak össze. A növényekben előforduló flavonoidok természetes színezőanyagok, ízkomponensek, antioxidánsok. Élettani hatásuk sokszínű, rendelkeznek gyökmegfogó képességgel, immunmodulátorok és gyulladáscsökkentők, antivirális, antibakteriális és allergia ellenes hatással rendelkeznek, valamint ösztrogén aktivitással, és a vaszkuláris permeabilitás csökkentés szabályozásához járulnak hozzá. A flavonoidok antioxidáns képesség mértékét az adott molekula szerkezete határozza

meg, ugyanakkor az antioxidáns hatáserősség szoros kapcsolatban van a hidroxilációs mértékkel. A kvercetin, a katechin és a galluszsav jelentősen gátolják a fehérjék glikozilációját, ami egy, a cukorbetegség által kiváltott szövődmény (WU és mtsai., 2009), valamint enzimgátló képességgel rendelkeznek, poliszacharidokkal és fehérjékkel is képesek komplexet alkotni. A flavonoidok keltató tulajdonsága során a fémionokkal komplexeket képesek alkotni, amelyek az oxidációs folyamatokkal a glikációt indítják el (HEGEDŰS és STEFANOVITSNÉ, 2012). TAGHIZADIEH és mtsai. (2023) arról számoltak be, hogy a flavonoidok számos neuroprotektív hatást képesek kiváltani az agyban, beleértve a neurotoxinok által okozott károsodások elleni védelmet, az idegi gyulladások csökkentését, valamint a tanulás, kognitív funkciók és a memória javítását. A flavonoidokban gazdag élelmiszerek fogyasztása potenciálisan korlátozhatja a neurodegenerációt és a kognitív funkciók hanyatlását az öregedés kapcsán.

2.2.3. Az aminosavak

Az élővilágban szabad állapotban kevésbé megtalálható aminosavak szerkezete egyaránt tartalmaz amino (NH_2) és karboxilcsoportokat (COOH). A fehérjékben, éppen a peptid kötések révén az aminosavak kötött állapotban találhatóak meg. Élettani sajátosságaik alapján megkülönböztünk esszenciális (valin, leucin, izoleucin, fenilalanin, triptofán, metionin, treonin, hisztidin (humán szervezet esetében), szemiesszenciális (lizin és arginin) és nem-esszenciális aminosavakat (glicin, alanin, prolin, szerin, cisztein, tirozine, aszparagin, glutamin, aszparaginsav és glutaminsav), (BELITZ és mtsai., 2004).

A töltés nélküli, nem poláros oldalláncú aminosav, az alanin nagy mennyiségben megtalálható a selyemfibroinban, valamint a koenzim-A alkotórésze. A glicin a kötőszöveti fehérjék alkotórésze, neurotranszmitter szereppel rendelkezik. A valin jelentős mennyiségben van jelen az állati és a növényi fehérjékben. A leucin a gabonafehérjékben, az izoleucin mind a növényi, mind az állati fehérjékben megtalálható. A prolin jelentősen a kötőszöveti fehérjékben fordul elő, míg a fenilalanin minden fehérjében előfordul és az adrenalin bioszintézisének előanyaga. A triptofán egyformán előfordul minden fehérjében és kitüntetett szereppel bír a szerotonin, melatonin, illetve NAD^+ szintézisében. A metionin állati és növényi fehérjékben egyaránt megtalálható, és általában a fehérjék N-terminális végét is meghatározza, de metil-donorként is funkcionál a metilációs típusú poszttranszlációs folyamatokban. A töltéssel rendelkező, nem poláros oldalláncú aminosavak közül a szerin, sok fehérjében megtalálható. A treonin támogatja

a központi idegrendszer, a szív- és érrendszeri, valamint az immunrendszer működését. A pozitív töltéssel rendelkező hisztidin, az emberi szervezet számára esszenciális jelleggel bír és kelátképző tulajdonsága miatt fontos szerepe van a fémek biológiai hatásai kapcsán, illetve a hisztaminok előállításában.

A szemiesszenciális (lizin és arginin) aminosavak funkciói sokrétűek és a teljesség igénye nélkül említeni lehet a lizin szerepét a kalcium felszívódásban és az izomfehérjék megtermelésében, valamint az arginin értágító hatással bír és szerepe van a sejtosztódásban, valamint az immunrendszer működésben.

A többi nem-esszenciális aminosav szerepei is sokrétűek, hiszen például humán vonatkozásban több tízezerféle fehérje polipeptid láncában fordulhatnak elő.

Az aminosavak fehérjékkel kapcsolatos szerepén túlmenően mindenképpen említeni kell azok mitokondriális aktivitással összefüggő anaplerotikus és kataplerotikus funkcióit is, amelyek nutritív hatással bírnak (ARNOLD és FINLEY, 2023).

2.2.4. A vitaminokról általánosan

A vitamin megnevezés FUNK CASIMIR (1912) nevéhez fűződik, első elnevezés a „*vita amine*” azaz *életfontosságú, amin*, melyet a hántolatlan rizsből kinyert B1-vitamin alapján nevezett el. A vitaminok fontos élettani hatású természetes szerves vegyületek, melyeket az emberi szervezet nem tud előállítani, viszont a növények és más egyszerű mikroorganizmusok, egyszerű elemekből és molekulákból, ásványi anyagokból energiaforrás hatására képesek előállítani. A vitaminok nélkülözhetetlenek az emberi szervezet celluláris és individuális funkcióinak a fenntartásában, és elsőként az anyagcsere, illetve a neurológiai meg muszkuláris folyamatok kapcsán lettünk rájuk figyelmesek (KENNEDY, 2016). A vitaminok csoportosítása között megkülönböztetünk vízben oldódó (B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₁₂, C) vagy zsírban oldódó (A, D, E, K) vitaminokat. A B-vitaminok esszenciális jellege abból a tényből fakad, hogy a B-vitaminok kulcsfontosságú köztes termékei az olyan alapvető kofaktorokat létrehozó folyamatoknak, mint például: B₁, tiamin-pirofoszfát (TPP), B₂, flavin-mononukleotid/flavin-adenin-dinukleotid (FMN/FAD), B₃, nikotinamid-adenin dinukleotid (NAD), B₅, koenzim A (CoA), B₆, piroxidál-foszfát (PLP), B₇, biotin-adenin-monofoszfát (biotin-AMP) és B₉, tetrahidrofolát (THF) és B₁₂, kobalamin, amelyek több száz enzimhez szükségesek és ilyenképpen kritikus sejtfunkciók alapfeltételei (PETERSON és mkts., 2020). A vízben oldódó vitaminok a szervezet számára nem raktározódnak, folyamatos utánpótlásra van szükség, kivétel a B₁₂-vitamin,

amely a májban képes tárolódni. A zsírban oldódó vitaminok a szervezetben raktározódnak, kivéve a K-vitamin, merthogy kis mennyiségben oldódik vízben és zsírban is. Az emberi szervezetben a vízben oldódó vitaminok felszívódása könnyen és gyorsan végbemegy, diffúzióval vagy foszforilációval egybekötött aktív transzporttal. A zsírban oldódó vitaminok felszívódásához epesavakra és/vagy zsírsavakra van szükség, de történhet passzív diffúzióval is. A B₁-vitamin (tiamin) az ideggyulladás ellen hatásos (CASSIANO és mks. 2022), a B₂-vitamin (riboflavin) a szervezet energiatermeléséhez a zsírok, szénhidrátok és a fehérjék lebontását segítik elő támogatva a mitokondriális elektron transzportlánc aktivitását. A B₃-vitamin (PP-vitamin, niacin, nikotinsavamid) a sejtek energiaháztatásban vesz részt és a NAD⁺ prekursora. A B₄-vitamin (folsav) a B₁₂-vitaminnal együtt, a vörös-, és a fehérvérsejtekre és a vérlemezkék képződés szabályozásában fejtenek ki hatásokat, ugyanakkor a B₁₂-vitamin (kobalamin) szerepe az agy és a központi idegrendszer szabályozása, valamint a vérképzés (ALLEN és mks., 2018). A B₅-vitamin (pantoténsav) az energiatermelésben (HRUBŠA és mks., 2022), a B₆-vitamin (piridoxin) a homocisztein anyagcseréjében játszik szerepet és antioxidáns, illetve anti-inflammatorikus hatása van (BAJIC és mks., 2022). A B₇-vitamin (biotin) karboxilációs reakciókat katalizál és fontos szerepe van a zsírsavak szintézisében (WIENHAUSEN és mks., 2022). A C-vitamin (aszkorbinsav) erősíti a szervezet ellenálló képességét, segíti az emésztőcsatornában a kalcium és a vas felszívódását, antioxidáns és anti-inflammatorikus hatással rendelkezik (GEĀGOTEK és mks., 2022). Az A-vitamin (retinol) a β-karotin provitaminja (CARAZO és mks., 2021). A szervezetben két forma aktív: a látáshoz és a szemhártyáják épségének megőrzéséhez a retinal, míg a növekedésben és az immunrendszer működésében a retinsav játszik szerepet. A D-vitamin (kalciferol) segíti a kalcium és foszfor felszívódását és hasznosulását az emberi szervezetben (BOUILLON és mtsai., 2019). Kiderült, hogy a D-vitamin sokféle hatással rendelkezik (ZHANG és mks., 2021) és ebbe beleértendő az immunaktivitás is (CHAROENNGAM és HOLICK, 2020). Az E-vitamin (tokoferol) az izom- és idegpályák, illetve immunrendszer működéséhez szükséges, antioxidáns hatása van, vörösvérsejtek képződésében játszik szerepet (REGNER-NELKE és mtsai., 2021; ASBAGHI és mtsai., 2020). A K-vitamin (fillokinon) a véralvadást segíti elő, szerepe van a csontok képződésében és anyagcseréjében és hozzájárul a máj normális működéséhez (COMBS és MCCLUNG, 2016; KELEMEN, 2014).

2.3. Növényi kivonatok összetételének vizsgálata UHPLC-ESI-MS módszerrel

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography: HPLC). manapság egyik legkorszerűbb és egyben legelterjedtebb analitikai módszer, általában spektrofotometriás (UV-VIS) vagy tömegspektrometriás (MS) detektor alkalmazásával. A megfelelő minta-előkezelési technikát a mérés célja és az elérhető analitikai módszer alapján választjuk meg, első lépés a mintadúsítás és tisztítás. A mintadúsítás lényege, hogy a minta-mátrixtól függetlenül a vizsgált komponens koncentrációja a mintában az általában alacsony kimutatási határ felett legyen, miközben a tisztítás lényege a zavaró komponensek eltávolítása megtörténjen a vizsgált mintából. Élelmiszer és nutraceutikum minták vizsgálatára leggyakrabban a HPLC-MS kapcsolt rendszert alkalmazzák, amely a növényi kivonatok számára is legalkalmasabb. Az MS azonosítás lényege, hogy semleges részecskékből (molekula, atom) ionizációs technika segítségével töltéssel rendelkező molekulákat hozunk létre, majd ezek a tömeg/töltés (m/z) arányuk, alapján a mágneses térben szétválnak és így kerülnek a detektorba. Az ionok létrehozására a legalkalmasabb és legjobban elterjedt technika az elektropray ionizáció (ESI).

Az ismertetett modern tömegspektrofotometriás technika kiválóan alkalmazható az olyan növényekben található komponensek beazonosítására, mint például a flavonoidok, de ugyanakkor kulcsszerepet játszanak az elemzésben is, mivel kis mennyiségű mintából és keverékből is jelentős szerkezeti információt képesek szolgáltatni. Mivelhogy a növényi anyagokban többféle komponens (flavonoid) és származékaik (flavonoid-származék) alkotta molekulacsoport jelenhet meg futtatáskor, így olyan módszerek felé terelődik a figyelem, ahol egy kromatográfias vizsgálaton belül minél több összetevőt be lehet azonosítani és a jól elkülöníthető alegységek elősegítik az adott szerkezetek beazonosítását. A tömegspektrometriás vizsgálat alapja, hogy az összekapcsolt molekulák (például flavonoidok) szokásos alegységeinek leválasztásából következtethetünk a kiindulási szerkezetre. Így a vizsgálatnak kétféle megközelítést választhatunk. Az első ilyen megközelítés a szerkezeti hasonlításhoz a „fentről-lefelé” (top-down) való megközelítés, amely úgy értelmezhető, hogy a kiindulási molekulák fragmentálódnak és ilyenképpen nyomon követhetjük az így létrejött ionokat. A módszerhez alkalmazott tandem tömegspektrométerek (MS/MS) egyik gyengesége, hogy csupán tényleges prekursor- tömegszámok követésére képesek. Másik megközelítésben a forrásban történő fragmentációt alkalmazzák, melyhez jórészt ESI ionforrást használnak. Előnyei közé sorolható, hogy minden iont fragmentál válogatás nélkül, így

korlátlan mennyiségű fragmens generálható és a fragmensek például repülési idő (Time-of-Flight, TOF) elvén működő tömegspektrométerrel detektálható. Az így nyert adatok alapján lehet következtetni az alapvázra vagy az alapváz kötő alegységekre vagy az alapváz és a hozzá kapcsolódó cukor közötti kötés típusára, illetve az alapvázon levő cukrok sorrendjére és elhelyezkedésére, meg az alapvázra kapcsolt cukrok közötti kötésekre (CUYCKENS és CLAEYS, 2004).

2.4. A kutatás során alkalmazott *in vitro* antioxidáns hatás mérésére szolgáló módszerek bemutatása

Manapság számos módszert kifejlesztettek, amelyek elektron-átmeneten alapszanak és az oldat redukálóképességét mérik (MENDONÇA és mtsai., 2021; MUNTEANU és APETREI, 2021). A reakciók minden esetben színváltozással járnak, amelyek spektrofotométerrel detektálhatók. Az alábbiakban röviden bemutatom az alkalmazott *in vitro* típusú módszereket, mint a FRAP, a DPPH és a TPC, valamint ismertetem a módszer elméleti hátterét, előnyeit és azok hátrányait.

2.4.1. Vasredukáló képességen alapuló FRAP eljárás bemutatása

BENZIE és STRAIN dolgozták ki a FRAP-eljárást (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) 1996-ban, amelynek lényege a vasredukálóképességen alapul, vagyis alacsony 3,6 pH-n a TPTZ-vel (2,4,6-tripiridil-S-triazin) komplexet képző ferri-ionok (Fe^{3+}) az antioxidáns képességű vegyületek által a ferro-ionokká (Fe^{2+}) redukálódnak és intenzív kék színű terméket adnak. A színváltozás mértéke (a Fe^{2+} - TPTZ-t tartalmazó oldat kék színének intenzitása) szorosan összefügg a minta antioxidáns-tartalmával. Az oldat abszorbanciáját leggyakrabban 5 perc keverés után spektrofotométerrel mérik $\lambda=593$ nm hullámhosszon (BENZIE és STRAIN, 1996; HUANG és mtsai., 2005; PRIOR és mtsai., 2005).

Az eredmények kiértékeléshez aszkorbinsav standardot alkalmaznak, így a minták antioxidáns kapacitását aszkorbinsav ekvivalensben adják meg. Az egyik leggyakrabban alkalmazott laboratóriumi módszer (PRIOR és mtsai., 2005; APAK és mtsai., 2007; PEREZ-JIMENEZ és mtsai., 2008). Mivel a módszer egyszerűen megvalósítható, gyors, megbízható, költséghatékony és reprodukálható, valamint nem követel meg drága laboratóriumi eszközöket. A módszer gyengesége, hogy a mérések nem fiziológiás pH-n zajlanak, hanem jóval alacsonyabb pH-n, savasabb közegben. Emellett a karotinoidoknak nincsen vasredukáló képességük, továbbá az 5 perces reakcióidő leteltével a folyamat

tovább folytatódik, bizonyos vegyületek (pl. a kvercetin vagy a kávésav) nem stabilizálódnak, ami akár néhány órát is igénybe vehet, így e kémiai vegyületek antioxidáns kapacitása nem befolyásolja a kapott értékeket (PULIO és mtsai., 2000; APAK és mtsai., 2007).

Ugyanakkor, az eljárás nem reagál jól a tiol típusú (SH csoporttal rendelkező) antioxidánsok detektálására, mint például a glutation (CAO és PRIOR, 1998; KRANL és mtsai., 2005), mivel ezek pH értéke enyhén savas, közelít a semleges tartományhoz (APAK és mtsai., 2007).

2.4.2. DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás eljárásának bemutatása

A stabil DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) gyök megkötési módszer egy elterjedt technika, amely az antioxidánsok kapacitásának mérésére szolgál és BLOIS (1958) nevéhez fűződik. A módszer lényege, hogy a DPPH gyök sötétlila színe antioxidánsok hatására a reakcióelegyben elszíntelenedik, vagy halványsárga színűvé változik, amelynek színváltozását spektrofotometriásan követhetjük nyomon $\lambda=517$ nm hullámhosszon (PRIOR és CAO, 1999; APAK és mtsai., 2007; GARCIA és mtsai., 2012). Széles körben alkalmazott módszer, mert egyszerű, gyors és kereskedelmi forgalomban kapható igen stabil gyök, a mérést UV-VIS spektrofotometriával végezzük (PRIOR és mtsai., 2005). A módszer gyengesége, hogy biológiai rendszerekben (a sejtekben) nem fellelhető gyököt használ. Ebből adódóan nem nyújt hiteles képet arról, hogy a minta antioxidánsai milyen gyökfogó képességgel bírnak a biológiai szabadgyökökkel szemben. Továbbá, a reakciót a fény, az oxigén jelenléte jelentősen befolyásolja, látszólagosan csökkentve az antioxidáns kapacitást, valamint a pH és az oldószer is torzítja a mérési eredményeket (ÖZÇELIK és mtsai., 2003), ugyanakkor a kis molekulák könnyebben hozzáférnek a DPPH gyökökhöz, így az antioxidáns kapacitás eredmények egyes esetekben nagyobb értéket mutatnak (APAK és mtsai., 2007).

2.4.3. Össz polifenol-tartalom vizsgálata (TPC) Folin-Ciocalteu reagenssel

Az összes polifenol-tartalom (Total Polyphenol Content) meghatározása SINGLETON és ROSSI (1965) nevéhez fűződik, amelynek lényege a Folin-Ciocalteu reagensben a sárga színt adó Mo(VI) ionok antioxidánsokkal reagálva kék színű Mo(V) vegyületekké redukálódnak, melyek spektrofotometriásan detektálhatóak $\lambda=765$ nm hullámhosszon (PRIOR és mtsai., 2005; HEGEDŰS, 2013). A minták össz-

polifenoltartalmát galluszsavra vonatkoztatva adjuk meg. A módszer előnyei azonosak a FRAP-módszerével. Hátrányai közé sorolható, hogy a reakció lúgos (pH=10) közegben megy végbe, amely magasabb, mint a fiziológiai környezeté (HUANG és mtsai., 2005; BALOGH, 2010). Ugyanakkor a reakció nem szelektív a polifenolos vegyületekre, mivel más vegyületek is redukálhatják a reagenst, mint például az aszkorbinsav vagy a Cu(I) (APAK és mtsai., 2007; HUANG és mtsai., 2005).

2.5. Az alkalmazott antimikrobiális vizsgálatok

A növényi extraktumokban előforduló bioaktív hatóanyagok által kiváltott antimikrobiális hatásokat többféle kísérleti módszer révén tanulmányozhatjuk. Ezeknek egy sajátos kombinációja lenne az, amikor az agar diffúziós lyuktesztet követően meghatározásra kerülnek a minimális gátló vagy inhibíciós koncentráció („minimal inhibitory concentration” - MIC) és a minimális baktericid koncentráció („minimal bactericid concentration” - MBC). Ezt a kísérleti megközelítést azért szükséges alkalmazni, hogy információt nyerjünk arra vonatkozóan, hogy mennyire képesek befolyásolni az egyes növényi kivonatok többek között a humán mikrobiótát, amelynek további egészségi következményei lehetnek.

Az agarlyuk diffúziós vizsgálat a legismertebb és legalapvetőbb módszer, melyet rutinszerűen végeznek 1940 óta (HEATLEY, 1944; GAJIC és mtsai., 2022), és a növényi kivonatok vagy más anyagok mikrobiális gátlásának az értékelése kapcsán alkalmazzák (VALGAS és mtsai., 2007; MAGALDI és mtsai., 2004). A vizsgálat során az agarlemez felületét a kívánt tesztelt mikroorganizmussal oltják be, úgyhogy a mikrobiális oltóanyag mennyiségét szétkenve a teljes agar felületén, majd egy 8 mm átmérőjű lyukat vágnak és hozzá adják a tesztelni kívánt antimikrobiális szert vagy kivonatot, amely általában 20-100 µl között változhat. A beoltott agar lemezeket a mikroorganizmusnak megfelelő körülményen inkubálják. Ez alatt a vizsgálandó antimikrobiális szer a táptalajba diffundál. Amennyiben a hatóanyag vagy kivonat gátló hatással rendelkezik, akkor a bediffundált zónában, a vizsgált mikrobatorzs növekedési gátlása figyelhető meg, amelyet mm-ben feljegyezve és a zóna több átmérőjében leolvastva adják meg az ún. gátlási zóna átmérőjének minél pontosabb értékét (BALOUIRI és mtsai., 2016).

A másik az ún. hígítási módszer a legalkalmasabb eljárás a MIC meghatározásához, mivel ez az eljárás lehetőséget nyújt a vizsgált antimikrobiális hatóanyag és/vagy növényi extraktum koncentrációjának becslésére a vizsgált mikroba törzssel kapcsolatosan. A baktériumokkal és gombákkal szemben az *in vitro*

antimikrobiális aktivitás kvantitatív mérése ez, amelyet táplevesben végeznek el. A vizsgálat során a táplevest tartalmazó 96 lyukú mikrotitráló lemezbe és a vizsgálni kívánt antimikrobiális szer kétszeres vagy többszörös hígítását pipettázzák bele, majd minden mérőhelyet beoltanak egy mikrobiális oltóanyaggal, a kontroll minták kivételével. A vizsgált mikroorganizmustól függően a megfelelő körülmények között inkubálják. A rögzített MIC érték a vizsgált antimikrobiális szer legalacsonyabb koncentrációjának felel meg, amely teljes gátló hatással van a vizsgált mikroorganizmus növekedésére, és szabad szemmel is észlelhető. Így a végpont meghatározására, a tesztek leolvasásakor és az eredmények rögzítésének könnyítésére szolgáló eszközöket alkalmazhatnak mindaddig, amíg nincs kompromisszum a lyukak növekedésének észlelésében. Ebben az esetben, alkalmazható növekedési indikátor, amely egy színezékreagens, mint például a resazurin. Abban az esetben, ha a resazurin megtartja színét kétórás inkubálást követően, megkapjuk a MIC érték legalacsonyabb koncentrációját, amely gátolja a vizsgált mikroba növekedését (DRIOICHE és mtsai., 2022; CLSI, 2012; PFALLER és mtsai., 2004).

A MIC-el ellentétben, az ún. minimális baktericid koncentráció (MBC), az antimikrobiális hatóanyag azon legalacsonyabb koncentrációjára vonatkozik, amely az oltóanyag 99,99%-át elpusztítja 24 órás inkubálást követően a kontrollhoz képest (DRIOICHE és mtsai., 2022; PFALLER és mtsai., 2004; CLSI, 1998). Az MBC meghatározásához a MIC vizsgálatnál használt lemez minden egyes mérőhelyről mintát kell venni, ahol szabad szemmel nem volt látható növekedés és szét kell kenni egy táptalaj felületére, mely megfelel az adott mikroorganizmus kimutatására és annak megfelelő körülmények között inkubálni 24 órán át. Az antimikrobiális vizsgálatoknak a fentiekben ismertetett kombinációja lehetőséget nyújt arra vonatkozóan, hogy egyértelmű adatokat generáljunk a növényi kivonatok esetleges mikrobiótát befolyásoló hatásaikra.

2.5.1. Az antimikrobiális vizsgálatokban alkalmazott mikroorganizmusok

A vizsgálataimhoz négy Gram-negatív baktériumtörzset teszteltem, melyek az *Escherichia coli*, a *Pseudomonas aeruginosa*, a *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, és a *Proteus vulgaris*, ugyanakkor négy Gram-pozitív baktériumot, amelyek a *Bacillus cereus*, a *Staphylococcus aureus*, az *Enterococcus faecalis* és a *Listeria monocytogenes* volt. Továbbá, a vizsgálatokat öt mikotoxin termelő penészgombán is elvégeztem, amelyek az *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium expansum* és *Saccharomyces cerevisiae* fajokhoz tartozó törzsek voltak. A kiválasztott mikroorganizmusok kapcsán figyelembe vettem a leggyakrabban

előforduló élelmiszerromlásokat és élelmiszer fertőzéseket kiváltó törzseket, melyek előidézhetik az ételek és/vagy a takarmányok romlását.

Escherichia coli

Az *E. coli*-t az *Enterobacteriaceae* családba tartozik, aerob és fakultatív anaerob, Gram negatív, spórát nem képező baktérium. Optimális növekedési hőmérséklete 37 °C és könnyen szaporodnak egyszerű tápközegeken. Megtalálható talajban, vízben, növényekben és melegvérű állatok székletében. A koliform baktériumok általában nem okoznak súlyos betegséget, leginkább jelenlétükkel azt jelzik, hogy más fekális eredetű kórokozó lehet jelen. A fekális koliformok a melegvérűek székletéből származnak, a koliform baktériumoktól annak alapján különítjük el, hogy a laktózt képesek 44 °C-on fermentálni. A fekális koliform csoportból biokémiai reakciók segítségével mutatható ki az *E. coli* (ODONKOR és AMPOFO, 2013).

Az *E. coli*, amely a normál bél mikrobióta részét képezi a kétélűektől az emberig, védelmet nyújt a különböző enterális patogének ellen és vitaminokat állít elő. Közegészségügyi aspektusban a fekális szennyeződésre utaló jelzők gyakran megtalálhatók az ivóvízben és bizonyos élelmiszerekben. Az *E. coli*-nak léteznek patogén törzsei, amelyek az evolúció során plazmidok és fágok révén virulenciafaktort kódoló géneket szereztek meg. Patogenitásuk különösen a bélfertőzések terén jelentős, de extraintesztinális megbetegedéseket, például húgyúti fertőzéseket is okozhatnak. A humánpatogén törzsek különböző hasmenéses tüneteket idéznek elő, amelyet egy hőlabilis exotoxin vált ki (GYÖRGY, 2021). Ez az egyik legveszélyesebb szerotípusa az *E. coli*-nak, ugyanis hemolitikus hasmenést, vastagbélgyulladást és urémiát okoz. Veszélyezett helyzetben a csecsemők és a fiatal gyerekek vannak (EKICI és DÜMEN, 2019). BAKER és mtsai., (2016) kimutatták az *E. coli* által termelt Shiga toxint nyers darált marhahúsban. Az USA-ban a leggyakoribb fertőzésforrásnak számít a nem megfelelően hőkezelt darált marhahús (RAZZAQ, 2006). Egy tanulmány arról számolt be, hogy elsőként izoláltak pontyból *E. coli* O157:H7 baktériumtörzset, mely potenciális veszélyforrás lehet a közegészségügyre, valamint az édesvízi akvakultúrákra nézve (XUE és mtsai., 2023).

Pseudomonas aeruginosa

A *Pseudomonas* nemzetségbe tartozó, Gram-negatív baktériumai jellemzően pálcika alakúak, mozgásukat poláris csillók biztosítják. Ezek a baktériumok egyenes vagy

enyhén görbült formájúak. Számos fajuk képes különböző szerves anyagok lebontására, ami által fontos szerepet játszanak az anyagok mineralizációjában. Ezek a baktériumok könnyen tenyészthetők, igen elterjedtek a természetben. (GRAM és HUSS, 2000; GRAM és mtsai., 2002). Patogén fajjal is rendelkezik a *Pseudomonas* nemzetség. Kiemelkedő közülük a *Pseudomonas aeruginosa*, amely képes állatokban, növényekben és emberekben betegségeket okozni. Emberi patogénként különösen a sebek gennyes fertőzéséért, illetve húgyúti fertőzések kialakulásáért felelős. A *P. aeruginosa* a halak normál mikrobiótájának része, de stresszes környezet hatására (mint például az alultápláltság és/vagy a túlszűfoaltság), opportunistává és kórokozóvá válhat vézéeses vérmérgezést, kopoltyúelhalást, a hasi puffadást, a lépmegnagyobbodást, törékeny májat okozhat (ARDURA és mtsai., 2013). Gyakorta előfordul természetes vizekben, szennyvízben, és a közvetlen környezetünkben is. Jellemzője, hogy különleges színt kölcsönöznek a baktérium kolóniáinak, ahol amíg a kék színt a piocianin, addig a sárga színt fluoreszcín adja, ugyanakkor zöld színt kölcsönöznek a telepeknek és a táptalajnak. Feltűnően rezisztens egyes fertőtlenítőszerekkel és antibiotikumokkal szemben (GYÖRGY, 2015).

Salmonella enterica subsp. enterica

Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *Salmonella* nemzetség tagjai csillós, pálcá alakú baktériumok. A *Salmonella enterica subsp. enterica* a világ egyik legjelentősebb élelmiszerfertőző kórokozója, amely az emberi és állati bélcsatornában él. Genetikailag két fajra osztható: a *S. bongori* faj a hüllők parazitája, míg a hét alfajból álló *S. enterica* faj különböző melegvérű állatokból izolálhatóak (BÉLÁDI, NÁSZ, 1997; (ROZGONYI, 2006; JAJERE, 2019). A *Salmonella enterica* olyan baktérium, amely számos virulencia-determináns termel, mint például exotoxinok és endotoxinok. Ezek a determinánsok felelősek a baktériumok patogenitásáért. Az endotoxinok biológiai válaszokat váltanak ki, míg az exotoxinok mint az enterotoxin és a citotoxin az emlősejtek elpusztulásával lehetnek kapcsolatosak (JAJERE, 2019). A baktériumok ürülék révén jutnak ki a környezeti közegbe, mint vízbe, talajba vagy növényzetre, ahol nem szaporodnak, de tartósan képesek túlélni hosszabb időszakot. Leggyakrabban a fekális szennyezés, hiányos szennyvízkezelés és elégtelen higiéniai feltételek miatt jelenhetnek meg a vízben és élelmiszerekben, amikor a hőmérséklet 4 °C fölé emelkedik. Emberi szervezetben a *Salmonella typhi* a hastífuszt (enterális lázat) okozhatja, míg a *S. paratyphi*, *S.*

typhimurium és *S. enteriditis* a szalmonellózis (gasztroenteritis) kialakulásáért felelős (GYÖRGY, 2015; SÁNDOR és PELES, 2015).

A halakban lévő *S. enterica* baktérium jelenlétet kimutatták, ami feltételezi az élelmiszerekkel összefüggő szalmonellózis kockázatát, valamint megfigyelték, hogy a *S. enterica* törzsek változatos szerotípus és genotípus diverzitással rendelkeztek, amely többféle fertőzési forrásra és ugyanakkor gazdaspecifikus törzsek hiányára utal a halakban (DOS SANTOS és mtsai., 2019).

Proteus vulgaris

A *Proteus* nemzetséghez tartozó Gram-negatív nem spóráképző fakultatív anaerob baktériumok elterjedtek a természetben, megtalálhatók elhalt növények vagy állatok lebomló részeiben és az emberi bélbióta tagjaként. Ezek a baktériumok erőteljes proteolitikus aktivitással rendelkeznek, és opportunistá humán kórokozókként ismertek. Főként csökkent immunrendszerű emberekben okoznak fertőzéseket, leggyakrabban húgyúti és sebfertőzéseket, valamint kórházi fertőzéseket (RÓZALSKI és mtsai., 1997; DRZEWIECKA, 2016). A sertés orr és mandula járatában (LOWE és mtsai., 2011), míg a tehénben minden *Proteus* faj kimutatott (HAWKEY és mtsai., 1986), feltételezeten is az élelmiszer romlás forrásai. A mosómedve ürülékéből izolált *P. vulgaris* törzs kondroitináz termel, amely egy virulenciafaktornak tekinthető, mivel a kondroitin-szulfát eloszlik az állati kötőszövetekben (KITAMIKADO és LEE, 1975; DRZEWIECKA, 2016). Ugyanakkor a sovány tejben és tojássárga emulzióban kimutatták, hogy a *P. vulgaris* exotoxinja proteolitikus és lipolitikus aktivitással rendelkezik 37 °C-on és pH=6 értéken (GHOSH és BARALE, 2015). Egy új tanulmány szerint a *P. vulgaris* az akvakultúrában tenyésztett ponty halak elhullásáért felelős, amelyet pontyból kinyert izolált baktérium megerősítésével támasztottak alá (SUN és mtsai., 2020).

Bacillus cereus

Egy Gram-pozitív spóráképző pálca alakú, gyakori talajbaktérium, amelynek sporái általában kis mennyiségben megtalálhatóak élelmiszerekben és adalékanyagokban. Gyakran előforduló kórokozó, talajban, vízben, porban és állati szőrben található (DEÁK, 2006). Szaporodása 8-55 °C között lehetséges, jól tűri a sót és alkalmazkodik a savas környezethez. Rendszerint a baktériumok talajból jutnak az élelmiszerekre, majd optimális körülmények hatására szaporodnak, leggyakrabban olyan termékekben,

amelyeket nem hőkezelték, vagy amelyeket hosszú ideig hűtőszekrényben tároltak. Feltételesen patogén, a fertőző dózis 10^5 sejt vagy spóra/g. A *B. cereus* által okozott kórképnek két megjelenési formája van: hányásos vagy hasmenéses típusú tünetekkel járó megbetegedés. Mindkét forma patogenezisében a *B. cereus* által termelt enterotoxinoknak tulajdonítanak jelentőséget. Ha a törzs cereulid nevű toxint termel, akkor hányásos szindróma alakulhat ki. A cereulid hőálló toxin, amely hányást okoz, és nagyobb mennyiségben akár máj- és agykárosodást is okozhat. A RAJKOVIC és mtsai., (2006) tanulmány szerint a táplálék jelentős hatással van a *B. cereus* hánytató toxin kinetikájára és össztermelésére. A kutatók azt találták, hogy a szénhidrátokban és fehérjékben gazdag élelmiszerek a legkedvezőbb környezetet biztosítják a cereulid termeléséhez, míg a zsírban gazdag vagy zöldségek kevésbé kedvezőek ebben a tekintetben. Ezzel szemben a hasmenéses tünetcsoport esetén a *B. cereus* baktériumok vagy spóráik lenyelése okozza a betegséget. Miután a baktériumok vagy spórák áthaladnak a szervezeten, a gyomorban és a belekben elszaporodnak, és több enterotoxin és virulenciafaktor termelődik. Ez a folyamat hasi fájdalommal, görcsökkel és vizes hasmenéssel jár (JOVANOVIC és mtsai., 2021). A leggyakoribb átviteli hordozók a desszertek, húsételek és tejtermékek a hasmenéses betegség esetén, míg a rizs a hányásos betegség fő hordozója (GRIFFITH és SCHRAFT, 2017). A *B. cereus* által okozott ételmérgezések hamar és spontán gyógyulnak (EL-ARABI és GRIFFITHS, 2021; BÉLÁDI és NÁSZ, 1997).

Staphylococcus aureus

Egy Gram-pozitív bakteriális kórokozó a *Staphylococcus aureus*, amely az egyik legelterjedtebb és számos szövődménymentes bőrfertőzést és súlyosabb invazív fertőzést válthat ki világszerte (RASIGADE és mtsai., 2014; RM és mtsai.,2007). Gömb alakú, nem csillós baktériumok, amelyek mikroszkóposan jellegzetes, szőlőfürtre emlékeztető szabálytalan csoportokat képeznek. A színük sárga, narancssárga vagy piros, mivel a legtöbb törzs karotinoid pigmenteket állít elő. A *Staphylococcus aureus* a legrezisztensebb spórátlan baktériumok közé tartozik. A kiszáradást jól tűri, és hónapokig életképes maradhat. A környezetben, talajban, vizekben és növényeken széles körben elterjedt szaprobioták közül sok a humán és állati szervezet ártalmatlan lakója, de időnként kórokozóként is felléphetnek (KADARIYA és mtsai., 2014; BÉLÁDI és NÁSZ, 1997). A *S. aureus* faj egyes törzsei rendelkezhetnek azokkal a génekkel, melyek olyan enterotoxint kódolnak és termelnek, melyek hőhatásra nem denaturálódnak, sav

rezisztensek és ellenállnak a tápcsatorna proteolitikus (pepszin vagy tripszin) enzimei hatásának (BHUNIA és BHUNIA, 2018; HENNEKINNE és mtsai., 2012; ROZGONYI, 2006). A *Staphylococcus* élelmiszer-eredetű betegség gyakran olyan élelmiszereket érint, mint a húsok, húskészítmények, baromfi-, és tojástermékek, tej és tejtermékek, saláták, pékáruk, különösen a tejszínnel töltött péksütemények és sütemények, valamint a szendvics töltelékek (TAMARAPU és mtsai., 2001; LE és mtsai., 2003; ARGUDÍN és mtsai., 2010). A *Staphylococcus aureus* toxinok közé tartoznak a *Staphylococcus* enterotoxinok, amelyek kilenc fő szerológiai típust képviselnek, és a pirogén toxin szuperantigének nagy családjába tartoznak bele. Ezek a toxinok különböző hatásokat váltanak ki, mint például immunszuppressziót és nem specifikus T-sejt-proliferációt (ARGUDÍN és mtsai., 2010; KADARIYA és mtsai., 2014).

Enterococcus faecalis

Gram-pozitív, megnyúlt coccusok, melyek párosával vagy rövid láncokban helyezkednek el (VAN TYNE és GILMORE, 2014). A véres agaron telepeit néha zöldes udvar veszi körül, leggyakrabban nem hemolizál, toxint nem termel. Fontos tulajdonsága, hogy képes túlélni a 60 °C-os hőmérsékletet 30 percig, valamint az E67 nevű szelektív táptalajon növekedést mutat. Nem mozgó mikroorganizmus, fakultatív anaerob. Az *Enterococcus*ok a melegvérűek bélcsatornájában és az emberi székletben rendszerint megtalálhatók. Vizsgálatok kimutatták, hogy az élelmiszerekből izolált enterococcus törzsek néhány virulenciajellemezőt hordoznak, és általában az *Enterococcus faecalis* többet tartalmaz, mint az *Enterococcus faecium*. Az enterococcusok fontos szerepet játszanak a bélflóra egyensúlyának fenntartásában, de kórházi kórokozók is lehetnek. Számos törzs rezisztens az antibiotikumokkal szemben, de a virulenciájukat nemcsak ez magyarázza meg. Az enterococcusok olyan virulencia faktorral rendelkeznek, mint az adhezinek, invazinok és hemolizin, amelyek segítenek a baktériumoknak a gazdaszervezetbe való behatolásban és károsításban (SINGH és mtsai., 2010; FRANZ és mtsai., 2003). A fertőzés szerepe az epeutak és a húgyutak gyulladásában, szívbelhártya és a szívbillentyűk gyulladásában, sebfertőzések, agyhártyagyulladás, hasüregi és kismencedei fertőzések, valamint enyhe lefolyású ételmérgezésekben nyilvánul meg. Az antibiotikumok iránti rezisztenciájuk meglehetősen nagy (VU és CARVALHO, 2011; DEÁK, 2006).

Listeria monocytogenes

A *Listeria* nemzetségbe tartozó rövid, Gram-pozitív, spórákat nem képző pálcás alakú baktérium. Gyakori a természetben, főleg rothadó, korhadó hulladékokon található. A felnőttkori liszteriózis enterális fertőzés: a *L. monocytogenes* a nem megfelelően megmosott zöldségek, valamint a kórokozóval terhelt hús és tej (COCOLIN és mtsai., 2002). Ugyanakkor, friss ponty halak zsigeri részeiből is kimutattak patogén *L. monocytogenes* baktériumot, amelynek jelenléte komoly szereppel kihat az emberi közegészségügyi higiéniaira (AL-GBURI, 2020). A bélben történő kolonizáció után a bélhámsejtekben, illetve a makrofágokban szaporodnak a baktériumok. Az utóbbiak a szervezetben történő elterjedést is elősegítik (BÉLÁDI, NÁSZ, 1997). A *L. monocytogenes* vérmérgezést, agyvelő-, agyhártyagyulladást, vagy vetélést okoz, különösen az immunhiányos személyek és az idősek csoportjára nézve veszélyes (KHADEMI és SAHEBKAR, 2019).

Mikroszkopikus penészgombák

A gombák elsősorban szárazföldi élőlények, egyesek azonban édesvízben és tengerben élnek. A legtöbbjük rothasztó, de néhány faj a növények, állatok és az emberek parazitája. Néhány gomba mikotoxinokat termel, amelyek negatívan hatnak az állatok és az emberek egészségére. Táplálkozás szempontjából a gombák kemoorgano-heterotróf szervezetek. A gombák cito- és telepmorfológiai szempontból a legdifferenciáltabb élőlénycsoportot alkotják. (PESTI, 2001).

A mikroszkopikus penészgombák széles körben elterjedtek a bioszférában. Az élelmiszerekben leggyakrabban előforduló romlást okozó gombák közé tartozik az *Aspergillus*, a *Penicillium* és a *Fusarium* nemzetség. Különösen a *Fusarium* fajok a vezető mikotoxin termelők. Számos faj képes értékes anyagok termelésére, amelyek ipari alkalmazásra is hasznosak (DEÁK, 2006).

Saccharomyces cerevisiae

A *S. cerevisiae* egy egysejtű eukarióta az egyik legjobban tanulmányozott szervezet, melynek teljes genomja ismert. Könnyen kezelhető, nem patogén, sejtjei oválisak, 5-10 µm átmérőjű. Vegetatív szaporodásuk sarjadzással történik. A *S. cerevisiae* heterotróf szervezet, aerob körülmények között légzést, anaerob körülmények esetén pedig alkoholos erjesztést folytat. Nem képes fermentálni a poliszacharidokat, csak egyszerű cukrokat képes átalakítani etanollá. A különböző biotechnológiai

alkalmazásokban nagy horderejű haszonnal alkalmazzák, mint a sör, a bor, a sütőélesztő és a takarmányélesztő előállításában. A molekuláris és a sejtbiológia terén az egyik leggyakrabban tanulmányozott eukarióta modellszervezet (VANDERWAEREN és mtsai., 2022).

***Aspergillus* és *Penicillium* penészgombák**

Az *Aspergillus* nemzetség a fonalagombák egy nagyon széles csoportja, az *Eurotiales* rendbe, a *Trichocomaceae* családba tartoznak, 350 fajt foglal magába. Az *Aspergillus* penészgombafajok előfordulása a környezetben nagyon gyakori, a talajban vagy a növényzeten. Szaporodásuk legfontosabb feltétele az oxigén és a víz jelenléte, melyet a levegő páratartalma és a szubsztrátum víztartalma biztosít. Mezofil szervezetek, és kedvelik az alacsony savas pH-t. Leggyakrabban az elhalt növényi vagy állatok korhadó, rothadó szerves bomlástermékeit hasznosítják, valamint másodlagos növényi kórokozént vannak jelen, az élelmiszerek esetében romlást okozók (RAWAT, 2015). A penészgombák által termelt toxinok az ún. mikotoxinok, amelyek másodlagos metabolitok (OLIVEIRA és mtsai., 2019; BENNETT, 1987) és az emberi vagy állati fogyasztók számára többféle egészség károsodást okozhatnak (AWUCHI és mtsai., 2022). Az *Aspergillus* fajok a legfontosabb mikotoxigén élelmiszer- és takarmányszennyezők, amelyek friss és szárított fűszerek, gyümölcsök, zöldségek, magvak, bab és gabonafélék betakarítás utáni romlása során jelentkeznek (PERRONE és mtsai., 2007). Az ember- és állatbiztonsági megközelítésben jelenleg veszélyt hordozók az *Aspergillus niger* által termelt fumonizin B₂ mikotoxin és ritkábban az ochratoxin A (NIELSEN és mtsai., 2009). A penészgombák által termelt mikotoxin termelés mértéke környezeti tényezőktől függ úgy, mint a szubsztrát vagy a tenyésztési közeg típusa, a tenyésztési idő vagy a hőmérséklet és stb. (ESTEBAN és mtsai., 2005). MARINO és mtsai., (2014) szerint a frissen csavart narancslé tápközegben a magasabb hőmérsékleten (26 °C) az *A. niger* megfelelően termeli az ochratoxint, melynek mennyiségi változásai a penészgomba típustól változnak. Az *A. flavus* által termelt alfatoxin, valamint az *A. ochraceus* ochratoxin rákkeltő tulajdonságokkal és akut életveszélyes toxicitással rendelkeznek, melyek gyakran elfordulnak mezőgazdasági termékekben (PERRONE és mtsai., 2007; GONG és mtsai., 2016).

A *Penicillium* nemzetséghez 150 faj tartozik. A növekedéshez alacsonyabb hőmérsékletet igényelnek, mint az *Aspergillus*-ok. A *Penicillium* spp. gombák fontos szerepet játszanak a gabonafélék és más élelmiszerek szárítása és tárolása során (DE

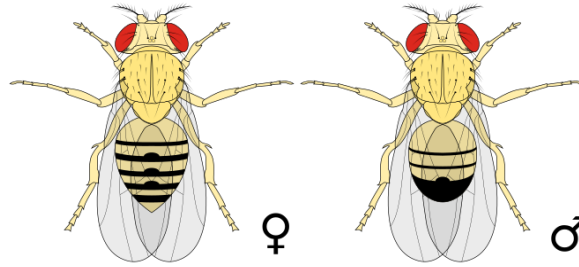
OLIVEIRA FILHO és mtsai., 2017). Ugyanakkor, az általuk termelt mikotoxinokkal szembeni kezelés lehetősége korlátozott, mivel a legtöbb *Penicillium* ssp. rezisztens a gombaölőszerekkel szemben (LUCIANO-ROSARIO és mtsai., 2020). Amelyek közül a *Penicillium expansum* komoly veszélyt jelent globálisan a gyümölcsiparban. Főként alma, körte, naspolya és birstermésekben okoz gondot, de érinti a csonthéjas gyümölcsöket is, mint a szilva és a cseresznye, valamint az apró gyümölcsöket, mint az eper és a szőlő, de a mogyoró sem kivétel. Gabonafélékben vagy gabonatermésekben kevésbé lehet kimutatni. Pszichotróf gomba -2 és 35 °C között szaporodik, de 25 °C körüli az optimuma. A *P. expansum* mikotoxinokat termel, mint a patulin, citrinin, chaetoglobozin A és C, kommunezin A, B és egyéb kisebb jelentőségű kommunezinek, rokfordin C, expansolidok A és B, ochratoxin A, penitrem A, rubratoxin B, citokalazin és penicilsav (TANNOUS és mtsai., 2018; ANDERSEN és mtsai., 2004), amelyek károsak az emberi és állati egészségre nézve. Elsősorban az emésztőszervekre van negatív hatással, de az immunrendszer működésére is káros hatással van. Az élettani hatások közé tartozik az érfalak átjárhatóságának fokozása, valamint fekélyképződést és vérzést kiváltó hatások (SALEH és GOKTEPE, 2019; DEÁK és mtsai., 2006). Világszerte leggyakrabban előforduló ubikviter penészgombának számít a *Penicillium citrinum*, jóformán mindenféle élelmiszerben és takarmányban és csaknem minden éghajlati viszonyok közt, képes citrinin nevű mikotoxint termelni, amely magas nefrotoxicitással és genotoxicitással rendelkezik (KAMLE és mtsai., 2022; GIL-SERNA és mtsai., 2014). Leggyakrabban gabonafélékben találhatóak meg, mint például a rizs, a búza, a kukorica és belőlük készült lisztek. Optimális hőmérséklete a 30 °C körüli, de széles 5 és 40 °C hőmérséklet tartományon képes szaporodni, xerofil penészgomba. BENNETT és KLICH (2003) kimutatták, hogy a citrinin neurotoxikus, jelentős veszélyt jelent az emberi és állati egészségre. Számos kutatás számol be, a citrinin ártalmas hatásairól, mint a vérszegénység (THACKER és mtsai., 1977), a máj- és a vesekárosodás (JORDAN és mtsai., 1977; RAŠIĆ és mtsai., 2022), a herék, a mellékherék elváltozásai és a vemhesség aránycsökkenése (JORDAN és mtsai., 1977; QINGGING és mtsai., 2012).

2.6. Transzlációs modellrendszerek bemutatása

2.6.1. *Drosophila melanogaster* szerepe a táplálkozási modellrendszerben

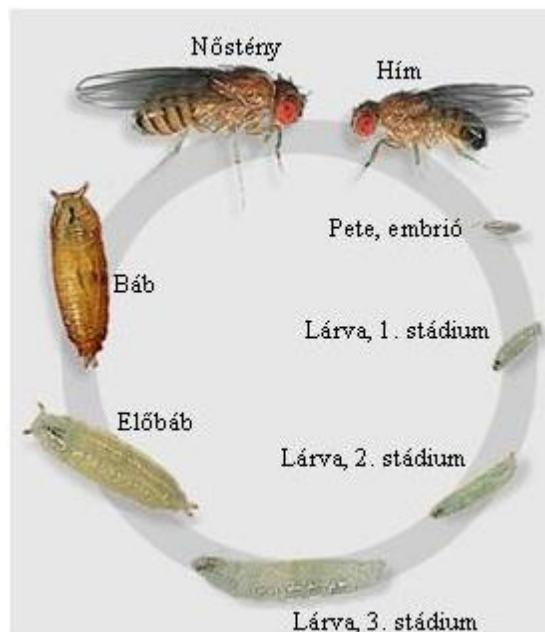
A XXI. század jelenleg legismertebb élőlény a *Drosophila melanogaster*, más néven ecetmuslica, egy olyan genetikai modellrendszer, melyet az 1910-es évek első felétől Thomas Hunt Morgan és tanítványai elsőként alkalmaztak az öröklődés

jelenségének tanulmányozása kapcsán. Az ecetmuslicás kutatásaik során, figyelemmel követék az életciklus szakaszait, majd bizonyos tulajdonságokat meghatározó gének öröklődését. Az ecetmuslica teljes genom szekvenciáját egy évvel a humán genom előtt sikerült beazonosítani. A *Drosophila melanogaster* genom becsült mérete 180 Mbp, amely megközelítőleg 13601 gént tartalmaz (ADAMS és mtsai., 2000). A jelenlegi bioinformatikai becslések szerint a muslica genomja feltehetőleg 14000 fehérjét kódol és mi több, ismerjük ezek teljes interaktomját (KAUFMAN, 2017).



1. ábra: *Drosophila melanogaster* kifejlett nőtény és hím egyedek (1. internet forrás)

Az ecetmuslica rendelkezik mindazokkal a tulajdonságokkal, amelyek a laboratóriumi körülmények kapcsán könnyen fenntarthatóak: kisméretű rovar, rövid életciklussal rendelkezik, meghatározható a keresztezések iránya, így prediktálható az L1 utódok genotípusa/fenotípusa (1. ábra). Egy kifejlett nőtény létre. Az ecetmuslica tenyésztése 25 °C-on 10 nap, és életciklusa holometabolikus típusú, amely során teljes átalakulás megy végbe (2. ábra).



2. ábra: Az ecetmuslica életciklusa és fejlődési stádiumai (2. internet forrás)

A megtermékenyítés és a peterakást követően az embrió 22-24 óráig fejlődik a petében lévő tápanyagok révén 25 °C-on, majd ezt követően belőle kikel az első stádiumú lárva (L1). Vedlésekkel elválasztva a lárvaállapotnak három stádiuma van: L1, L2 és L3. A lárva teljes életstádiuma négy nap, amely során táplálkozik, növekszik, testtömegét százszorosra növeli. A bebábozódást követően öt nap múlva a kifejlett 2 mm hosszú, barnás testű imágó elhagyja a bábvázat, és az imágó külső váza még nem szilárdult meg, de néhány órát követően a kutikula oxidálódva megkeményedik, és még egy nap alatt éri el az ivarérett állapotot (SZABAD, 2016). A vad típusú (avagy normális) ecetmuslica sárgás-barna színű, szeme alakja kerek, piros/vörös színű. A muslica szárnyai egyenes lefutásúak, a szárnyak ereztettek és a testét fekete szőrzet takarja. A nőtény és a hím imágók közötti szexuális dimorfizmus egyértelmű. Legjobban a külső genitáliák mutatják, a hímek utolsó két háti lemeze teljesen fekete, míg a nőténynek ez részben figyelhető meg.

Az általam vizsgált mutáns w^{m4h} törzs egy kromoszómális inverziót tartalmaz, amelynek következtében, az amúgy normális X kromoszóma disztális végén lévő w^+ lókuszt beforgatja a pericentrikus heterokromatin közelébe. A normális X kromoszóma disztális végén lévő w^+ lókuszt egy eukromatikus régióban található és ilyenképpen a génexpresszió nem korlátozott, aminek következtében a muslicák összetett szemei teljes mértékben piros fenotípust mutatnak. Azáltal, hogy a pericentrikus inverzió révén a w^+ lókuszt a pericentrikus heterokromatin közelébe kerül, ez a centromeron közeli heterokromatin ráterjedhet a w^+ lókuszra, és ezzel mintegy korlátozza a w^+ allél expresszióját és az ilyen ocellumokban nem fog piros pigment képződni, azaz fehér színűek lesznek. Az X kromoszóma heterokromatizációját több faktor is befolyásolhatja, és ilyenképpen az ocellumokban lévő pigmentek hiánya vagy jelenléte eltérő méretű területeket (foltokat) generál és innen ered a w fehér foltos 4 (*withe mottled 4*) mutáns törzs elnevezése is. Amennyiben ennek a törzsnek a szemében lévő piros/fehér foltok méretére is figyelünk, úgy következtetéseket vonhatunk le heterokromatinizáció okozta géncsendesítés mértékére vonatkozóan is (BOIVIN, DURA, 1998).

Tekinettel arra, hogy a *Drosophila melanogaster* teljes genomja, transzkriptomja, interaktomja mellett számos életjelenség genetikai determináltsága ismert, illetve fejlődés genetikai, molekuláris biológiai, biokémiai, viselkedéstani és immunohisztokémiai kutatási módszerek ötvözhetőek, aminek köszönhetően komplex kutatási értelmezések valósíthatóak meg.

2.6.2. A ponty (*Cyprinus carpio*) szerepe a táplálkozási modellrendszerben

A ponty széles körben az egyik legnépszerűbb hal, amely *Cyprinus* genusba és a *Cyprinidae* családjába tartozik. Európa és Ázsia mérsékelt égövén honos, de napjainkban szinte minden földrész édesvizeiben megtalálható, az Antarktisz kivételével. A jelenlegi termelési adat meghaladta a 4,2 millió tonnát évente a világon (FAO, 2023). A ponty haltenyésztés fő célja a kiváló minőségű állati fehérjeforrás gyors és hatékony előállítása. Ez egy nagyon szívós, nagypikkelyű hal, amely a lassú áramlású vizeket kedveli, különösen az iszapos aljzatú, náddal szegélyezett, sekélyebb és jól melegedő tavakat, valamint a folyók középső vagy alsó szakaszait és a mocsarakat. A ponty mindenevő halfaj, folyamatos táplálékkereső életmód jellemzi őket és hagyományosan a pontyokat tavakban tenyésztik. (MOHAMMED és mtsai., 2024).



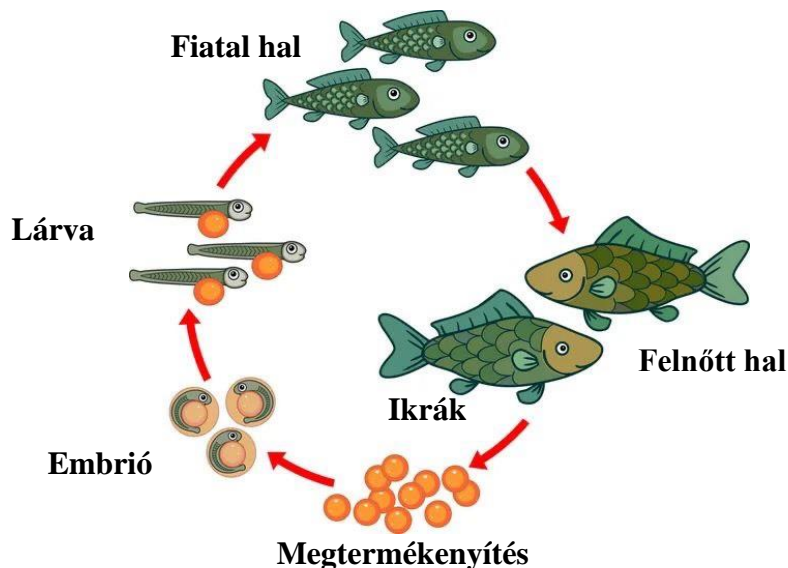
3. ábra: *Cyprinus carpio* (3. internet forrás)

A ponty fiatal egyedeinek hossza körülbelül 30 cm, de felnőtt példányai átlagosan akár 1 méteres hosszúságot is elérhetnek. A ponty omnivor (mindenevő) hal, amely táplálkozásában vízi rovarokat, rovarlárvákat (pld. szúnyoglárvákat), piócákat, csigákat, férgek, valamint algákat és egyéb növényi részeket is fogyaszt, ha azok elérhetőek. Az ivására legalkalmasabb időszak tavasszal, május és július között van, amikor a víz hőmérséklete 18-22 °C között mozog. A ponty ivadékok zooplanktonokkal, például rotatóriákkal (Rotifera) és forgólábú rákokkal (Copepoda) táplálkoznak, amelyek magas tápértékűek és fehérjében gazdagok (TAKEUCHI és mtsai., 2002).

Általános jellemző a halakra az öt szakaszos életciklus, amelyet az alábbi 4. ábra szemléltet. A halak életciklusának első szakasza a megtermékenyített ikra kifejlődésével kezdődik. A nőtény hal biztonságos, sekély, lágyszárú vízi növényzettel sűrűn borított területeket választ ivási szubsztrátként. Az ivás sikerességét számos környezeti tényező befolyásolja, mint például az optimális víz hőmérséklet (18-20 °C), az oxigénellátottság, a megfelelő fényviszonyok, az ivási aljzat minősége, valamint a hím pontyok észlelése. Emellett a légnyomás változásai is hatással lehetnek az ivási aktivitásra. A halaknál a megtermékenyítés külsőleg, vízi környezetben zajlik az ivásnak nevezett nászjáték során. Ilyenkor a nőtény petesejtjei és a hímivarsejtek egyszerre kerülnek a vízbe, ahol

közvetlenül érintkezhetnek, lehetővé téve a megtermékenyítést. A hímivarsejtek az ikrákra jutva igyekeznek elérni a petesejteket, mozgásukat pedig kémiai jelzőanyagok, úgynevezett feromonok serkentik, amelyeket a nőstény bocsát ki, elősegítve ezzel a sikeres szaporodást.

Az életciklus második szakaszában a megtermékenyített petesejtben kialakuló zigóta védett környezetben kezd osztódni. Ideális víz hőmérséklet (22-24 °C) mellett ez a fejlődési folyamat körülbelül 3 napig tart, de alacsonyabb hőmérsékleten hosszabb időt vehet igénybe. A szakasz végére a fejlődő lárvák erőteljes mozgásba kezdenek az ikrahéjon belül, jelezve a kelés kezdetét. A kikelést a lárvák mozgása és az ikrahéjban termelődő kelési enzimek segítik elő, amelyek lebontják az ikrahéjat. A kikelés után a lárvák önálló életet kezdenek.



4. ábra: A ponty hal életciklusa és fejlődési szakaszai (4. Internet forrás)

A harmadik életszakaszban a kikelt hallárvák védtelenebbek a külső környezeti hatásokkal szemben. Ebben a szakaszban a lárvák endogén táplálóanyagokkal, azaz a szikzacskóból származó tápanyagokkal táplálkoznak, így nem szükséges külső táplálékfelvétel a testfenntartó és sejtépítő életfolyamatokhoz. A hallárvák viselkedése fajspecifikus: egyes fajok lárvái a kelést követően 3–4 napig ideiglenesen tapadnak a környező felületekhez, míg mások azonnal szabadon úszó életmódot folytatnak. Ezen időszak alatt fokozatosan felélik a szikzacskó tartalmát. Ezt követően a víz felszínére úsznak, hogy feltöltsék az úszóhólyagjukat levegővel, és így vízszintesen tudnak úszni, megkönnyítve ezzel a táplálékkeresést. A lárvakór végére a szerveik a fajra jellemzővé fejlődnek, kivéve az ivarszerveket.

A negyedik szakaszban a táplálkozó lárvák már kizárólag a környezetükből szerzik be a táplálékot. Az első napokban a lárvák csak nagyon kisméretű táplálékot, például kerekessférgeket (Rotifera) és egysejtű állatokat, mint például a protozoákat képesek elfogyasztani. Ez az időszak kritikus a lárvák számára, mivel bár rendelkeznek a táplálékszerzési ösztönnel, a szükséges gyakorlat még hiányzik, így csak a próbálkozásaik 10%-a lesz sikeres. Ha a táplálékszerzéshez szükséges energia meghaladja a szerzett táplálék energiáját, a lárva fokozatosan elpusztul. Ezért fontos, hogy az optimális sűrűségű zsákmányok, például a Rotatoria, megfelelő mennyiségben jelen legyenek a vízben – a pontyfélék számára az alsó határérték 600-1500 egyed/L. Ahogy a fiatal halak gyorsan fejlődnek, képesek lesznek nagyobb zsákmányokat, például alsóbbrendű rákokat is elfogni. A fejlődés során a fiatal hal szervei fokozatosan teljesen kifejlődnek, és működésük tökéletesebbé válik. A lárva szakasz akkor zárul le, amikor a kishal egy hónappal a születés után elsajátítja a fajra jellemző táplálkozási formát.

Az ötödik szakaszban a hal teljes életmódja kialakul. 2,5-3 éves korukra ivarérett felnőtt halakká válnak, és kezdetét veszi a következő életeciklus (HANCZ, 2007).

2.6.3. Újfajta nutritív transzlációs modellrendszer megalkotása

A transzlációs modellrendszer lényege, hogy olyan információkat nyerjük, amelyek mintegy közvetlen kísérleti bizonyítékokat szolgáltatnak a vizsgálati feltevések/kérdések kapcsán. A direkt bizonyítás általában megelőzi a közvetett vagy indirekt bizonyítékokat és minden kétséget kizáróan igazolja a kísérleti hipotézist. Jelen esetben a növényi GTE-k nutritív hatását kellene bizonyítani és éppen ezen megfontolás által vezérelve kapcsoljuk össze az ecetmuslica és ponty fajokkal kapcsolatos kutatásokat. Mi több mindkét faj esetében az életeciklusaik tanulmányozása kapcsán a lárvális állapotra koncentrálunk, mivel ezek a szakaszok rendkívüli szenzitivitást mutatnak az elfogyasztott táplálék minőségi összetétele kapcsán. Ilyen értelemben elsősorban a makronutriens tartalomra kell gondolni és ennek kapcsán is a szénhidrátok, zsírok és fehérjék/aminosavak az elsődlegesek, mivel ezek jelentik a fejlődő egyed energia és a testi építőmolekuláinak forrásait. Az ecetmuslica táplálkozása kapcsán számos kutatási megfigyelést tettek az elmúlt évtizedben a makronutriensek vonatkozásában (EICKELBERG és mtsai., 2022), míg a ponty és makronutriensei kapcsán a megfigyelések leginkább a fehérjékre (WANG és mtsai., 2023) és pld. *Lemna minor* alapú (GOSWAMI és mtsai., 2022) táplálkozási típusra vonatkoznak. Megfigyelhető, hogy jelentős diszkrepancia van a két modell faj táplálkozását illetően, viszont a celluláris

folyamatok tápanyagi utánpótlása hasonló metabolikus sajátosságokra épül. E tekintetben egyszerre gondolhatunk a glikolízisre, Krebs ciklusra, β -oxidációra, vagy a mitokondriális elektrontranszport láncra, a hasonlóság nyilvánvaló az ecetmuslica és a ponty között. Ez azt is jelentheti, hogy amennyiben pld. egy növényi kivonatnak igazolható a nutritív jellege az ecetmuslica esetében, úgy jó eséllyel bizonyítható lesz ezen sajátossága a ponty kapcsán is. Az ecetmuslicás kísérletek megelőzik a ponty alapú vizsgálatokat mivel költséghatékonyabbak és részletgazdagabbak mint az utóbbiak. Éppen a megfontolás által vezérelve lett összekapcsolva a két modell élőlényre alapozott vizsgálat és végső soron a zsenge hal tápfejlesztése.

2.6.3.1. ATP-mérés mint közvetlen bizonyíték a nutritív hatások értékelésében

Az energia-anyagcsere kvantitatív nyomon követésének egyik legelfogadottabb módszere az adenzin-trifoszfát (ATP) meghatározása, mivel az ATP a sejtek univerzális energiahordozó molekulája, amely közvetlen indikátora a metabolikus aktivitásnak és a sejtek életképességének (SMITH és mtsai., 2012). A luminométer-alapú ATP-mérést széles körben alkalmazzák mikrobiológiai és élelmiszeripari vizsgálatokban (HYGIENA, 2020), ugyanakkor ezek az eljárások jellemzően felületek vagy élelmiszerminták vizsgálatára készültek, és az eredményeket relatív fényegységben (RLU) adják meg. Validált protokoll a hallárvák ATP-tartalmának közvetlen meghatározására a szakirodalomban eddig nem volt elérhető. Éppen ezért a pontyivadékok esetében az ATP-mérés lehetőséget ad arra, hogy a GTE-k nutritív hatásáról közvetlen bizonyítékot szerezzünk a sejtszintű energiaforgalom vizsgálatán keresztül.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Vizsgált növényi kivonatok

Munkám során három különböző növényi rügyhajtást vizsgáltam: a fekete áfonyát (*Vaccinium myrtillus* L. - Vm), a fekete ribizlit (*Ribes nigrum* L. - Rn) és a szedret (*Rubus fruticosus* L. - Rf). A növényi rügytermések élőhelye Románia. A Rn rügyhajtásait a PlantExtrakt cég tulajdonát képező bio-ültetvényekből gyűjtöttem be 2022 márciusában és áprilisében. A Vm és a Rf fiatal rügyhajtásait a Kolozs megyei Mărișel környékén vadon élő növényvilágból sikerült begyűjteni 2022 júniusában. A frissen szedett rügyeket a gyűjtést követő 6 órán belül feldolgozták, vagy hűtőszekrényben 4 °C-on, legfeljebb 24 órán át tárolták.

3.2. Növényi nyersanyagok előkészítése és extrakciója

A kivonatot frissen betakarított növényi rügymintákból állították elő, amelyeket 96%-os (v/v) etanol és glicerin 1:1 arányú keverékében, 1:2 növény-oldószer arány mellett tartósítottak. A friss növényi mintákból nedvességtartalom-elemzést végeztek, és a meghatározott nedvességtartalom alapján számították ki az oldószer mennyiségét, hogy a száraz növény–oldószer arány 1:20 legyen. Az összezúzott növényi anyaghoz hozzáadták a kiszámított oldószer mennyiséget, és az így kapott növény–oldószer keveréket 20 napon keresztül, naponta két alkalommal 20 percig keverték. Ezt követően a keverék szilárd és folyékony részét szétválasztották, majd a növényi részt tovább préselték az extrakció hozamának növelése érdekében. A két előállított extrahált oldatot összekeverték, és az így keletkezett tömény kivonatot további vizsgálatokig barna üvegben, 4 °C-os hűtőszekrényben tárolták (EDQM, 2023).

A kivonatkészítés szobahőmérsékleten (20–22 °C), fénytől védett környezetben zajlott. A 20 napos macerációs időtartamot a PlantExtract (Románia) által alkalmazott, szabványosított, lassú macerációs eljárás indokolta, amely a növényi rügyek hatóanyagainak kíméletes és fokozatos kioldódását biztosítja, megőrizve azok bioaktív tulajdonságait. A kivonatkészítés pontos technológiai részletei a gyártó által védett, bizalmas know-how részét képezik, ezért ezekről részletes ismertetést nem közöltek. Az alkalmazott módszertani keretet a szakirodalom alapján hivatkozással támasztottam alá (PERBELLINI, és mtsai., 2025).

3.3. Növényi GTE összetétel vizsgálata UHPLC-ESI-MS módszerrel

A NEBH beazonosítást a Nyíregyházi Egyetem Mezőgazdasági és Molekuláris Kutatóintézetének analitikai laboratóriumában végeztem el. A kivonatok mérésére ultranagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (UHPLC) Dionex Ultimate 3000RS készüléket használtam, amely egy Thermo Scientific Accucore C18 oszloppal rendelkezett (100 mm x 2,1 mm és 2,6 µm részecskeméret). Az oszlop hőmérséklete 25±1 °C volt. A készülék egy fűthető elektropray ionizációs (ESI) rendszerrel ellátott Thermo Q –Exactive Orbitrap tömegspektrométerhez kapcsolódik és a mérési pontosság 5 ppm-en belül volt. Minden egyes növényi mintából 5 µl térfogatot injektáltam. A tömegspektrométert a következő beállításokkal használtam: 320 °C-os kapilláris hőmérséklet, pozitív módban a kapilláris feszültség 4,0 kV, negatív módban 3.8 kV, a felbontás MS módban 35000, míg MS/MS esetében 17500 volt. A mért tömegtartomány 100-1500 m/z volt, a többszörös töltésű ionok kizárásra kerültek. Az ütközési energia 35NCE volt az MS/MS módban.

1. táblázat: A pozitív és negatív töltésű mozgófázisok keveréke és a gradiens elúció használata

Mozgófázis a pozitív töltésű ionizációs módban		Gradiens elúció
„A” eluens	999 ml víz: + 1 ml hangyasav	
„B” eluens	999 ml metanol, + 1 ml hangyasav	
Mozgófázis a negatív töltésű ionizációs módban		0-3 perc: 95% A, 3-43 perc: 95-0% A 43-61 perc 0% A, 61-62 perc 0-95% A, 62-70 perc 95% A.
„A” eluens	999 ml víz: + 1 ml hangyasav	
„B” eluens	999 ml metanol, + 1 ml hangyasav	

Az UHPLC elválasztás során mind pozitív, mind negatív ionizációs módban A és B eluens kombinációját alkalmaztam (1. táblázat). Az áramlási sebességet 200 µl/perc-re állítottam, és ugyanazt a gradiens elúciós programot használtam mind a pozitív, mind a negatív ionizációs módban végzett meghatározások során. A sebesség ingadozás 1%-on belül volt.

Ez a bonyolult analitikai technika elengedhetetlen a GTE-k komplex fitotápanyag-profiljának feltérképezéséhez és azon fitonutriensek pontos azonosításához, amelyek hozzájárulhatnak a feltételezett egészségjavító hatásukhoz. Az ilyen típusú UHPLC-ESI-MS alkalmazása jelenleg az egyik legfejlettebb módszer a tanulmányozott kivonatok fitonutriens profiljának elemzésére.

A jelen tanulmányban a kiválasztott polifenolok kvantitatív elemzését egy csúcskategóriás Shimadzu Nexera I LC/MS-8045 (Kyoto, Japán) UHPLC rendszerrel azonosítottam be, amely kvaterner szivattyúval és automatikus mintavevővel, ESI szondával és kvadrupólusú tömegspektrofotométerrel volt felszerelve. Az elválasztást Luna C18 fordított fázisú oszloppal (150 mm x 4,6 mm x 3 mm, 100 Å) végeztem, a Phenomenextől (Torrance, CA, USA). Az oszlop hőmérsékletét 40±1°C-on tartottam. A mozgófázist az alábbi 2. táblázat foglalja össze, ahol metanoltól (Merck, Darmstadt, Németország) és ultratisztított vízből készült gradiens volt, amelyet a Simplicity Ultra-Pure Water Purification System (Merck Millipore, Billerica, MA, USA) felhasználásával állítottam elő. Szerves módosító szerként használtam a hangyasavat (Merck, Darmstadt, Németország), 2%-os ultratisztított vizes oldat formájában, metanol és hangyasav LC/MS minőségű volt.

2. táblázat: A GTE-ok UHPLC-ESI-MS módszerrel történő mozgófázisok keveréke és a gradiens elúció használata

Idő, min	Metanol, %	Víz, %	2 % hangyasav vízben, %
0.00	5	90	5
3.00	15	70	15
6.00	15	70	15
9.00	21	58	21
13.00	21	58	21
18.00	30	41	29
22.00	30	41	29
26.00	50	0	50
29.00	50	0	50
29.01	5	90	5
35.00	5	90	5

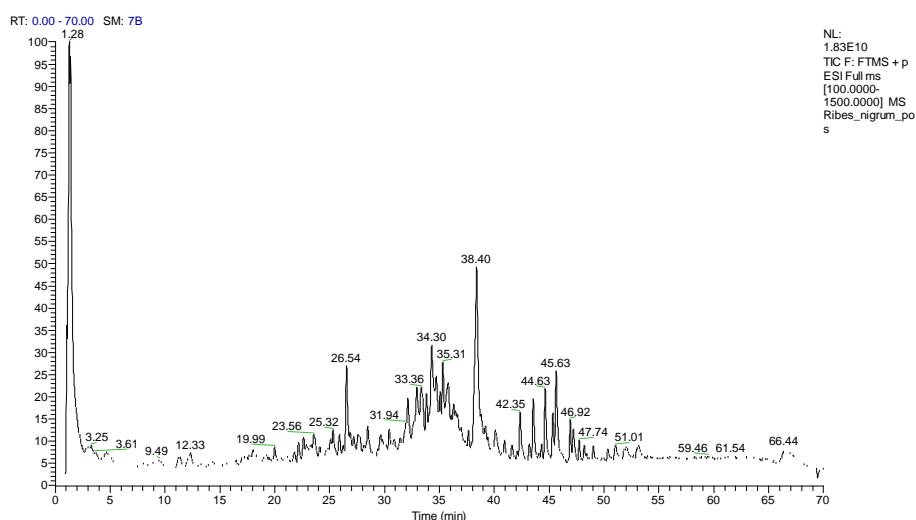
Az áramlási sebességet 0,5 ml/perc értékre állítottam be. Az elemzés teljes ideje 35 perc volt. A detektálást elektropray ionizációval (ESI) működtetett kvadrupól rudas tömegspektrométeren végeztem, úgy negatív, mind pozitív MRM (multiple response monitoring) ion üzemmódban (3. táblázat és 5-10 számú ábrákban szereplő kromatogramok). Az interfész hőmérsékletét 300 °C-ra volt állítva. A párologtatáshoz nitrogén szárítógázt használtam 35 psi, illetve 10 ml/perc sebességgel. A kapilláris potenciált +3000 V-ra állítottam be.

A polifenol standardokat a kalibrációs görbe egyenleteivel, azok korrelációs tényezőivel, ugyanakkor a kimutatási és mennyiségi meghatározás határaival együtt az 4. táblázat tartalmazza. Mindegyik standardból minden koncentrációnál 1 µl térfogatot injektáltam.

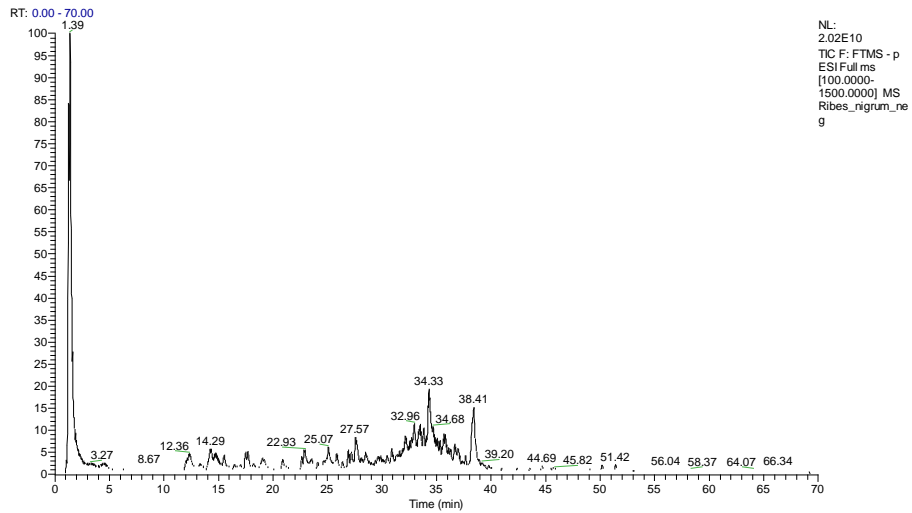
3. táblázat: A kvantitatív elemzéshez használt polifenol standardok

Standard neve	Retenciósi idő, min	<i>m/z</i> , és a Fő átmenet	MRM
Kávéssav	13,8	179,0 > 135,0	Negatív
Klorogénsav	11,9	353,0 > 191,0	Negatív
Ferulinsav	18,4	193,0 > 134,0	Negatív
Galluszsav	7,0	168,9 > 125,0	Negatív
Szalicilsav	23,5	137,0 > 93,0	Negatív
Apigenin	28,1	269,0 > 117,0	Negatív
Katechin	10,3	289,0 > 202,9	Negatív
Krizin	29,7	253,0 > 143,0	Negatív
Hiperozid	20,3	463,1 > 300,0	Negatív
Kaempferol	27,9	285,0 > 187,0	Negatív
Luteolin	26,8	287,0 > 153,0	Pozitív
Luteolin-7- <i>O</i> -glükozid	19,9	447,0 > 284,9	Negatív
Naringenin	26,2	271,0 > 119,0	Negatív
Kvercetin	25,4	300,9 > 151,0	Negatív
Rutin	20,2	609,0 > 300,0	Negatív

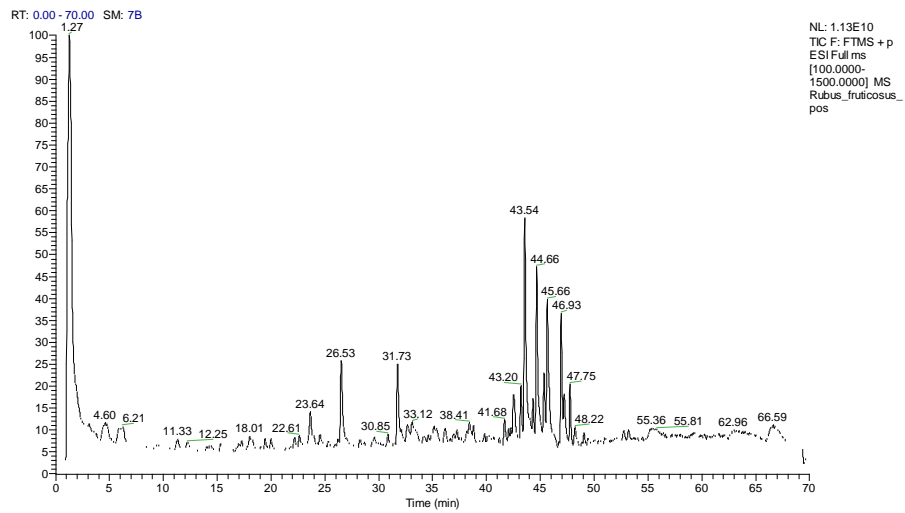
Az azonosítást az MS spektrumok és az elválasztott vegyületek és standardok közötti átmeneteik összehasonlításával végeztem (3. táblázat). Az azonosítás és a számszerűsítés az egyes vegyületek MS spektrumából való fő átmenet alapján valósult meg. A számszerűsítéshez meghatároztam a kalibrációs görbéket is, amelyek egyenletei a 4. táblázat szemlélteti.



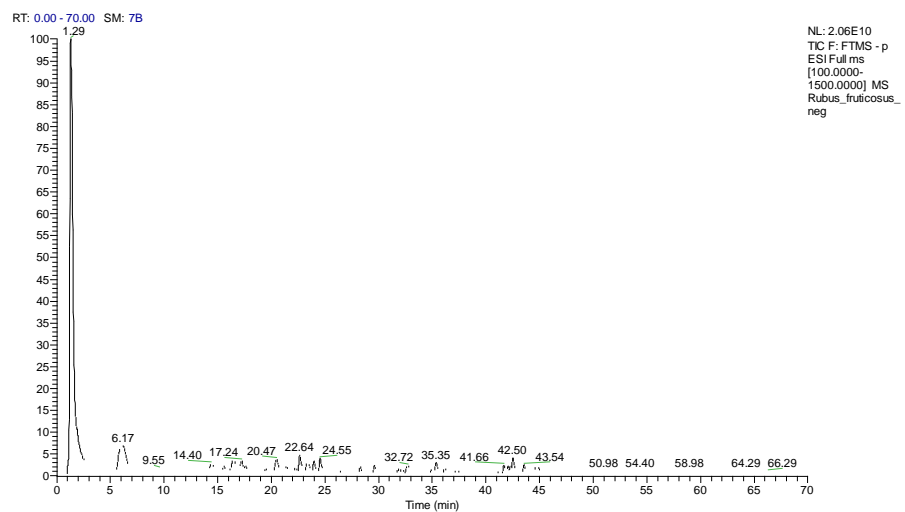
5. ábra: A fekete ribizli GTE teljes ionkromatogramja pozitív ionizációs módban



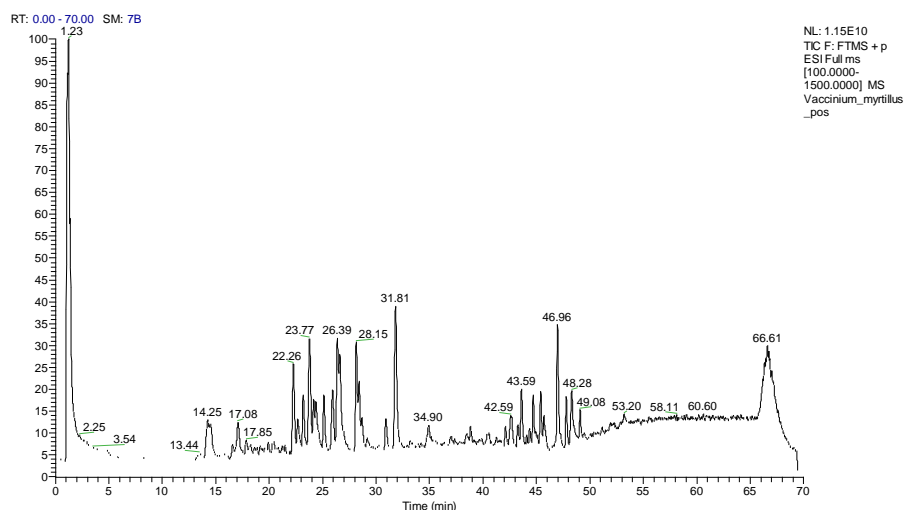
6. ábra: A fekete ribizli GTE teljes ionkromatogramja negatív ionizációs módban



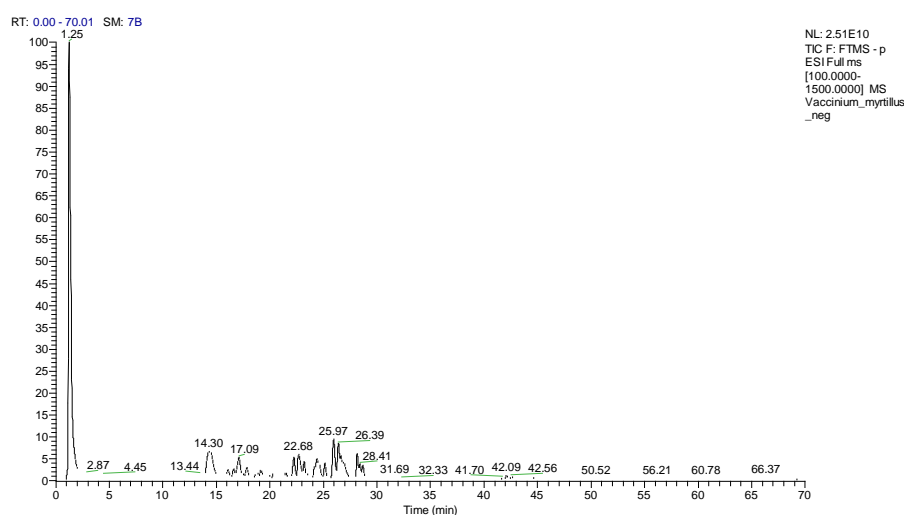
7. ábra: A szeder GTE teljes ionkromatogramja pozitív ionizációs módban



8. ábra: A szeder GTE teljes ionkromatogramja negatív ionizációs módban



9. ábra: A fekete áfonya GTE teljes ionkromatogramja pozitív ionizációs módban



10. ábra: A fekete áfonya GTE teljes ionkromatogramja negatív ionizációs módban

Az adatok gyűjtése és feldolgozása Thermo Trace Finder 2.1 szoftverrel (Thermo Fisher Scientific Inc.; Waltham, MA, USA) történt a meglévő és internetes adatbázisok: Metlin (La Jolla, CA, USA), Mass Bank Észak-Amerika (Davis, CA, USA), m/z Cloud (HighChem; Bratislava, Slovakia) alapján. A feldolgozás után az eredményeket manuálisan ellenőriztük a Thermo Xcalibur 4.0 szoftverrel (Thermo Fisher Scientific Inc.; Waltham, MA, USA). A kivonatokban található fitokemikáliákat a korábban publikált munkáink vagy szakirodalmi adatok alapján azonosítottuk be a pontos molekulatömeg, izotópmintázat, jellegzetes fragmentációs ionok és retenciós idő alapján (NEAMȚU és mtsai., 2020).

4. táblázat: Az UHPLC-ESI-MS vizsgálathoz használt standardok

Standard neve	Eredet	Koncentráció tartomány, mg/ml	Kalibrációs görbe egyenlete	Korrelációs faktor	Kimutatási határ, µg/mL	Mennyiségi határ, µg/mL
Kávésav	Phytolab, Vestenbergsgreuth, Németország	0,11–1,10	Terület = $4 \times 10^7 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 319 689	0,9998	3.20	4.80
Klorogénsav		0,13–1,30	Terület = $2 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 269 699	0,9997	5.00	8.00
Ferulinsav		0,100–1,000	Terület = $5 \times 10^6 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 50 000	0,9992	4.00	6.00
Galluszsav		0,107–1,070	Terület = $8 \times 10^6 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 37 131	0,9999	1.90	2.80
Apigenina		0,10–0,98	Terület = $2 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] + 15 916	0,9999	0,20	0.30
Hiperozid		0,012–0,107	Terület = $4 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 567 182	0,9986	0,60	0,90
Kaempferol		0,10–1,00	Terület = $10^7 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 20 574	0,9996	0,80	1.20
Luteolin		0,01–0,10	Terület = $2 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 2295,4	0,9977	0,05	0,07
Luteolin -7-O - glükozid		0,07–0,70	Terület = $1 \times 10^9 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 700 317	0,9990	3.00	4.00
Naringenin		0,16–1,60	Terület = $3 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 43 443	0,9999	0,60	0,90
Kvercetin		0,09–0,91	Terület = $5 \times 10^7 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 9556	0,9964	0,80	1.10
Rutin		0,17–1,70	Terület = $2 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 191 937	0,9996	4.00	6.00
Szalicilsav		Merck, Darmstadt, Németország	0,16–1,60	Terület = $4 \times 10^7 \times \text{konc}$ [mg/ml] + 44 120	0,9997	1.50
Catechin	0,10–1,01		Terület = $5 \times 10^6 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 1706	0,9984	1.00	2.00
Chrysin	0,10–1,00		Terület = $1 \times 10^8 \times \text{konc}$ [mg/ml] – 82 818	0,9997	3.00	5.00

3.4. A rügykivonatok várható élettani hatásainak előjelzése

A növényi GTE-k gazdagok bioaktív hatóanyagokban és számos értékes komponenst tartalmazhatnak, amelyeknek elfogyasztása kedvező élettani hatásokat gyakorolhat úgy az emberi, mint az állati szervezetekre. Az élettani hatás vizsgálata során a komponens analízist követően, a GTE-ban előforduló minden egyes komponensre rákerestem az irodalomban, ahol az egészségre gyakorolt jótékony hatásokról számoltak be. Így a kapott különböző élettani hatásokat csoportosítottam és %-formában kifejeztem az adott GTE-ra vonatkozóan.

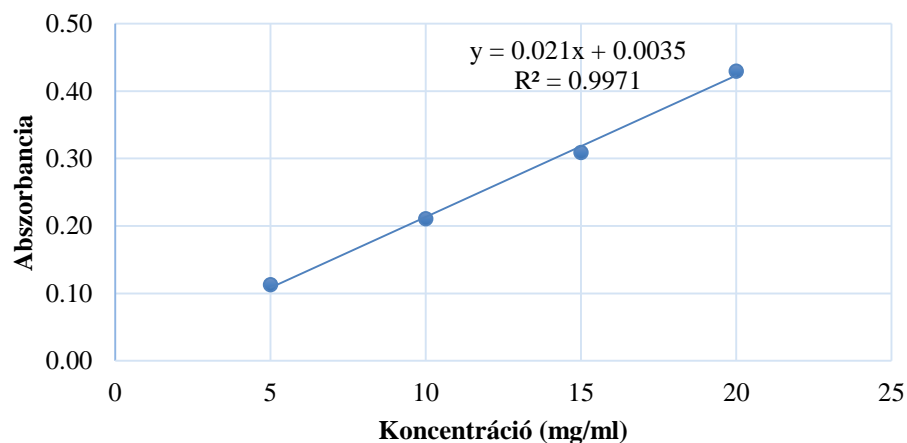
3.5. A rügykivonatok *in vitro* antioxidáns sajátosságainak vizsgálata

A GTE-k teljes polifenol-tartalom meghatározását és a teljes antioxidáns kapacitást (FRAP), ugyanakkor a DPPH gyök megkötésére épülő antioxidáns képességet a HACH DR 6000 UV-VIS spektrofotométerrel vizsgáltam a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem Csíkszeredai Karán az Élelmiszertudományi Tanszék laboratóriumában.

3.5.1. Össz polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel

SINGLETON és ROSSI (1965) által kidolgozott mérési módszert alkalmaztam az összes polifenol-tartalom meghatározására. A mérés lényege, hogy a Folin-Ciocalteu reagensben található sárga Mo(VI) ionok az antioxidánsok hatására kék színű Mo(V) ionokká alakulnak.

Első lépésben összeállítottam a mintaoldatot: 250 µl Folin-Ciocalteu reagenst, 200 µl metanol:víz (4:1) keveréket és 20 µl GTE mintát összekevertem, majd 1 perc elteltével 1 ml 0,7 M-os Na₂CO₃ oldatot és 5 ml desztillált vizet adtam az oldathoz.



11. ábra: A GAE kalibrációs görbe az összes polifenoltartalom meghatározáshoz

Az összemért oldatokat 120 percig állni hagytam szobahőmérsékleten. Második lépésben galluszsav (GAE) segítségével kalibrációs egyenest vettem föl (11. ábra), ahol a standard koncentrációk: 5 mg/ml; 10 mg/ml; 15 mg/ml; 20 mg/ml. A GAE oldat mérésére a fenti módszert alkalmaztam. A spektrofotometriás vizsgálatot 760 nm hullámhosszúságon mértem, háromszoros ismétlésben (BALOGH, 2010). Az eredményeket mg GAE/100 ml koncentráció egyenértékben fejeztem ki, az alábbi kalibrációs görbe segítségével, ahol a korrelációs tényező 0,9971, mely magas fokú megbízhatóságot jelez.

3.5.2. A teljes antioxidáns kapacitás meghatározása FRAP-módszerrel

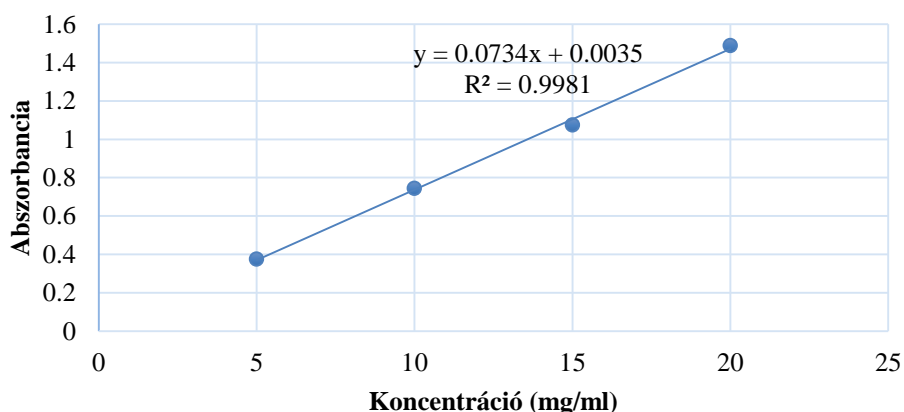
A FRAP eljárást BENZIE és STRAIN fejlesztette ki 1996-ban. A vizsgálat során az antioxidánsok redukálják a vas-2-4-6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) komplexet, ami színváltozással detektálható. A vizsgálat értékeléséhez aszkorbinsav (ASA) sztenderdet használtam, így a GTE eredmények antioxidáns kapacitását ASA-ra vonatkoztatva adtam meg. A FRAP oldat összeállításához az alábbi alapoldatok szükségesek:

Acetát-puffer: 0,31 g NaCH_3COO + 1,6 ml CH_3COOH + 100 ml desztillált víz;

TPTZ oldat: 0,312 g TPTZ + 100 ml desztillált víz + 366 μl HCl;

Vas-klorid oldat: 0,54 g FeCl_3 + 100 ml desztillált víz.

Első lépésben a FRAP oldat elkészítéséhez az alapoldatokból kimértem 25 ml acetát-puffert, 2,5 ml TPTZ oldatot és 2,5 ml vas-klorid oldatot (BALOGH, 2010). A kalibrációs görbét (12. ábra) FRAP oldattal, desztillált vízzel és 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml és 20 mg/ml koncentrációjú ASA sztenderddel végeztem.



12. ábra: Az ASA kalibrációs görbe a total antioxidáns kapacitás meghatározáshoz

A korrelációs tényező 0,9981, amely ugyancsak magas fokú megbízhatóságot jelent. Az analízis elvégzéséhez 1,8 ml FRAP oldathoz hozzáadtam 10 µl GTE mintát és 1 ml desztillált vizet. Ezt követően 5 perc várakozás után abszorbanciát mértem $\lambda=593$ nm hullámhosszon, háromszoros ismétlésben. Az így kapott eredményeket ASA / 100 ml GTE-ban adtam meg.

3.5.3. Az antioxidáns kapacitás meghatározása DPPH gyök megkötéssel

A GTE-ok antioxidáns kapacitását az 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) gyök megkötésén alapuló módosított módszerrel is vizsgáltam (HATANO és mtsai., 1988). A mérés kezdetén elkészítettem a metanolos DPPH oldatot (100 ml metanolban feloldottam 9 mg DPPH-t). Majd 1 ml DPPH oldathoz 20 µl GTE-t és 980 µl desztillált vizet adtam. Az összemért oldatokat 60 percig állni hagytam szobahőmérsékleten. A spektrofotometriás vizsgálatot 517 nm hullámhosszúságon végeztem háromszoros ismétlésben. Az eredményeket gátlás %-ban adtam meg, az alábbi képlet segítségével (BALOGH, 2010).

$$I = \frac{A_0 - A_{\text{minta}}}{A_0} \cdot 100$$

ahol: I – gyökmegkötő aktivitás vagy a DPPH gátlás, %
A₀ – a kontroll minta abszorbanciája,
A_{mint} – a vizsgált minta abszorbanciája.

3.6. A GTE-k antimikrobiális hatásának vizsgálata

3.6.1. Vizsgált mikroorganizmusok

A vizsgálatban használt különböző referencia baktérium- és mikroszkopikus gombatörzsek a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM) származnak. A GTE-k antimikrobiális aktivitásának meghatározását a következő nyolc baktériumtörzs esetében végeztem: *Escherichia coli* B.00200, *Pseudomonas aeruginosa* B.01064, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* B.00834, *Proteus vulgaris* B.00642 (Gram-negatív baktériumok); *Bacillus cereus* B.00076, *Staphylococcus aureus* B.01055, *Enterococcus faecalis* B.01054 és *Listeria monocytogenes* laboratóriumban izolált vad tözs (Gram-pozitív baktériumok). A vizsgált mikroszkopikus gombák a következők: *Aspergillus flavus* F.00048, *A. niger* F.00071, *A. ochraceus* F.00850, *Penicillium citrinum* F.00815, *P. expansum* F.00601 és *Saccharomyces cerevisiae* Y.00481.

3.6.2. A vizsgált mikroorganizmusok tenyésztése

A vizsgált baktériumtörzseket Nutrient tápagon (összetétele: 10 g pepton, 10 g húskivonat, 5 g NaCl, 18 g agar, 1000 ml desztillált víz) tenyésztettem, az inkulálás 37 °C-on 24 óráig történt, a penészgombákat és az élesztőgombát pedig, komplex táptalajon (összetétele: 10 g pepton, 10 g élesztőkivonat, 40 g glükóz, 20 g agar, 1000 ml desztillált víz), az inkulálás 28 °C-on 72 óráig történt. A tenyésztéshez használt reagensek a VWR International L.L.C.-től származtak.

3.6.3. Az antimikrobiális hatás vizsgálata

A mikrobiológiai vizsgálatok elkezdése előtt az GTE-ből kéméletes eljárással eltávolítottam az etanolt legfeljebb 40 °C-on és 200 mbar-on alkalmazott rotációs bepárló segítségével, elkerülve a bioaktív vegyületek lebomlását és elvesztését. A hiányzó etanol részét közvetlenül bepárlás után steril desztillált vízzel pótoltam. Az ily módon előkészített mintákat 4 °C-on hűtőszekrényben tároltam a vizsgálatokig. Az alkalmazott GTE-k koncentrációi 0-100% (v/v) között mozogtak, ahol 100% a koncentrált GTE-nak felelt meg, a többit pedig steril desztillált vízzel hígítottam. A hígított GTE/készlet koncentrációi a következők voltak: 100%–50 mg/ml, 90%–45 mg/ml, 80%–40 mg/ml, 70%–35 mg/ml, 60%–30 mg/ml ml, 50%–25 mg/ml, 40%–20 mg/ml, 30%–15 mg/ml, 20%–10 mg/ml, 10%–5 mg/ml.

A növényi GTE antimikrobiális hatásának kimutatása agardiffúziós módszerrel történt. A steril Petri csészékbe kitöltött és megszilárdult (az adott mikroorganizmusnak megfelelő) táptalaj felületére 0,1 ml mikroba szuszpenziót szélesztettem. A sejtsűrűséget Biolog turbidiméterrel állítottam be $OD_{600} = 1,0$ értékre, amely megközelítőleg 1×10^8 TKE/ml sejtszámnak felel meg, és hozzávetőleg megfelel a 0,5 McFarland standardnak. A hígítást steril fiziológiás sóoldattal végeztem. Ezt követően a táptalaj középpontjába egy 8 mm átmérőjű lyukat vágtam, melybe különböző koncentrációjú 0,1 ml GTE-ot pipettáztam. Az inkubálást (24 órán át 37 °C-on) követően a *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* és *Listeria monocytogenes* esetében a gátlási zónák átmérőjét (a lyukkal együtt, milliméterben kifejezve) digitális tolómérővel mértem (BAUER és mtsai, 1996). A kapott eredmények pontos értékeléséhez három párhuzamos mérés átlagával számoltam. Ugyanezt a módszert alkalmaztam élesztő és penészgombák (*Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*,

Penicillium citrinum, *P. expansum*) esetében is, azzal a különbséggel, hogy a táptalaj komplex táptalaj volt, az inkubálást 28 °C-on történt 72 óráig.

3.6.4. A minimális gátló koncentráció kimutatása

3.6.4.1. Mikrohígítási módszer folyékony tápközegben

Az antimikrobiális mikrohígítási vizsgálatot 96 lyukú táplevest tartalmazó mikrotiterlemezekben végeztem. A törzsoldatban koncentrált GTE mintákat sorozatosan hígítottam a mikrolemez lyukaiban, hogy 100 µl kevert oldatot kapjak. Így ennek eredményeként 10 és 100% közötti koncentrációtartományt értem el (a mg/ml-ben megadott koncentrációkat fentebb említettem).

3.6.4.2. A minimális gátló koncentráció meghatározása (MIC)

A MIC értékek kimutatását AGBEBI és mtsai., és EL BAABOUA és mtsai. (2022) által leírt módszer alapján végeztem. A tesztelt mikroorganizmus 24 órás friss tenyészetét 1 OD-ra hígítottam, ami $1,0 \times 10^8$ TKE/ml oltóanyag mennyiségnek felel meg. A mikrotiterlemez minden egyes ürege 100 µl különböző koncentrációjú GTE-t tartalmazott, és 20 µl vizsgált mikroorganizmus szuszpenzióval oltottam be. A baktériumokat tartalmazó mikrotiter lemezeket 37 °C-ra, míg az élesztőgombát tartalmazó lemezeket 28 °C-ra helyeztem inkubálni 24 órán át. Az inkubálás követően 10 µl 0,01 mg/ml resazurint adagoltam minden egyes lyukba, és további 2 óráig inkubátorba helyeztem a megfelelő hőmérsékletre. A vizsgált mikroorganizmus szaporodását az indikátor színének a változása jelezte, a resazurin színe kékről rózsaszínre változott. Az egyes GTE legalacsonyabb koncentrációját, ahol nem volt megfigyelhető növekedés, az adott mikroorganizmussal szembeni minimális gátló koncentrációként (MIC) regisztráltam. Megerősítő vizsgálat során a megfelelő lyukakban található mintákból szilárd táptalajon való tenyésztési eljárással ellenőriztem a kapott eredményeket (DRIOICHE és mtsai., 2022; CLSI, 2012; PFALLER és mtsai., 2004).

3.6.4.3. A minimális baktericid koncentráció meghatározása (MBC)

Az MBC értékek meghatározásához a MIC kimutatása céljából használt mikrotiterlemez módszert alkalmaztam. A mikrotiterlemez üregeiben lévő azon minták esetében, amelyeknél nem volt megfigyelhető mikrobiális növekedés a MIC vizsgálatok során, a szélesztéses élősejtszám meghatározást alkalmaztam. Az MBC-nek felel meg az a GTE koncentráció, amely hatására a mikrobák elpusztulnak, a 24-48 órás inkubáció

után a tápagar felületén nem fejlődnek ki telepek (DRIOICHE és mtsai., 2022; PFALLER és mtsai., 2004; CLSI, 1998).

3.7. Transzlációs modellrendszer vizsgálata

3.7.1. *Drosophila melanogaster* tenyésztése

A GTE hatástani vizsgálatait során a *Drosophila melanogaster* modell rendszert alkalmaztam. A vizsgálat során az ecetmuslica mutáns w^{m4h} (fehér foltos 4) törzset használtam, amelyet a Bloomington Stock Centertől származott. A kísérletek során az egyedszám több ezer fő volt. Az általam vizsgált w^{m4h} típusú ecetmuslica törzset 25 °C-on normál szénhidrát (NM) és magas szénhidrát (HS) tartalmú táptalajon tenyésztettem, a táptalajokat a ThermoFisher-től vásároltuk (5. táblázat). A HS tartalmú táptalaj összetétele megegyező volt a NM táptalaj összetételével kivéve a szacharóz mennyisége, amelynek értéke 10%-al haladta meg normál értékét.

5. táblázat: *Drosophila melanogaster* tenyésztéséhez használt táptalajok összetevői

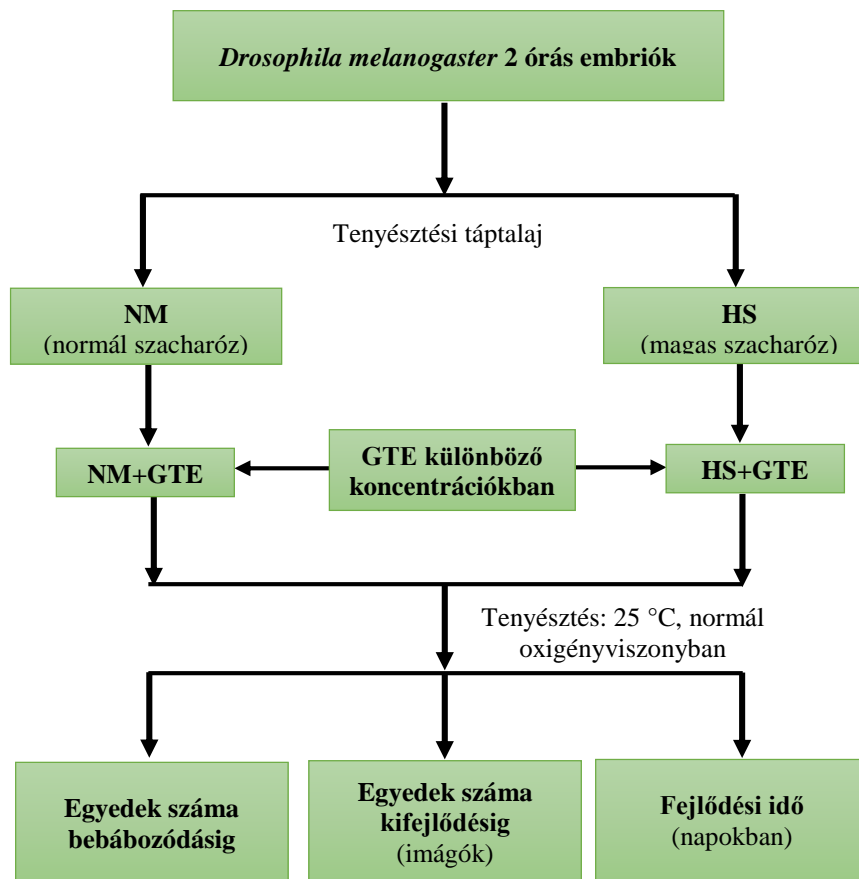
Táptalaj összetevők	
NM	HS
szacharóz 51,35 g	szacharóz 56,485 g
búzadara 30 g	búzadara 30 g
pékélesztő 70 g	pékélesztő 70 g
agar 10 g	agar 10 g
nipagin 1 g	nipagin 1 g
víz 1200 ml	víz 1200 ml

Mindkét (NM és HS) táptalaj elkészítése során, a nipagin kivételével, az összetevőket 30 percig forraltam, majd vízfürdőben 50 °C-ra visszahűtött táptalajhoz hozzáadtam a nipagint és jó alaposan összekevertem. Mind a NM, úgy a HS tartalmú táptalaj készítése során a 45 °C-ra visszahűtött táptalajhoz adtam hozzá a különféle GTE-knek megfelelő mennyiségeket. A Rn-GTE esetében öt különböző koncentrációt alkalmaztam: 0,5 ml (25 mg) – 1 ml (50 mg) – 1,5 ml (75 mg) – 2 ml (100 mg) – 3 ml (150 mg). A Vm-GTE kapcsán 1 ml (25mg) – 2 ml (100 mg) – 3 ml (150 mg) koncentrációsorot alkalmaztam. A Rf-GTE esetében négy különböző koncentrációt hoztam létre, amelyek 0,5 ml (25mg) – 1 ml (50 mg) – 2 ml (100 mg) – 3 ml (150 mg) extraktumot tartalmaztak. A kontroll minták összetételükben nem tartalmaztak GTE-t.

Az ecetmuslica említett törzsét fiolákban és üvegekben tenyésztettem; a fiolák 4 ml, az üvegek 100 ml táptalajt tartalmaztak.

A petésztetésre nutriens nem tartalmazó táptalajt használtam, amely 0,5 g aktív szénport, 1 g agar-agart (VWR, No. 20767.298) és 100 ml desztillált vizet tartalmazott. Az összetevők összekeverése után a keveréket 15 másodpercig forraltam, majd 45 °C-ra

hűtöttem, és 3 ml-es Petri-csészékbe töltöttem ki. A tenyészetekből származó petéket NM és HS tartalmú táptalajon, illetve GTE-kal kiegészített normál körülmények között neveltem (13. ábra). Az eredmények értékelésénél hat párhuzamos mérés átlagával számoltam (eredményeimet %-os formában fejeztem ki), hogy biztosítsam a kísérlet pontosságát és következetességét. A kikelő imágók fejlődési időtartamát a normál egyedfejlődéshez (napokban kifejezve) viszonyítottam.



13. ábra: *Drosophila melanogaster* vizsgálati sémája

3.7.2. *Drosophila melanogaster* életképességi vizsgálatok

Első lépésben a petéztető csövekhez illesztett táptalajról megtermékenyített petéket gyűjtöttem össze, amelyek hím és nőstény (körülbelül 300 főnyi 5 napos w^{m4h} genotípusú) ecetmuslica egyedek keresztezéséből származtak. A petéztetés 25 °C-os inkubátorban történt. A petéztetés során a cső alsó oldalán egy petéztető táptalajt tartalmazó Petri csészét helyeztem el, melynek fekete színe megkönnyítette a fehér színű peték megfigyelését. A petéztető tápagar közepébe egy kisebb darab pékésztő pasztát helyeztem el, hogy biztosítva legyenek a szükséges tápanyagok a keresztezett szülői egyedek számára. A petéket 2 óránként gyűjtöttem petéztető lemezen, és az első két minta után már bekövetkezett a petéztetés szinkronizálása, azaz a 3-ik 2 órás pete gyűjtés során

az ecetmuslica peték többségében 0-2 órás embrióknak feleltek meg. Mikroszkóp alatt finom mozdulattal eltávolítottam a lemezről az embriókat és a megfelelő NM és HS tartalmú táptalajt tartalmazó fiolákba helyeztem, amelyek előzőleg kiegészítettem vizsgált GTE-al. Mindegyik fiolába összesen 50 embriókat helyeztem el, és minden egyes vizsgált koncentrációval szemben, párhuzamosan 6 fiolában végeztem az ismétlést, így minden egyes minta esetében a kiinduló egyedszám 300 darab volt és az egyedfejlődésük kezdeti szakaszában voltak.

A friss megtermékenyített petékből 50 petényi csoportokat gyűjtöttem össze friss NM és HS tartalmú táptalajt tartalmazó fiolákba. A petéket változatlan páratartalom mellett, 25 °C hőmérsékleten tartottam a kifejlett L1 imágók megjelenéséig. A vizsgálat során az első 24 óra elteltével, figyelemmel követtem az embrió-lárva stádiumok vándorló/befejező szakaszát, ezt követően az előbáb majd a bábbá alakulást és a kifejlett imágók kikelésének időintervallumát. A folyamatos keltetést 30 napig követtem.

A túlélőképesség hatásának mélyebb megértése érdekében ezeket a kísérleteket nemcsak háromszor ismételttem meg, hanem kiterjesztettem a GTE-specifikus koncentrációk skáláját is. Fontos megjegyezni, hogy ezekben a GTE-specifikus túlélőképességi értékelésekben azonos genotípusú és életkorú ecetmuslicákat használtam. Továbbá, az összes kísérletet egyszerre végeztem el, biztosítva, hogy az eredmények közvetlenül összehasonlíthatóak legyenek, és mentesek legyenek azoktól a különbségektől, amelyek a kísérleti körülmények vagy a muslica fejlődési szakaszainak változásából adódhatnak. Az egyidejű kísérletek párhuzamos végrehajtása kulcsfontosságú volt a megbízható és pontos adatok megszerzéséhez a GTE koncentrációk hatásáról a *Drosophila melanogaster* túlélőképességére.

3.7.2.1. A *Drosophila w^{m4h}* lárvák transzkriptom vizsgálata NM és HS étrend hatására, GTE-kezelés nélkül

Az ecetmuslica teljes genomjára vonatkozó génexpressziós vizsgálat során, a 120 órás 3-ik stádiumos lárvális egyedeket összegyűjtöttem egy megfelelő szitás kosárkába, majd többször öblítettem PBS oldatban, hogy minden lehetséges szennyeződést eltávolítsak a lárvák testéről. Az ilyenképpen megtisztított egyedekről minden folyadékot eltávolítottam a szitás kosárkát szűrőpapírra helyezve. Ezt követően kísérleteként 25 főnyi száraz lárvát steril Eppendorfcsőbe helyeztem és folyékony nitrogénbe mártottam majd a mintákat -80 °C-on tároltam. Az ecetmuslica lárvák teljes transzkriptomi vizsgálatát, amely magába foglalta a RNS izolálást és szekvenálást megbízási alapon a

bécsi székhelyű TAmiRNA GmbH (Tamirna) nevű cég végezte. A szolgáltató a nyers RNS-mintákat minőségellenőrzésnek vetette alá (RIN-érték meghatározása Bioanalyzerrel), majd a mRNS-re dúsított, irányított könyvtárakat az Illumina Stranded mRNA Prep készlettel állította elő. Ez a protokoll poli-A szelekciót, mRNS-fragmentálást, cDNS-szintézist, adapter- és indexkötést, valamint PCR-amplifikációt foglal magában, ahogyan a NextSeq 550 RNA-Seq standard munkafolyamatának leírása is tartalmazza (ILLUMINA, 2013). A könyvtárak minőség- és mennyiségellenőrzését követően a szekvenálást Illumina NextSeq 550 készüléken végezték páros végű, 2×75 bázispáros olvasási módban, amely mintánként körülbelül 400 millió leolvasást eredményezett. A nyers FASTQ-fájlok minőségellenőrzése és az alacsony minőségű bázisok, illetve adapterszekvenciák eltávolítása után a leolvasásokat a *Drosophila melanogaster* dm6 mRNS referenciagenomhoz illesztettem a STAR programmal. A génszintű számlálást a featureCounts algoritmussal végeztem, majd az egyes gének expressziós értékeit normalizáltam, \log_2 -transzformáltam, és Excel-táblázatban kaptam meg. A differenciálisan expresszált géneket azok a jelöltek adták, amelyeknél a \log_2 -skálán $\geq +1/\leq -1$ (két-szeres növekedés/csökkenés) vagy $\geq +2/\leq -2$ (négyeszeres növekedés/csökkenés) változást figyeltem meg. A szűrt génlisták funkcióit a *Drosophila*-specifikus FlyBase (<https://flybase.org/>) adatbázis egyéni génadatai alapján kategorizáltam. Az étrend-függő és jelentős expressziós változásokat mutató hemolimfa/hormon- és citoskeletális funkciójú gének beazonosítása után ezeknek a géneknek az interaktomját a STRING 12.0 (<https://string-db.org/>) adatbázissal elemeztem.

3.7.3. zsenge ponty (*Cyprinus carpio*) előállítás és életképességi vizsgálata

A zsenge ponttyal kapcsolatos kísérletek a Debreceni Egyetem, Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet Hallaboratóriumában történtek. A sikeres mesterséges szaporítás után a megtermékenyített ponty ikrák független mechanikai és biológiai szűrővel felszerelt, recirkulációs rendszerhez kapcsolt Zuger edényekben kerültek. A lárvák 48 óra elteltével elkezdtek kikelni, így az életképes és nem táplálkozó egyedek átkerültek egy önálló recirkulációs rendszerbe. További 48 óra elteltével a lárvák levegőt vettek, és feltöltötték úszóhólyagjukat. Ezt követően a lárvákat elhelyeztem egy moduláris akváriumrendszer egységeibe, amelyek a kísérlet helyszínénél szolgáltak. A teljes akváriumi rendszer víztérfogata megközelítőleg 800 liter volt. A rendszer 12 akváriumból állt össze, mindegyik akvárium hasznos térfogata 20 l, míg a puffertartály

térfogata 320 l volt. Akváriumonként 200 darab táplálkozó lárvát helyeztem ki. Az akváriumrendszerben a mechanikai szűrés 20 l térfogatú, 40 m² hasznos felületű kerámia közegen, a biológiai szűrést pedig 50 l térfogatú és 20 µm szemcseméretű szivacsrendszeren keresztül valósult meg. A Jebao Air pump kompresszor szolgáltatja az oxigént, biztosítva a kívánt telítettségi szintet. A megfelelő hőmérséklet fenntartása 500 W-os Aqua L GOLD 500 akvarista fűtőelemekkel volt biztosítva. Az optimális vízhőmérséklet $22,0 \pm 0,5$ °C és az oldott oxigén koncentrációját $79,3 \pm 0,6\%$ volt, amelyet naponta követtem HACH HQ30d mérőműszerrel, és a kísérletek időtartama alatt változatlanok voltak. Az etetést minden nap meghatározott időpontban kezdtem meg. A tesztelés alatt az ivadékok etetése *ad libitum* történt és minden nap végén a felesleges takarmányt, illetve az ürüléket eltávolítottam az akváriumból. A kísérlet négy kezelést tartalmazott, mindegyiket háromszoros ismétlésben végeztem el. A vizsgálat teljes időtartama alatt sórákkal (*Artemia salina*) etettem a kontrollcsoportokat, míg a további kísérletekben a pontylárvák tápláléka ki volt egészítve egy GTE-specifikus adalékanyagokkal. A kísérletek időtartama a kelést követően kilenc napig tartott. A kísérlet során megadott időpontokban elemeztem a hallárvák méretének változását és az ATP-tartalmát. A kísérlet befejeztével megszámláltam az életképes egyedeket és kiszámítottam a túlélési arányt.

3.7.3.1. A pontyivadék kiegészítő tápjának kidolgozása

A pontyivadékok táplálására szánt tápok kidolgozása során a növényi GTE megkötésére maltodextrin alapú, vízdoldható élelmi rostot (Fibersol-2) használtam. Ez az összetevő természetes keményítőforrásból származik, és gyakran alkalmazzák élelmiszerek adalékanyagaként. Gyors felszívódása révén elősegítheti az energiaszint fenntartását, és hozzájárulhat az állóképesség növeléséhez. A pontyivadékok számára kifejlesztett kísérleti haltáp előállításánál a vizsgált alkoholmentes növényi GTE-kből 0,2 ml mennyiséget adtam 1 gramm Caleido Fibersol-2 vízdoldható élelmi rosthhoz (Caleido Kft.). A keveréket homogén állag eléréséig elegyítettem, majd 35 °C-on, inkubátorban 2–3 napig szárítottam. A kapott GTE–Fibersol-2 keveréket ezt követően finomra őröltem az egyenletes szemcseméret biztosítása érdekében. Az így előállított keveréket szobahőmérsékleten, zárt, laboratóriumi tárolóedényben, fénytől védve tároltam felhasználásig. A cél az volt, hogy a pontyivadékok összehasonlítható mennyiségű, egységes összetételű kiegészítő tápot kapjanak, amely tartalmazza a GTE-k funkcionális komponenseit.

3.7.3.2. A pontyivadék ATP-tartalmának meghatározása

A meghatározott időközönként gyűjtött mintához 10 pontyivadékot választottam ki 1 órával etetés után (táplálkozó lárvák esetében) a megfelelő akváriumokból, és ezeket 1,5 ml-es Eppendorf-csőbe helyeztem, amely 250 µl foszfáttal pufferolt sóoldatot (PBS) tartalmazott. Az Eppendorf-csőben lévő hallárvákat néhányszor leöblítettem, finom koppintó mozdulatokkal, majd a csőben lévő PBS-t eltávolítottam Pasteur pipettával. Közvetlenül ezután 50 µl PBS-t adtam az Eppendorf-csőbe, és a benne lévő lárvákat Micro-Vial homogenizáló rendszerrel (Wilma LabGlass Motor & Adapter, BP-7005-000, ATS Life Sciences Wilma, Vineland, NJ, USA) összetörtem sterilizált mozsártörővel. A kapott homogenizált keveréket azonnal centrifugáltam 7000 fordulat/perc sebességgel 4 °C-on. A felülúszó részt ATP kémcsőbe pipettáztam, és az ATP-t luminométerrel mértem (HYGIENA, 2020). Az eredmények pontos értelmezéséhez az eredetileg relatív fényegységben (RLU) kapott leolvasásokat ATP pikogrammáira (pg) alakítottam át a következő képlet segítségével: $m = (RLU \times 0,507)/2$.

Mivel a standard ATP-luminométer protokollok elsősorban felületi és élelmiszerminták vizsgálatára készültek, a módszert a hallárvák sajátosságaihoz adaptáltam és ismételt mérésekkel validáltam. Az így módosított eljárás elsőként biztosít lehetőséget a táplálkozó pontylárvák ATP-tartalmának közvetlen, kvantitatív meghatározására, ami megbízható bizonyítékot nyújt metabolikus aktivitásukról és a GTE-kiegészítéssel kiegészített tápkiegészítők anyagcserére gyakorolt hatásáról.

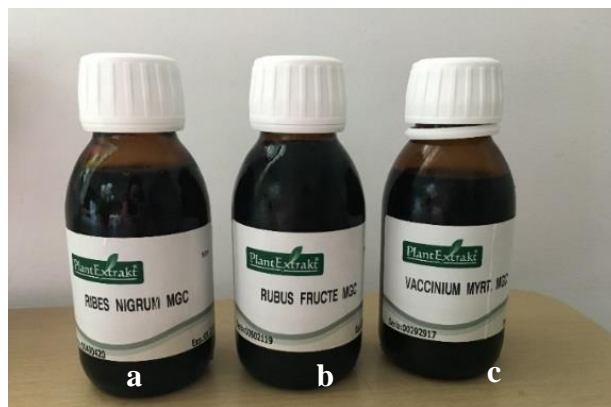
3.8. Statisztikai elemzés

Minden vizsgálatot háromszoros ismétlésben végeztem, az adatokat átlagértékben és \pm szórással (SD) fejeztem ki. A statisztikai elemzésekhez az IBM SPSS Statistics 26 programát használtam. Az antimikrobiális aktivitást One-way ANOVA és Tukey-féle HSD-teszttel értékeltem a különböző koncentrációk és kivonatok közötti szignifikáns különbségeket ($p < 0,05$). A *Drosophila melanogaster* életképességi adatait szintén One-way ANOVA-val elemeztem, a szórással Levene-teszttel vizsgáltam. Mivel minden esetben $p > 0,05$ volt, a csoportok összehasonlítására Tukey-féle HSD tesztet alkalmaztam. A pontyivadékok ATP-mérésénél a módszer időigénye miatt mintánként 10 egyed vizsgálatára volt lehetőség, amit az adatok értelmezésénél figyelembe vettem.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Fitonutriens profil meghatározása a fekete ribizli, szeder és fekete áfonya rügykivonatok esetében

Kutatásom során vizsgáltam az előállított háromféle alkoholos rügykivonatnak (14. ábra) a fitonutriens összetételét UHPLC-ESI-MS módszerrel, s amint azt az Anyag és Módszer fejezetben ismertetem, minőségi elemzéssel határoztam meg. Ez a típusú vizsgálat a GTE-k minőségi összetételére vonatkozóan szolgáltat adatokat. A fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.) gemmoterápiás extraktumból (Rn-GTE) 139-t, a szeder (*Rubus fruticosus* L.) gemmoterápiás extraktumból (Rf-GTE) 95-t és a fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus* L.) gemmoterápiás extraktumból (Vm-GTE) 85 fitokémiai összetevőt (15. ábra) sikerült beazonosítani, amelyek a következő bioaktív vegyületkategóriáknak felelnek meg: polifenolok, flavonoidok, iridoidok, alkaloidok, amino-, és karbonsavak, észterek, terpének, vitaminok és egyéb származékok.



14. ábra: Az előállított (a) fekete ribizli -Rn, (b) szeder - Rf és (c) fekete áfonya-Vm gemmoterápiás extraktumok (saját kép)

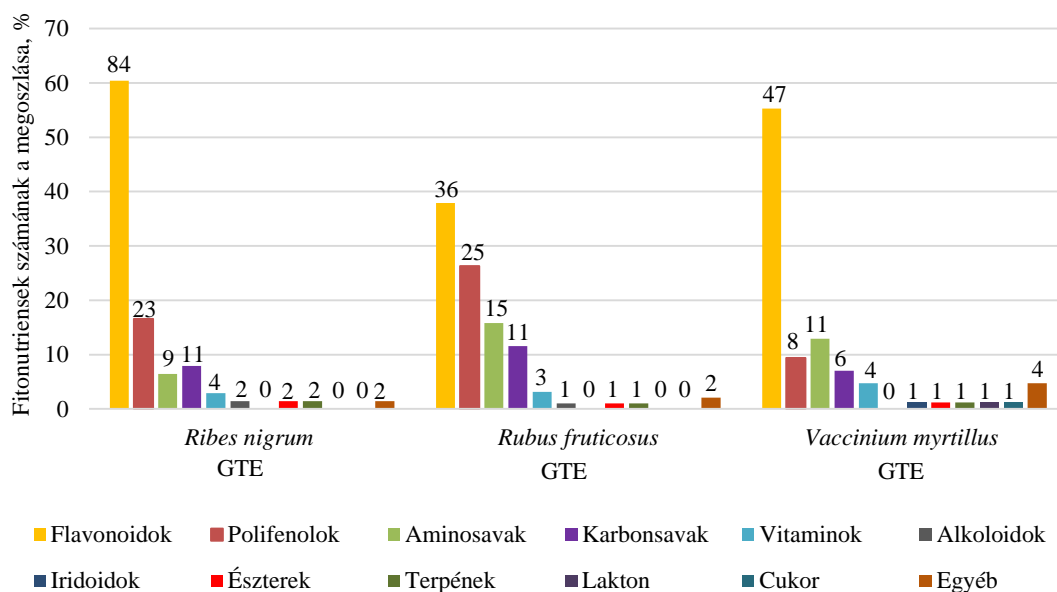
4.1.1. A GTE-ok bioaktív hatóanyag összetételének azonosítása

A GTE-k közül döntően a Rn-GTE bizonyult mennyiségileg a legjobbnak, ennek jelentős hozamát a flavonoidok és a polifenolok adták. Az elemzés során 84 különböző flavonoidot és 23 polifenolt sikerült beazonosítani. Emellett azonosítottam 9 aminosavat, 11 karbonsavat, 4 vitamint, valamint 2-2 képviselőt találtam az alkaloidok, az észterek, a terpének és az egyéb vegyületek csoportjában.

A Rf-GTE esetében ehhez képest jóval kevesebb kémiai összetevőt sikerült beazonosítani; közülük a fő képviselők a flavonoidok (36) és a polifenolok (25) voltak. Az aminosavak (15) és a karbonsavak (11) aránya kevéssel nagyobbak bizonyult az előző kivonathoz képest, ugyanakkor a vitaminokból 3-at, az alkaloidokból, az

észterekből és a terpénekből pedig egy-egy képviselőt találtam, valamint 2 egyéb vegyületet azonosítottam.

A Vm-GTE-ban a fitonutriensek megoszlásában kimagasló volt a flavonoid komponensek száma (47), miközben a polifenolok mennyisége alacsonyabb volt (8), mint a Rf-GTE-ban és Rn-GTE-ban. Az elemzés során 11 aminosavat, 6 karbonsavat és 4 vitamint azonosítottam. Alkaloid vegyületet nem sikerült beazonosítani, ugyanakkor a kivonat egy-egy képviselőt tartalmazott az iridoidok, az észterek, a terpének, a laktonok és a cukrok csoportjából. Továbbá, egyéb vegyületből négyet sikerült azonosítanom.



15. ábra: A GTE-kban lévő fitotápanyagok megoszlása

Az oszlopdiaqramban az egyes oszlopok felett megjelenő számok a vizsgált minták elemszámát jelölik, míg a függőleges tengelyen a különböző komponensek százalékos megoszlását ábrázoltam (15. ábra).

Az 6. és 7. táblázat tartalmazza az UHPLC-ESI-MS elemzés során beazonosított összes fitokémiai komponenst, amelyek megtalálhatók az általam vizsgált GTE-kben. A 6. táblázat részletesen bemutatja a polifenolok és flavonoidok teljes körét: összesen 48 polifenolt és 133 flavonoidot sikerült azonosítani.

A Rn-GTE rügykivonatban először sikerült azonosítanom olyan, a szakirodalomban különösen bioaktívnak tartott flavonoidokat és polifenolokat, mint az ampelopsin (dihidromiricetin), a dihidroxi-dimetoxi-izoflaván, a myricetin-O-xilozid, a naringenin-6,8-di-C-glükozid, vagy a pentahidroxiflavon. Emellett számos további új vegyületet is (az összes komponens 73%-a) sikerült kimutatni, amelyek a *Ribes* fajban

eddig ismeretlenek voltak, így a dolgozat eredményei jelentősen bővítik a fekete ribiszke bioaktív összetevőiről szóló tudást.

Elsőként sikerült azonosítani a *Rubus fruticosus* rügyben többek között pinocembrint (5,7-dihidroxiflavanon), pentahidroxiflavont, ducheside A-t, kaempferol-3-O-rutinozidot (nikotiflorin) és naringenin-6,8-di-C-glükozidot is, amelyek a szakirodalom szerint kiemelkedő biológiai hatással bírnak. Emellett a Rf-GTE rügykivonat számos új komponenst tartalmaz (az összetevők mintegy 60%-a), melyeket a jelenlegi adatok szerint eddig nem azonosítottak *Rubus* fajokban. A polifenolok közül 18, a flavonoidok közül 22 komponenst sikerült beazonosítani, a további csoportokból pedig összesen 17 új vegyületet mutattam ki.

A Vm-GTE kivonataiban található vegyületek jelentős részéről (40%) korábban nem álltak rendelkezésre szakirodalmi adatok, és a források szerint három fitokemikáliát (cinnamtannin B1, cinnamtannin D1 és kvercetin-3-O-galaktozid) főként más fajokból, de nem *Vaccinium myrtillus*-ból izoláltak korábban (LAAKSONEN és mtsai., 2012). A fekete áfonya rügyhatjtásból 17 darab flavonoidot, 6 darab polifenolt és 11 különböző vegyület sikerült beazonosítani, amelyek eddig ismeretlenek voltak a *Vaccinium* fajban.

6. táblázat: A vizsgált GTE-ban azonosított polifenolok és flavonoidok

Polifenolok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
1,6-Di-O-koffeoil-glükóz		+	
2,3-hexahidroxi-difén-glükóz		+	
3,3'-Di-O-metil-ellagsav		+	
3-O-(4-kumaroil)-kinasav		+	
3-O-(4-kumaroil)-kininsav-cisz-izomer		+	
3-O-feruloil-kinasav		+	
3-O-metil-ellagsav		+	
4-O-(4-kumaroil)-kinasav		+	
4-O-(4-kumaroil)-kininsav-cisz-izomer		+	
4-O-Feruloil-kinsav		+	
5-O-p-Kumaroil-nigrumin	+		
Caffeoil-glükóz izomer 1	+		
Caffeoil-glükóz izomer 2	+		
Caffeoil-glükóz izomer 3	+		
Casuarictin (1-O-Galloylpedunculagin, Sanguiin H11)		+	
Coumaroyl-shikimát			+
Di-O-koffeoil-kinsav izomer 1		+	
Di-O-koffeoil-kinsav izomer 2		+	
Ducheside A (3-O-metilellagsav-4'-O-xilozid)		+	
Ellagsav		+	
Ellagsav-4-O-glükozid		+	
Ellagsav-4-O-xilozid		+	
Ellagsav-glükuronid		+	
Feruloil-kinasav			+
Feruloil-kinsav izomer 1	+		
Feruloil-kinsav izomer 2	+		

Feruloil-kinsav izomer 3	+		
Galloil-glükóz izomer 1	+		
Galloil-glükóz izomer 2	+		
Galluszsav (3,4,5-trihidroxi-benzoészav)	+	+	+
Glükogallin (1- <i>O</i> -galloil-glükóz)		+	
Isostrictinin (Sanguin H5)		+	
Klorogénsav (3- <i>O</i> -koffeoil-kinasav)	+	+	+
Koffeoil-szikiminsav			+
Kriptoklorogénsav (4- <i>O</i> -koffeoil-kinasav)	+	+	
Kumaroil-glükóz izomer 1	+		
Kumaroil-glükóz izomer 2	+		
Kumaroil-glükóz izomer 3	+		
Kumaroil-kinsav			+
Kumaroil-kinsav izomer 1	+		+
Kumaroil-kinsav izomer 2	+		+
Kumaroil-kinsav izomer 3	+		
Neoklorogénsav (5- <i>O</i> -koffeoilkinasav)	+	+	
Pentahidroxiflavon		+	
Phloretin	+		
Phlorizin (Phloridzin)	+		
Tetrahidroximetoxi-kalkon	+		
Tuberonsav-glükozid	+		
Flavonoidok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
6"- <i>O</i> -(Caffeoil) astragalin		+	
Acacetin	+		
Acetil-lasztragalin		+	
Ampelopsin (ampeloptin, dihidromiricetin)	+		+
Apigenin	+	+	
Apigenin-7- <i>O</i> -glükuronid		+	
Apigenin- <i>O</i> -acetyl-glükozid		+	
Astragalin (Kaempferol-3- <i>O</i> -glükozid)	+	+	
Avikularin (kvercetin-3- <i>O</i> -arabinofuranozid, fenikularin)			+
Cianidin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Cianidin-3- <i>O</i> -glükozid			+
Cianidin-3- <i>O</i> -szambubiozid			+
Cianidin- <i>O</i> -(kumaroil)-hexozid			+
Cinnamtannin B1			+
Cinnamtannin D1			+
Delphinidin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Delphinidin-3- <i>O</i> -galaktozid (Empetrin)			+
Delphinidin- <i>O</i> -(pentozil)-hexozid			+
Dihidrokaempferol (Aromadendrin, Katuranin)	+		
Dihidroxi-dimetoxiflavon izomer 1	+		
Dihidroxi-dimetoxiflavon izomer 2	+		
Dihidroxi-dimetoxi-izoflaván	+		
Dihidroxi-metoxiflavanon- <i>O</i> -hexozid izomer 1	+		
Dihidroxi-metoxiflavanon- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		
Dihidroxi-trimetoxiflavon izomer 1	+		
Dihidroxi-trimetoxiflavon izomer 2	+		
Epigallokatechin	+		+
Epikatechin	+	+	+
Eriodictyol	+		
Gallokatechin			+
Genkwanin (Apigenin-7- <i>O</i> -metil-éter)	+		
Guajaverin (kvercetin-3- <i>O</i> -arabinozid)		+	
Hidroxi-dimetoxiflavon	+		

Hidroxi-tetrametoxi-flavon (Retusin)	+		
Hidroxi-trimetoxiflavon (szalvigenin)	+		
Hiperozid (kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid, Hyperin)	+	+	+
Idaein (idein, cianidin-3- <i>O</i> -galaktozid)			+
Isorhamnetin	+	+	
Izoramnetin- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		
Izokvercitrin (hirsutrin, kvercetin-3- <i>O</i> -glükózid)	+	+	+
Izorhamnetin-3- <i>O</i> -glükózid	+		
Izorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinozid (nárciszsin)	+		
Izorhamnetin- <i>O</i> -acetyl-glükózid		+	
Izorhamnetin- <i>O</i> -glükuronid			+
Izorhamnetin- <i>O</i> -hexozid izomer 1	+		
Izorhamnetin- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		
Izorhamnetin- <i>O</i> -hexozid- <i>O</i> -pentozid	+		
Kaempferol	+	+	+
Kaempferol-3- <i>O</i> -[ramnozil-(1→2)-glükuronid]		+	
Kaempferol-3- <i>O</i> -glükuronid		+	+
Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinozid (Nikotiflorin)	+	+	
Kaempferol- <i>O</i> -feruloil-glükózid		+	
Kaempferol- <i>O</i> -glükózid- <i>O</i> -glükuronid		+	
Kaempferol- <i>O</i> -hexozid	+		
Kaempferol- <i>O</i> -hexozid- <i>O</i> -pentozid- <i>O</i> -deoxi-hexozid	+		
Kaempferol- <i>O</i> -hr-di- <i>O</i> -deoxihexozid	+		
Kaempferol- <i>O</i> -kumaroil-glükózid izomer 1		+	
Kaempferol- <i>O</i> -kumaroil-glükózid izomer 2		+	
Kaempferol- <i>O</i> -malonil-glükózid		+	
Kaempferol- <i>O</i> -pentozid	+	+	
Katekin	+	+	+
Krizin	+	+	+
Krizoeriol	+	+	
Krizoeriol-7- <i>O</i> -glükuronid		+	
Kvercetin	+		+
Kvercetin-3- <i>O</i> -[3-hidroxi-3-metil-glutaroil-(→4)-ramnozid]			+
Kvercetin-3- <i>O</i> -[ramnozil-(1→2)-glükuronid]		+	
Kvercetin-3- <i>O</i> -glükuronid		+	+
Kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid-7- <i>O</i> -glükózid	+		
Kvercetin-3- <i>O</i> -sambubiozid		+	
Kvercetin-di- <i>O</i> -hexozid	+		
Kvercetin- <i>O</i> -(acetyl)-hexozid	+		
Kvercetin- <i>O</i> -(kumaroil)-hexozid	+		+
Kvercetin- <i>O</i> -acetyl-glükózid		+	
Kvercetin- <i>O</i> -hexozid-di- <i>O</i> -deoxi-hexozid	+		
Kvercetin- <i>O</i> -hexozid- <i>O</i> -pentozid- <i>O</i> -deoxi-hexozid	+		
Kvercetin- <i>O</i> -pentozid izomer 1	+		
Kvercetin- <i>O</i> -pentozid izomer 2	+		
Kvercetin- <i>O</i> -pentozid- <i>O</i> -hexozid	+		
Laricitrin (miricetin-3'- <i>O</i> -metil-éter)			+
Laricitrin- <i>O</i> -hexozid			+
Luteolin	+	+	
Malvidin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Malvidin- <i>O</i> -(kumaroil)-hexozid			+
Malvidin- <i>O</i> -hexozid			+
Myricetin	+		+
Myricetin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Myricetin-3'- <i>O</i> -glükózid (kannabiszcitrin)	+		
Myricetin-3- <i>O</i> -rutinozid	+		
Myricetin- <i>O</i> -(malonil)-glükózid	+		

Myricetin- <i>O</i> -arabinozid	+		
Myricetin- <i>O</i> -hexozid			+
Myricetin- <i>O</i> -pentozid izomer			+
Myricetin- <i>O</i> -xilozid	+		
Naringenin	+	+	+
Naringenin kalkon			+
Naringenin-6,8-di- <i>C</i> -glükózid	+	+	
Pelargonidin- <i>O</i> -hexozid			+
Pentahidroxiflavanon	+		
Pentahidroxiflavanon izomer 1	+		
Pentahidroxiflavanon izomer 2	+		
Pentahidroxiflavin (Hipolaetin, kvercetin, tricetin)	+		+
Pentahidroxi-metoxiflavin- <i>O</i> -hexozid izomer 1	+		
Pentahidroxi-metoxiflavin- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		
Pentahidroxi-metoxiflavin- <i>O</i> -rutinozid	+		
Peonidin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Peonidin- <i>O</i> -(kumaroil)-hexozid			+
Peonidin- <i>O</i> -hexozid			+
Petunidin-3- <i>O</i> -arabinozid			+
Petunidin-3- <i>O</i> -galaktozid			+
Pinocembrin (5,7-dihidroxiflavanon)		+	
Procyanidin B1 vagy B3			+
Procyanidin B4		+	
Prodelfinidin B	+		
Prodelfinidin C izomer 1	+		
Prodelfinidin C izomer 2	+		
Prodelfinidin C izomer 3	+		
Prunin (naringenin 7- <i>O</i> -glükózid)	+		+
Rutin	+	+	+
Sakuranetin (4',5-dihidroxi-7-metoxiflavanon)	+		
Taxifolin (Dihydroquercetin)	+		
Tetrahidroxi-dimetoxiflavin izomer 1	+		
Tetrahidroxi-dimetoxiflavin izomer 2	+		
Tetrahidroxi-dimetoxiflavin- <i>O</i> -hexozid izomer 1	+		
Tetrahidroxi-dimetoxiflavin- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		
Tetrahidroxiflavanon- <i>O</i> -hexozid	+		
Tetrahidroxi-flavin- <i>O</i> -(pentozil)-hexozid	+		
Tetrahydroxychalcone (Butein)	+		
Tetrahidroxi-dimetoxi-flavin- <i>O</i> -hexozid- <i>O</i> -dezoxi-hexozid	+		
Trihidroxi-dimetoxiflavin	+		
Trihidroxi-trimetoxi-flavin- <i>O</i> -hexozid	+		
Trihidroxi-metoxiflavin	+		
Trihidroxi-trimetoxi-flavin- <i>O</i> -hexozid izomer 1	+		
Trihidroxi-trimetoxi-flavin- <i>O</i> -hexozid izomer 2	+		

Megjegyzés: (+) azonosított vegyületek.

A GTE-k közül az alkaloidokból és terpénekből 2-2-t, az aminosavakból 18-at, észterekből 4-et, iridoidokból 1-et, karbonsavakból 20-et, vitaminokból 6-ot, laktonból és cukorból 1-1-et és egyéb metabolitokból 8 komponenst sikerült beazonosítani, amelyet 6. táblázat foglal össze.

Vizsgálatom eredményei megerősítik, hogy a bioaktív vegyülettartalom a fajtától, a tengerszint feletti magasságtól, az élőhely típusától és a termőhelyi viszonyoktól is jelentősen függ (SKROVANKOVA és mtsai., 2015; LASLO és KÖBÖLKUTI, 2017).

7. táblázat: A vizsgált GTE-ok kémiai összetétele

Alkaloidok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Kinurénsav	+		
Trigonellin	+	+	
Aminosavak	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
2-Aminoadipinsav			+
4-Guanidinovajsav	+	+	
4-Hidroxi-izoleucin	+	+	
Arginin		+	+
Aszparagin	+	+	+
Aszparaginsav		+	
Fenilalanin	+	+	+
Glutamin		+	
Glutaminsav	+	+	+
Hisztidin			+
Izoleucin vagy leucin	+	+	+
Lizin			+
Prolin	+	+	
Tirozin		+	+
Treonin	+	+	+
Triptofán	+	+	+
Valin		+	
γ-Amino-vajsav		+	
Terpének	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Abszcizinsav	+	+	+
Geranilgeraniol	+		
Észterek	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Etil-gallát	+		
Metil-gallát			+
Szinapoil-metoxi-fenol	+		
Sztearidonsav-etil-észter		+	
Iridoid	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
7-dezoxilogánsav			+
Karbonsavak	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
12-Hidroxidodekánsav		+	
12-Hidroxi-jázmonsav-12-O-glükózid		+	
4-Kumarsav			+
cisz-akonitsav	+		
Dihidroxi-metoxi-benzoésav izomer 1	+		+
Dihidroxi-metoxi-benzoésav izomer 2	+		
Dimetoxi-hidroxifahéjsav (szinapinsav)			+
Ferulinsav	+	+	+
Ginkgolsav		+	
Hidroxi-hexadekánsav (hidroxi-palmitinsav)	+		
Jázmonsav	+		

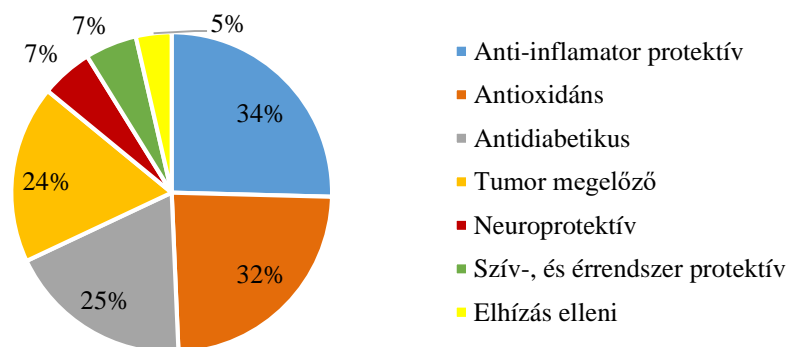
Kávésav	+	+	+
Linolsav		+	
Olajsav		+	
Shikiminsav		+	
Szalicilsav	+	+	+
Sztearidonsav		+	
transz-akonitsav	+		
Tuberonsav	+		
α -linolénsav	+	+	
Vitaminok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Folsav (B4)	+	+	+
Nikotinamid		+	+
Nikotinsav (Niacin, B3)	+		+
Pantoténsav (B5)		+	+
Piridoxin (B6)	+		
Riboflavin (B2)	+		
Lakton	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Gulonsav γ -lakton vagy δ -glükonsav δ -lakton			+
Cukor	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Cukorsav			+
Egyéb metabolitok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
4-Metoxifahéjaldehid			+
5-Hidroxi-metil-2-furaldehid			+
5-Metil-2-furaldehid			+
Antiarol (3,4,5-trimetoxifenil)		+	
Antiarol izomer		+	
Hidroxibenzaldehid	+		
Indol-4-karbaldehid	+		
Vanillin			+

Megjegyzés: (+) azonosított vegyületek.

4.1.2. Azonosított fitonutriensek élettani hatásainak szakirodalmi áttekintése

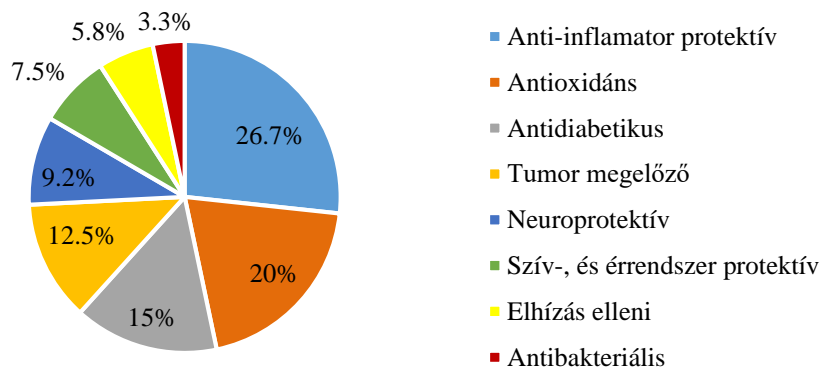
Számos tanulmány foglalkozik a fitonutriensek pozitív hatásaival, melyek több mint 800 féle növényi élelmiszer fogyasztásából származhatnak, de jelenleg az emberiség táplálkozás során körülbelül 200 növényfélélet használ. A szakirodalomban számos kutatás számol be a különböző fajtájú növénytermékek beltartalmi összetevőiről és azok jótékony hatásairól, de viszonylag kevés információ van a növényi rügyek/friss hajtások fitonutriens összetevőiről, valamint azok élettani hatásainak vizsgálatairól. Az előbbi paragrafusban ismertetett kvalitatív elemzés során beazonosított fitonutrienseket és az általuk kiváltott élettani hatásokat az alábbiakban fogom ismertetni. A kördiagramok szeletei egy bizonyos élettani hatással bíró fitonutrienseket jelölnek, és ezen részesedések alapján lehet következtetni az adott GTE feltételezett élettani hatásaira.

A szakirodalom tanulmányozását követően megállapítható, hogy az Rn-GTE fitonutriens profiljában az anti-inflammatorikus komponensek aránya mintegy 34%, az antioxidáns hatással összefüggő vegyületeké pedig kb. 32%, míg az antidiabetikus hatású összetevőké 25% (16. ábra). A tumorprevenációs hatással rendelkező komponensek aránya 24%, a neuroprotektív és szív-érrendszeri védő vegyületek egyaránt 7%-ot tettek ki, míg az elhízás elleni hatású fitonutriensek aránya volt a legalacsonyabb (5%). Ez az összetétel arra utal, hogy a kivonat legfontosabb élettani potenciáljai a gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus hatások, ugyanakkor az egyéb csoportok jelenléte (daganatmegelőző, neuroprotektív, kardioprotektív és elhízás elleni hatás) szintén hozzájárulhat a kivonat komplex biológiai aktivitásához.



16. ábra: A Rn-GTE összetevők élettani hatásainak megoszlásai

A szeder specifikus Rf-GTE fitonutriens profilja (17. ábra) az egyes élettani hatásokhoz köthető komponensek arányában a következőképpen alakult. A legnagyobb hányadot az anti-inflammatorikus hatóanyagok tették ki (26,7%), ezt követték az antioxidáns vegyületek (20%) és az antidiabetikus komponensek (15%).

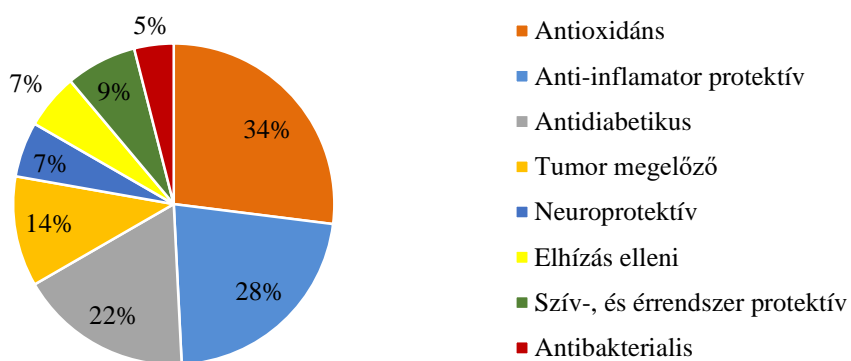


17. ábra: Az Rf-GTE összetevők élettani hatásainak megoszlásai

A tumorprevenációs hatású fitonutriensek aránya 12,5%, míg a neuroprotektív hatású vegyületeké 9,2% volt. Az elhízás elleni hatással rendelkező komponensek aránya 5,8%,

a szív- és érrendszeri védő vegyületeké 7,5%, míg a legalacsonyabb arányban az antibakteriális hatású komponensek voltak jelen (3,3%).

A Vm-GTE fitonutriens profilja (18. ábra) alapján a legnagyobb arányban az antioxidáns hatású komponensek voltak jelen (34%), amelyeket az anti-inflammatorikus hatású vegyületek követtek (28%). Az antidiabetikus tulajdonságokkal rendelkező összetevők aránya 22%, míg a tumorelles komponensek 14%-ot tettek ki. A szív- és érrendszervédő fitonutriensek 9%-ban, a neuroprotektív és elhízás elleni hatású vegyületek egyaránt 7%-ban voltak jelen. A legalacsonyabb arányban az antimikrobiális hatású komponensek fordultak elő (5%).



18. ábra: A Vm-GTE összetevők élettani hatásainak megoszlásai

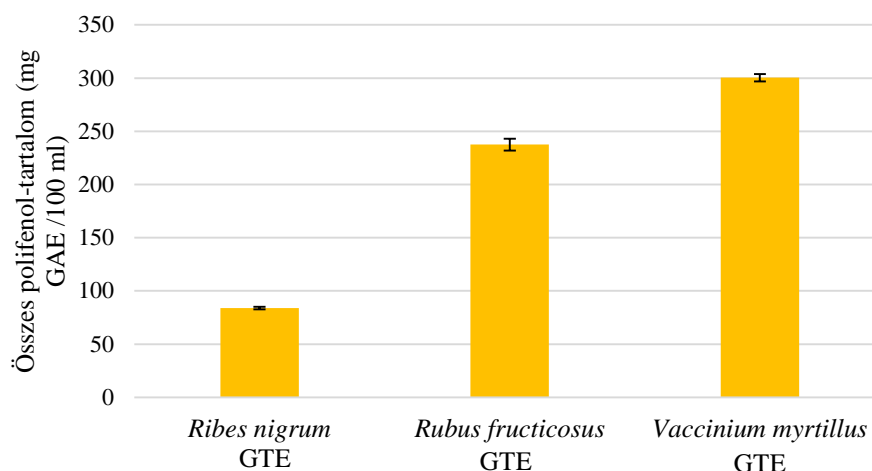
Az egyes fitonutriensek ismert élettani és mechanisztikus hatásait a dolgozat Következtetések fejezetében részletesen ismertetem.

4.1.3. A vizsgált GTE-k összes polifenol- és flavonoid tartalmának meghatározása

A GTE-k fitonutriens-összetételüket tekintve számos polifenolt tartalmaznak, amelyeket általában flavonoid és nem-flavonoid kategóriákra bontunk. Egészségvédő hatásaik miatt egyre nagyobb jelentőséggel bírnak a táplálkozás élettani szempontjából (SHAKOOR és mtsai., 2021). A polifenolok erős antioxidánsok, amelyek preventív és terápiás hatásukat bizonyították olyan kórképekkel kapcsolatban, mint a szív- és érrendszeri betegségek, anyagcsere-rendellenességek, gyulladások és rák.

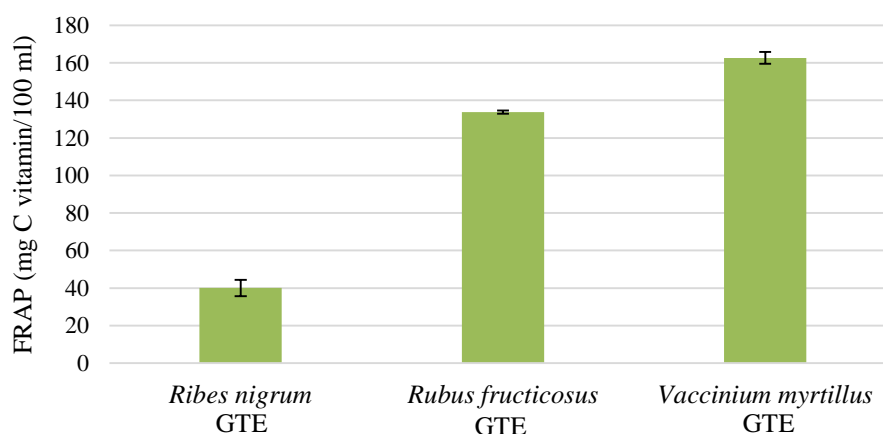
A vizsgálataim során meghatároztam a GTE-k összpolicenol-tartalmát TPC módszerrel, és az eredményeket galluszsav (GAE) egyenértékben fejeztem ki (19. ábra). A három GTE közül a Vm-GTE esetében mértem a legnagyobb összpolicenol-tartalmat, amely $300,35 \pm 3,5$ mg GAE/100 ml volt. Továbbá, a Rf-GTE antioxidáns tartalma kisebb potenciállal ($237,56 \pm 5,57$ mg GAE/100 ml) rendelkezik, mint a Vm-GTE. A

legalacsonyabb összpolicfenol-tartalmat pedig a Rn-GTE esetében mértem, amelynek értéke $83,8 \pm 1,2$ mg GAE/100 ml volt.



19. ábra: A GTE-k összes polifenol-tartalmának átlag értékelése (TPC)

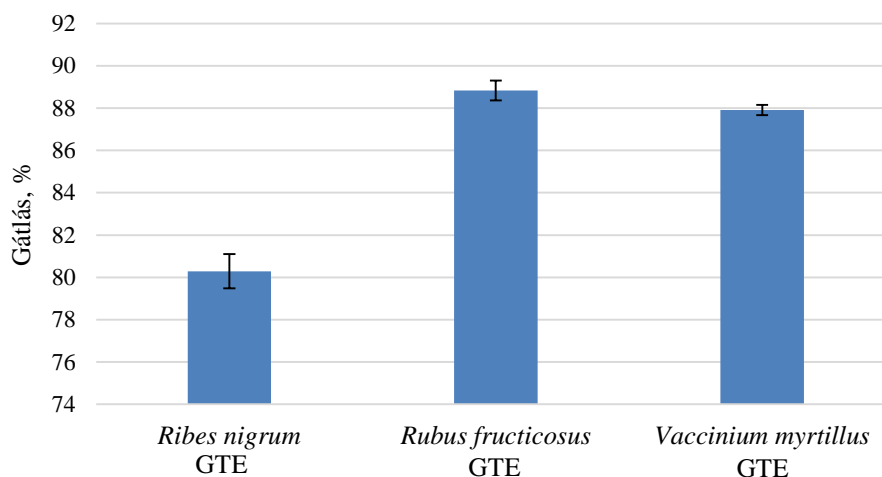
A FRAP és a DPPH gátlási módszereket alkalmaztam az antioxidáns képesség felmérésére. A FRAP módszerrel meghatároztam a vas redukálóképességén alapuló antioxidáns kapacitást a vizsgált GTE-k esetében (20. ábra). A Rn-GTE rendkívül alacsony antioxidáns potenciált mutatott a Rf- és Vm-GTE-khez képest. Az előbbi két kivonat közül a Vm-GTE antioxidáns kapacitása volt a legkiemelkedőbb, $162,61 \pm 3,13$ mg ASA/100 ml, míg a Rf-GTE értéke alacsonyabbnak bizonyult, $133,73 \pm 0,92$ mg ASA/100 ml. Az elemzés során kiderült, hogy a GTE-k jelentős mennyiségben tartalmaznak flavonoidokat, amelyek szintén erős antioxidáns hatással rendelkeznek.



20. ábra: A GTE-k jellegzetes antioxidáns kapacitásának értékelése (FRAP)

A GTE-k antioxidáns aktivitását a DPPH szabadgyökfogó próba alapján határoztam meg. A kapott antioxidáns aktivitási értékek az elemzett GTE-k összes polifenol- és flavonoidtartalmával közel azonos tartományban helyezkedtek el, és csekély

különbségek voltak közöttük (21. ábra). Ez azt jelenti, hogy a legmagasabb aktivitással rendelkező kivonat a Rf-GTE volt, majd ezt követte a Vm-GTE. A legalacsonyabb antioxidáns tartalommal, pedig a Rn-GTE rendelkezik. Az eredmények tükrében mind a TPC, mind a FRAP és a DPPH antioxidáns képesség felmérésére során a Rf-, és Vm-GTE értékek voltak a legkiemelkedőbbek.



21. ábra: A GTE-k jellegzetes gyökfogó kapacitásának értékelése (DPPH)

4.1.4. Szelektált polifenolok kvantitatív elemzése a tanulmányozott GTE-k kapcsán

Ezt a mennyiségi elemzést a Shimadzu Nexera I LC-MS-8045 rendszerrel végeztem (lásd Anyag és Módszer fejezet). Az analitikai vizsgálatok során számos polifenol jelenléte (6. táblázat és 7. táblázat) volt megfigyelhető, úgy a fenolsavosztályból, mint a flavonoidokból. Ezért olyan antioxidáns és gyulladáscsökkentő vegyületeket választottam vizsgálatom céljából (3. táblázat), amelyeket relatíve jól lehet kvantitatívan értékelni. Általában a fő azonosított vegyületek a kávésav, illetve a klorogénsav, valamint a kvercetin és származékai: a hiperozid és a rutin. Természetesen minden GTE-nak saját jellemzői vannak, amelyek meghatározzák specifikus összetételüket.

A GTE-k mennyiségi meghatározása (8. táblázat) során a polifenolok közül öt nem flavonoid (kávé-, klorogén-, ferulin-, gallusz-, és a szalicilsav), tíz pedig flavonoid (apigenin, katechin, krizin, hiperozid, kaempferol, luteolin, luteolin-7-O-glükózid, naringenin, kvercetin és rutin) kategóriába sorolható.

Az általam vizsgált három GTE-k közül a legjelentősebb összetevő, mely a beazonosított fenolsav komponensek közül a legnagyobb koncentrációban volt jelen, a klorogénsav ($7,552 \pm 0,0217$ mg/ml), amely a Vm-GTE-ban volt jelen. Úgy a Vm-GTE, mint a Rn-GTE-ban nagy mennyiségű kávésavat ($1,693 \pm 0,0101$ mg/ml) sikerült

azonosítani. A flavonoidok közül kiemelten magas volt a kvercetin ($0,989 \pm 0,0118$ mg/ml) és a hiperozid komponens mennyisége a Vm-GTE-ban. Alacsonyabb mennyiségben jelen volt a rutin, de az apigenin, luteolin és luteolin-7-*O*-glükózid és a nem flavonoidok közül a gallusz-, és ferulinsav nem volt kimutatható a kivonatban.

8. táblázat: A GTE-k szelektált polifenol tartalma

Tanulmányozott komponensek	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Fenolvasak			
Kávésav	$1,693 \pm 0,0101$	-	$1,693 \pm 0,0188$
Klorogénsav	$0,227 \pm 0,0057$	$0,157 \pm 0,0057$	$7,552 \pm 0,0217$
Ferulinsav	$0,109 \pm 0,0086$	-	-
Galluszsav	$0,049 \pm 0,0008$	$0,049 \pm 0,0010$	-
Szalicilsav	$0,071 \pm 0,0017$	$0,895 \pm 0,0202$	$0,066 \pm 0,0009$
Flavonoidok			
Apigenin	$0,043 \pm 0,0011$	$0,330 \pm 0,0108$	-
Katechin	$0,028 \pm 0,0009$	-	$0,044 \pm 0,0018$
Krizin	$0,114 \pm 0,0027$	$0,101 \pm 0,0022$	$0,117 \pm 0,0085$
Hiperozid	$0,547 \pm 0,0187$	$0,172 \pm 0,0089$	$0,392 \pm 0,0102$
Kaempferol	-	-	$0,033 \pm 0,0009$
Luteolin	-	$0,013 \pm 0,0008$	-
Luteolin-7- <i>O</i> -glükózid	$0,074 \pm 0,0021$	$0,078 \pm 0,0012$	-
Naringenin	-	$0,043 \pm 0,0009$	$0,036 \pm 0,0005$
Kvercetin	$0,210 \pm 0,0100$	-	$0,989 \pm 0,0118$
Rutin	$1,662 \pm 0,0198$	$0,278 \pm 0,0047$	$0,105 \pm 0,0028$

Megjegyzés: a koncentrációkat mg/ml-ben fejeztem ki, átlag \pm SD.

A Rf-GTE-ban jelentősebb mennyiségben szalicilsav ($0,895 \pm 0,0202$ mg/ml), apigenin ($0,330 \pm 0,0108$ mg/ml) és rutin ($0,278 \pm 0,0047$ mg/ml) volt jelen. Ugyanakkor kisebb mértékben voltak jelen a flavonoidok közül a hiperozid, valamint a nem flavonoidok közül a klorogénsav. A Rf-GTE-ban nem volt kimutatható kávé-, ferulinsav, katechin, kaempferol és kvercetin vegyület.

A Rn-GTE-ben a flavonoidok közül a rutin ($1,662 \pm 0,0198$ mg/ml) volt a legkiemelkedőbb összetevő, amelyet a hiperozid ($0,547 \pm 0,0187$ mg/ml) követett. A nem flavonoidok közül a kávésav ($1,693 \pm 0,0101$ mg/ml) mellett jelen volt a klorogénsav, valamint egyedüli azonosított vegyületként a ferulinsav is, bár alacsonyabb mennyiségben. A Rn-GTE-ben a kaempferol, luteolin és naringenin nem volt kimutatható a meghatározás során.

Összegzésként elmondható, hogy a rügykivonatok mennyiségi összetétele jelentősen eltér egymástól, de ezen adatok alapján feltételezhető, hogy specifikus élettani hatásokat fejthetnek ki, mint például az antioxidáns, anti-inflammatorikus és antidiabetikus effektusok. Megfigyeltem, hogy az UHPLC-vizsgálat során alkalmazott standard koncentrációtartományok intervalluma nem fedte le a kvalitatív elemzés során beazonosított komponensek mindegyikét. Feltehető, hogy egyes fitonutriensek csupán

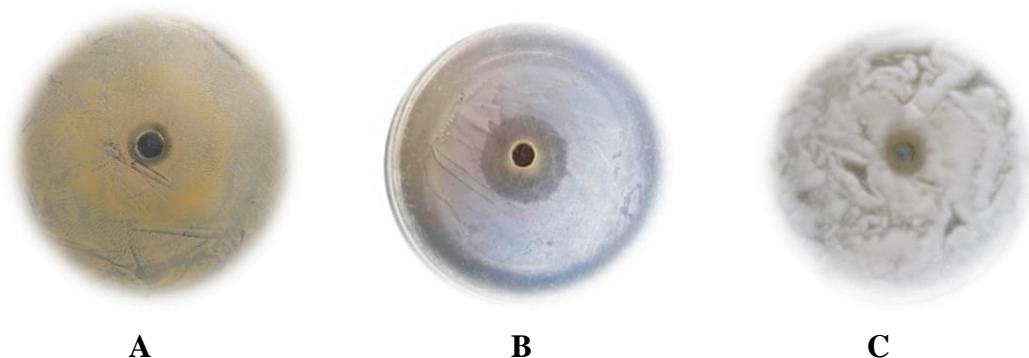
µg-nyi mennyiségben lehetnek jelen az egyes GTE-kban, ami egy olyan jelenség, amelyet GEORGESCU és mtsai. (2022) is alátámasztottak tanulmányukban.

Az itt bemutatott eredmények a 1. célkitűzés teljesítését szolgálják, amely a rügyextraktumok fitokémiai profiljának és antioxidáns tulajdonságainak meghatározására irányult.

4.2. A rügykivonatok antimikrobiális hatásának eredményei

4.2.1. Az agardiffúziós módszer alkalmazása során kapott eredmények

A rügykivonatok hatására kialakult gátlási zónák mérete változó volt a vizsgált mikroorganizmusok esetében. Az antimikrobiális hatás leginkább a sejthártya áteresztőképességének módosulásában, a külső mikrobiális enzimek aktivitásának gátlásában, valamint az anyagcserére gyakorolt következményben figyelhető meg (GÓRNIÁK és mtsai., 2019). A Gram-pozitív baktériumok közül a *L. monocytogenes* mutatott nagyobb mértékű érzékenységet a Rf-GTE szemben (22. ábra), majd ezt követte a Rn-GTE, viszont a Vm-GTE esetében nem volt megfigyelhető gátló hatás (9. táblázat). A szeder rügykivonat hatékonyságára utal, hogy 20%-os koncentrációban is gátló hatása volt a *L. monocytogenes* baktériumra. A *S. aureus* esetében az Rf-GTE hatására alakultak ki gátlási zónák, 100-40%-os koncentráció tartományban. Megfigyelhető a dózis-függő hormézis jelensége is a *S. aureus* baktériummal szemben, ahol az 50-70%-os koncentráció gátló hatása jóval nagyobb, mint a 80-100% közöttiek esetekben. A *B. cereus* és az *E. faecalis* baktériumokat csak a Vm-GTE gátolta, a töményebb kivonatok hatására alakultak ki mérhető gátlási zónák.



22. ábra: A szeder rügykivonat gátló hatása agardiffúziós módszerrel

A: *S. aureus* – 50% Rf-GTE; B: *L. monocytogenes* – 100% Rf-GTE és C: *P. citrinum* –100% Rf-GTE.

A vizsgált Gram-negatív baktériumok közül csak a *P. vulgaris* esetében volt kimutatható gátlás a Vm-GTE és a Rf-GTE hatására. (9. táblázat). A Vm-GTE 30%-os

koncentrációban is gátolja a növekedést, ezzel szemben, a Rf-GTE hatására csak 80%-os koncentrációban alakult ki gátlási zóna.

A *Saccharomyces cerevisiae* esetében mindhárom GTE antimikrobiális hatást mutatott 100-70%-os koncentráció tartományban. A mikroszkopikus penészgombák vizsgálata során az *Aspergillus niger* ellenálló volt a vizsgált rügykivonatokkal szemben. A szeder rügykivonat hatására alakultak ki gátlási zónák az *A. flavus*, az *A. ochraceus*, a *P. expansum* és a *P. citrinum* esetében. A fekete áfonya rügykivonat a *P. citrinum* penészgombát gátolta 100-70% koncentrációban. A fekete ribizli rügykivonat nem fejtett ki gátlást a vizsgált penészgombákra.

9. táblázat: A vizsgált GTE-k antimikrobiális aktivitásai (n = 3)

Tanulmányozott mikroorganizmusok	Konc. (%)	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Gram-pozitív baktériumok				
<i>B. cereus</i>	100	na	na	10,45 ± 0,55 ^{c,d}
	90	na	na	10,70 ± 0,85 ^{c,d,e,f}
	80	na	na	10,56 ± 0,65 ^{c,d,e}
	70	na	na	9,91 ± 0,57 ^{a,b,c}
	60	na	na	na
	50	na	na	na
	40	na	na	na
	30	na	na	na
<i>S. aureus</i>	100	na	12,2 ± 0,51 ^{c,d}	na
	90	na	10,47 ± 0,40 ^a	na
	80	na	10,79 ± 1,06 ^{a,b,c}	na
	70	na	13,95 ± 0,63 ^{e,f}	na
	60	na	13,29 ± 0,65 ^{d,e}	na
	50	na	13,22 ± 0,58 ^{d,e}	na
	40	na	9,81 ± 0,56 ^a	na
	30	na	na	na
<i>E. faecalis</i>	100	na	na	10,91 ± 0,46 ^{d,e,f}
	90	na	na	10,49 ± 0,63 ^{c,d}
	80	na	na	9,97 ± 0,18 ^{a,b,c,d}
	70	na	na	10,00 ± 0,20 ^{a,b,c,d}
	60	na	na	9,84 ± 0,26 ^{a,b,c}
	50	na	na	10,14 ± 0,42 ^{b,c,d}
	40	na	na	na
	30	na	na	na
	20	na	na	na
<i>L. monocytogenes</i>	100	10,81 ± 0,74 ^b	19,20 ± 0,87 ⁱ	na
	90	10,77 ± 0,41 ^b	18,71 ± 0,60 ^{h,i}	na
	80	na	18,59 ± 0,41 ^{h,i}	na
	70	na	17,84 ± 0,71 ^{g,h,i}	na
	60	na	17,37 ± 2,31 ^{g,h}	na
	50	na	17,33 ± 0,46 ^{g,h}	na
	40	na	16,93 ± 0,68 ^g	na
	30	na	15,4 ± 0,73 ^f	na
	20	na	13,4 ± 0,53 ^{d,e}	na
	10	na	na	na
Gram-negatív baktériumok				
<i>P. vulgaris</i>	100	na	12,77 ± 0,64 ^{d,e}	12,76 ± 0,80 ^{h,i}
	90	na	11,18 ± 0,45 ^{a,b,c}	13,55 ± 0,75 ^{i,j}

	80	na	10,99 ± 0,30 ^{a,b,c}	15,04 ± 1,03 ^k
	70	na	na	14,24 ± 0,86 ^{i,k}
	60	na	na	11,91 ± 0,48 ^{g,h}
	50	na	na	10,59 ± 0,38 ^{c,d,e}
	40	na	na	11,64 ± 0,57 ^{f,g}
	30	na	na	10,15 ± 0,45 ^{b,c,d}
	20	na	na	na
<i>P. aeruginosa</i>	100	na	na	na
<i>E. coli</i>	100	na	na	na
<i>S. enterica</i>	100	na	na	na
Élesztőgomba				
<i>S. cerevisiae</i>	100	9,63 ± 0,35 ^a	10,39 ± 0,43 ^a	10,84 ± 0,37 ^{c,d,e,f}
	90	10,61 ± 0,96 ^{a,b}	11,97 ± 0,64 ^{b,c,d}	11,68 ± 0,9 ^{f,g}
	80	10,90 ± 0,20 ^b	10,43 ± 0,42 ^a	11,52 ± 0,56 ^{e,f,g}
	70	9,78 ± 0,38 ^a	10,56 ± 0,55 ^{a,b}	9,90 ± 0,48 ^{a,b,c}
	60	na	na	na
	50	na	na	na
Penészgombák				
<i>A. niger</i>	100	na	na	na
<i>A. flavus</i>	100	na	10,4 ± 0,27 ^a	na
	90	na	10,13 ± 0,25 ^a	na
	80	na	9,76 ± 0,54 ^a	na
	70	na	9,42 ± 0,25 ^a	na
	60	na	na	na
<i>A. ochraceus</i>	100	na	10,47 ± 0,7 ^a	na
	90	na	10,07 ± 0,26 ^a	na
	80	na	9,96 ± 0,22 ^a	na
	70	na	9,56 ± 0,19 ^a	na
	60	na	na	na
<i>P. citrinum</i>	100	na	14,02 ± 0,64 ^a	9,34 ± 0,25 ^a
	90	na	13,22 ± 0,32 ^a	9,09 ± 0,31 ^a
	80	na	12,81 ± 0,36 ^a	8,83 ± 0,35 ^a
	70	na	11,91 ± 0,24 ^a	9,00 ± 0,18 ^a
	60	na	na	na
<i>P. expansum</i>	100	na	9,09 ± 0,07 ^a	na
	90	na	8,87 ± 0,19 ^a	na
	80	na	8,90 ± 0,22 ^a	na
	70	na	8,83 ± 0,14 ^a	na
	60	na	na	na

Megjegyzés: na – nem azonosítható. Az eredményeket az átlag mm ± SD-ben fejeztem ki. Gátlási zónák, beleértve a lyuk átmérőjét, mely 8 mm. Az oszlopon belüli különböző betűkkel (a–n) szereplő értékek statisztikailag eltérőek p < 0,05 értéknél, Tukey teszt alapján.

A vizsgált penészgombákkal szemben a különböző koncentrációk és kivonatok között a Tukey HSD teszt alapján nem volt kimutatható szignifikáns különbség (p > 0,05). Az átlagos gátlási zónák értékei nem tértek el egymástól szignifikáns mértékben.

A vizsgált rügykivonatok különböző antimikrobiális aktivitással rendelkeznek a vizsgált törzsekkel szemben. A szeder rügykivonat három baktériumfaj és öt mikroszkopikus gomba esetében fejtett ki antimikrobiális hatást. A fekete áfonya kivonat három vizsgált baktérium és két mikroszkopikus gombára fejtett ki gátló hatást, míg a fekete ribizli kivonat a *Listeria monocytogenes* és a *Saccharomyces cerevisiae* mikrobák növekedését gátolta (10. táblázat).

10. táblázat: Az agar diffúziós módszerrel vizsgált GTE-k minimális antimikrobiális gátló koncentrációja (%)

Tanulmányozott mikroorganizmusok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Gram-pozitív baktériumok			
<i>B. cereus</i>	na	na	70
<i>S. aureus</i>	na	40	na
<i>E. faecalis</i>	na	na	50
<i>L. monocytogenes</i>	90	20	na
Gram-negatív baktériumok			
<i>P. vulgaris</i>	na	80	30
<i>P. aeruginosa</i>	na	na	na
<i>E. coli</i>	na	na	na
<i>S. enterica</i>	na	na	na
Élesztőgomba			
<i>S. cerevisiae</i>	70	70	70
Penészgombák			
<i>A. niger</i>	na	na	na
<i>A. flavus</i>	na	70	70
<i>A. ochraceus</i>	na	70	na
<i>P. citrinum</i>	na	70	na
<i>P. expansum</i>	na	70	na

Megjegyzés: na – nem azonosítható.

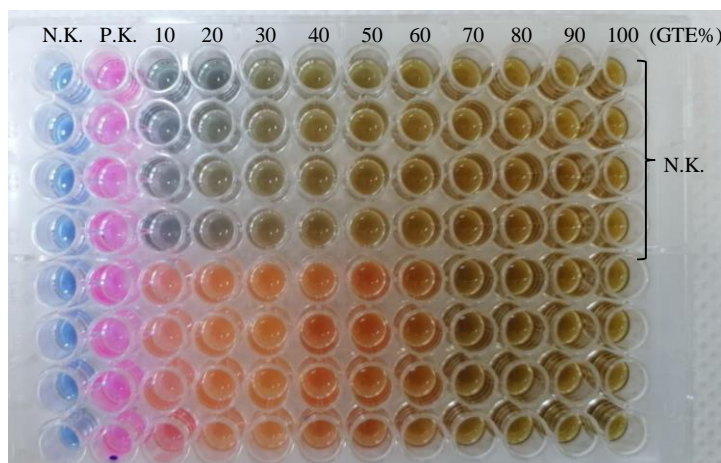
4.2.2. A rügykivonatok bakteriosztatikus hatásának a vizsgálata táplevesben történő tenyésztéses módszerrel

A vizsgált rügykivonatok antimikrobiális hatásának kimutatását táplevesben történő tenyésztéses módszerrel is elvégeztem. A különböző töménységű kivonatok hatására bekövetkező sejtszám csökkenés és a minimális gátló koncentráció kimutatása céljából szélesztéses élősejtszám meghatározást végeztem a mikrotiter lemezben található mintákból. A rügykivonatok esetében kapott MIC értékeket a vizsgált mikroorganizmusokra a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat: A vizsgált rügykivonatok minimális gátló koncentrációi

Tanulmányozott mikroorganizmusok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Gram-pozitív baktériumok			
<i>B. cereus</i>	40	20	20
<i>S. aureus</i>	70	60	30
<i>E. faecalis</i>	-	60	30
<i>L. monocytogenes</i>	70	40	30
Gram-negatív baktériumok			
<i>P. vulgaris</i>	20	10	20
<i>P. aeruginosa</i>	50	40	50
<i>E. coli</i>	70	50	50
<i>S. enterica</i>	100	60	40
Élesztőgomba			
<i>S. cerevisiae</i>	80	60	60

A mikrotiter lemez első sorai a negatív kontroll (N.K.), melyek steril táplevest tartalmaztak, a második sor a pozitív kontroll (P.K.), ahol a lyukakban lévő tápleveshez mikroba szuszpenziót adagoltam (23. ábra).



23. ábra: Mikrotiter lemez különböző koncentrációjú rügykivonatokkal és táplevesben tenyésztett vizsgált mikroorganizmussal (N.K.-negatív kontroll, P.K.-pozitív kontroll)

A következő vízszintes mintaférőhelyek a hígított GTE (10-100%) koncentrációkat is magában foglalta, így az első négy sor függőlegesen lefele, csak táplevest és a sornak megfelelő hígított GTE-tartalmazta, majd függőlegesen lefele a következő négy mintahely a vizsgált mikroba szuszpenziót is tartalmazta. Az inkubálást követően az eredmények kiértékelése céljából resazurin indikátort adagoltam. A mikroorganizmusok metabolikus aktivitásának köszönhetően a resazurin resorufinné alakul, amely színváltozásban is megnyilvánul a mikrobaszaporodás mértékének függvényében (kékről rózsaszínre).

A MIC vizsgálat során kapott eredmények alapján a rügykivonatok többsége gátló hatással rendelkezik az összes tesztelt mikroorganizmusra különböző koncentrációkban. A Vm-GTE esetében már 20%-os kivonat koncentráció is gátló hatást mutatott a *B. cereus* baktériumra, míg a *S. aureus*, az *E. faecalis* és a *L. monocytogenes* esetében a MIC érték elérte a 30%-ot. A Gram-negatív baktériumok közül a *P. vulgaris* volt a legérzékenyebb, mivel 20%-os koncentrációnál megfigyelhető volt a gátlás. A *S. enterica* baktérium érzékenyebbnek bizonyult, ez esetben a MIC értéke a 40%-os koncentrációnak felelt meg.

A legrezisztensebbek a *P. aeruginosa*, az *E. coli* és a *S. cerevisiae* voltak. Csak a Vm-GTE 50% feletti koncentrációnak van gátló hatása az említett két Gram-negatív baktérium szaporodására, addig az élesztő bizonyult a legellenállóbbnak, a növekedés gátláshoz 60%-os koncentrációra volt szükség.

A Rf-GTE szignifikáns szaporodásgátló hatást mutatott a Gram-negatív baktériumok közül a *P. vulgaris* esetében (10%-os kivonat) és a Gram-pozitív baktériumok közül a *B. cereus* esetében (20%-os kivonat). A *L. monocytogenes* esetében 40%-os koncentrációra volt szükség a MIC-hatás eléréséhez. A *S. aureus* és az *E. faecalis* baktériumok ellenállóbbnak bizonyultak, növekedésük visszaszorításához 60%-os kivonatkoncentrációra volt szükség. A többi Gram-negatív baktérium gátlására magasabb koncentrációra volt szükség, amelyek 40–60% között mozogtak. A *S. cerevisiae* élesztőgomba esetében a MIC értéke 60%-os Rf-GTE-koncentrációnak felelt meg.

A Rn-GTE hatására különböző eredményeket kaptunk a vizsgált mikroorganizmusok esetében (11. táblázat), például a *P. vulgaris* baktériumot gátolta a 20%-os kivonat, az *E. faecalis* baktériumra nem fejtett ki antimikrobiális hatást. A *S. aureus* és *L. monocytogenes* Gram-pozitív baktériumok nagyobb mértékű rezisztenciát mutattak a fekete ribizli rügykivonattal szemben, ezzel ellentétben a *B. cereus* baktérium érzékenyebb, a MIC érték 40%. A Gram-negatív baktériumok közül a *S. enterica* esetében 100%-os koncentrációra volt szükség a gátláshoz. A vizsgált élesztőgomba ellenállóbb volt a fekete ribizli rügykivonattal szemben, a minimális gátló koncentráció ez esetben 80%.

Összegezve, a vizsgált GTE-k bakteriosztatikus aktivitással rendelkeznek olyan baktériumokkal szemben, amelyek jelentős humán fertőzéseket válthatnak ki, beleértve a *S. aureus*-t, a *L. monocytogenes*-t, az *E. coli*-t és a *S. enterica*-t, amint azt a kimutatott MIC-értékek is mutatják.

Az agar diffúziós módszerrel és a levesben végzett hígítási vizsgálatok során kapott MIC értékek között eltérést tapasztaltam. Ez várható jelenség, mivel szilárd táptalajon az antimikrobiális anyag diffúziója korlátozottabb, és a baktériumok telepekben növekednek, ami részleges védelmet nyújthat számukra. Ezzel szemben folyadékban a hatóanyag homogénebb eloszlása miatt a sejtek közvetlenebbül érintkeznek az aktív komponensekkel, ami alacsonyabb MIC értékeket eredményezhet. Az eredmények így a módszertani különbségekből adódó eltéréseket is tükrözik.

4.2.3. A rügykivonatok minimális baktericid koncentrációjának vizsgálati eredményei

Az MBC vizsgálat során leginkább hatékony kivonatnak bizonyult a Vm-GTE, amely jelentős hatékonyságot mutatott hat baktériummal szemben (12. táblázat). Úgy a Rf-GTE, mint a Vm-GTE baktericid hatást mutatott ugyanazokkal a Gram-pozitív

baktériumokkal szemben, kivétel a *B. cereus*. A Vm-GTE 30%-os koncentrációjánál sikerült a legalacsonyabb minimális baktériumölő koncentrációt (MBC) elérni az *E. faecalis* baktériumokkal szemben. Ezt követi a *L. monocytogenes* baktériumok 60%-os és a *S. aureus* baktériumok 80%-os koncentrációjának hatása. A Gram-negatív baktériumok közül a Vm-GTE nem váltott ki baktericid hatást a *P. vulgaris* és *E. coli* baktériumokra. Ugyanakkor, a Vm-GTE 70%-os MBC-t mutatott a *P. aeruginosa* és 80%-os MBC-t a *S. enterica* szemben.

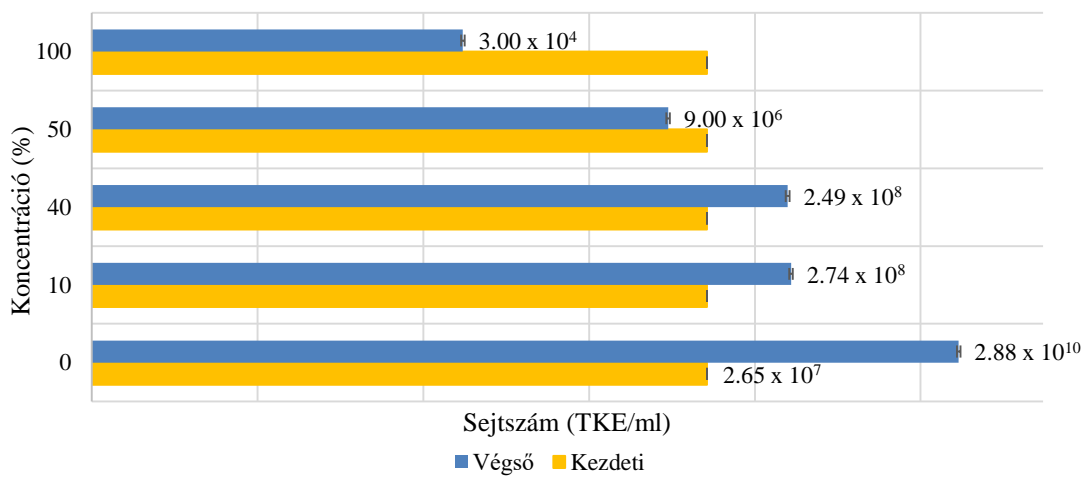
12. táblázat: A minimális baktericid koncentráció értékek (%) a vizsgált rügykivonatok esetében

Tanulmányozott mikroorganizmusok	<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE
Gram-pozitív baktériumok			
<i>B. cereus</i>	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	60	80
<i>E. faecalis</i>	-	70	30
<i>L. monocytogenes</i>	-	60	60
Gram-negatív baktériumok			
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	70
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>S. enterica</i>	-	-	80
Élesztőgomba			
<i>S. cerevisiae</i>	-	100	100

A Rf-GTE kimondottan a Gram-pozitív baktériumokra fejtett ki baktericid hatást. A kapott MBC értékek közül a 60% Rf-GTE-vel szemben a *L. monocytogenes* és a *S. aureus* esetében mutatkoztak a kedvezőbb eredmények. A 70% Rf-GTE jóval gyengébbnek bizonyult az *E. faecalis* ellen a Vm-GTE-hez képest. A Gram-negatív baktériumokkal szemben a Rf-GTE nem rendelkezik gátlással. Az Rf-GTE és a Vm-GTE igen magas (100%) koncentrációban bizonyult hatékonynak a *S. cerevisiae* ellen. Ezzel szemben, a Rn-GTE nem mutatott baktericid hatást a vizsgált mikroorganizmusokra.

Számos tanulmány beszámolt arról, hogy a kapott MBC értékek a baktériumokkal szemben nem minden esetben jelentenek teljes gátlást, mivel figyelembe kell venni a VBNC (*Viable But Non-Culturable*) jelenséget. Ilyen körülmények között a sejtek ugyan életképesek maradnak, de nem képeznek telepeket hagyományos táptalajon, így a kimutatott baktericid hatás nem feltétlenül jelenti a sejtek teljes elpusztítását (OLIVER, 2010; LI és mtsai., 2014). Az elért MBC értékek értelmezésénél ezért fontos megjegyezni, hogy a GTE-k által kiváltott koncentrációk esetében fennállhat a VBNC állapot kialakulásának lehetősége.

Az MBC színváltoztató módszer hatékonyságát a 24. ábrán látható eredmény egyike igazolta, melyek szerint az Rf-GTE különböző koncentrációinak hatására a telepkepző egységek száma változik a kivonat nélküli mintákhoz viszonyítva. Az *E. coli* törzs sejtszáma a Rf-GTE koncentrációjának növekedésével csökken, bár teljes gátlás nem következik be. A legtöményebb kivonattal sikerült elérni a legalacsonyabb sejtszámot, azonban még ebben a koncentrációban sem pusztultak el teljesen a baktériumok. A módszer tehát hatékonynak bizonyult a baktériumok ellen, bár teljes elpusztításukhoz nem vezet a Rf-GTE.



24. ábra: A Rf-GTE koncentrációk által kifejtett telepszámcsökkenés az *E. coli* baktériummal szemben

A kapott adatok közvetlenül a 2. célkitűzéshez kapcsolódnak, hiszen ezek igazolták a GTE-k antimikrobiális hatásait és azok értékelését a vizsgált baktériumtörzseken.

4.3. A rügykivonatok nutritív hatásának vizsgálata a *Drosophila melanogaster* egyedfejlődésére

Számos tanulmány foglalkozik a *Drosophila melanogaster* (ecetmuslica) életszakasz-specifikus táplálkozási igényeivel, és a lárvális állapot esetében elfogadott tény, hogy a növekedés fő korlátozó tényezője az esszenciális aminosavak hiánya lehet, amelyet a táplálkozás feltételei erősen befolyásolnak (MANIÈRE és mtsai., 2020; SCHÖNBORN és mtsai., 2019). Kimutatták, hogy holidikus táptalajon – amely fedezi a teljes és normális egyedfejlődéshez szükséges tápanyagigényt – 25 °C-on, állandó (85-89%) páratartalom mellett a lárvák fejlődése egyenletesen, mintegy 7 nap alatt zajlik le. Továbbá azt is megfigyelték, hogy a lárvák növekedési üteme nem fokozódik többlet

szénforrás mellett, ugyanakkor az esszenciális aminosavak mennyisége a szervezetben megduplázódik (PIPER és mtsai., 2014).

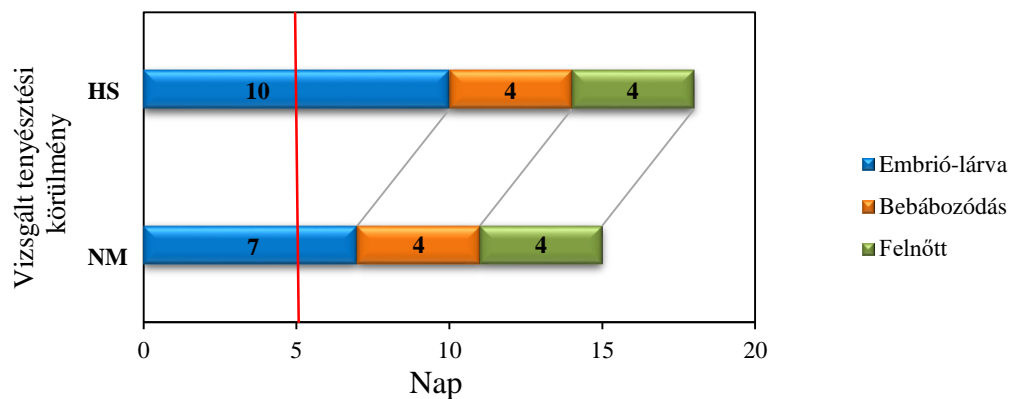
Tekintettel arra, hogy ismerjük az *ecetmuslica* egyedfejlődésének teljes tápanyagigényét, lehetőségünk van különféle étrendek alkalmazására, és ezek függvényében bizonyos GTE-k nutritív értékének vizsgálatára *in vivo* körülmények között. Fontos megjegyezni, hogy az embriogenezist az anya által a petébe elraktározott tápanyagok fedezik, míg a lárvális állapot során intenzív táplálkozás figyelhető meg. A bebábozódást követő metamorfózis energiaigényét a lárvák által korábban felhalmozott tápanyagkészletek biztosítják, majd a frissen kikelt imágó a kitinváz megszilárdulása után kezdi meg aktív táplálkozását a táptalajból. Ilyen értelemben a táptalaj megfelelő összetétele meghatározó jelentőségű az *ecetmuslica* petéinek, embrióinak, lárváinak és bábjaiknak fejlődése szempontjából.

A vizsgálatok során kétféle étrendet alakítottam ki, amelyek segítségével teszteltük a tanulmányozott GTE-k hatását a *Drosophila melanogaster w^{m4h}* genotípusú egyedein (lásd: Anyag és Módszer). Az egyik étrend az ún. normál szénhidrát (NM) típusú diéta volt, amely megfelelően támogatta a teljes életciklust. A másik, a magas szénhidrát-tartalmú (HS) étrend, szacharózban gazdag diéta volt, amely diabéteszes állapotot indukált az *ecetmuslica* életciklusa során (YAGIHASHI, 2023; BAENAS és WAGNER, 2022; LIGUORI és mtsai., 2021; ALFA és KIM, 2016).

4.3.1. Normál és magas szénhidrát tartalmú étrend hatása a *Drosophila melanogaster w^{m4h}* egyedfejlődésére

Azért, hogy megvizsgáljam, miként befolyásolhatja a kétféle étrend (NM és HS) az *ecetmuslica* egyedfejlődését a *w^{m4h}* genotípusú és 0-2 órás korai embriókat helyeztem az említett táptalajokra és 25 °C, normoxiás környezetben monitoroztam egyedfejlődésüket naponta. Ez egy összehasonlító jellegű vizsgálat, amely során tekintettel az egyedek azonos genotípusára, életkorára és az eltérő tápanyag ellátottságára amennyiben jelentkeznek eltérések az egyedfejlődés időtartamában, úgy azok az étrenddel hozhatók összefüggésbe. A kísérletben azt figyeltem meg, hogy a HS tartalmú tápközegen a *w^{m4h}* genotípusú lárva stádiumok viszonyítva a NM étrendűekhez kitolódik három nappal (25. ábra). A bebábozódás és a felnőtté válás (avagy az imágók kikéltése) időtartama megegyező (4-4 nap) volt. Ennek az összehasonlító és *in vivo* jellegű kísérletnek az eredményei arra engednek következtetni, hogy a HS tartalmú tápközeg mintegy 3 nappal meghosszabbítja az egyedfejlődés időtartamát, miközben ez az eltolódás kimondottan

csak a lárvális időszakot érinti és a bábállapot időtartama nem fog változni. Hasonló megfigyelést tettek MUSSELMAN és mtsai (2011) is, a normális genotípusú *ecetmuslica* esetében, mintegy alátámasztva, hogy a HS étrend kedvezőtlenül befolyásolja az egyedfejlődés időtartamát, amelynek okaként a diabetikus állapotot nevesítették. Leírták, hogy a lárvális állapot kitolódása összefüggésbe hozható hiperglikémiával, inzulin rezisztenciával, inflammációval és obezitással.



25. **ábra: Az *ecetmuslica* életciklus hossza a tápanyag szénhidrát tartalmának függvényében**

Összegzésként elmondható, hogy az *ecetmuslica* egyedfejlődésének vizsgálata a normális és a növelt szénhidrát tartalmú étrendeket alkalmazva lehetőséget biztosít arra, hogy teszteljük a vizsgált GTE-k antidiabetikus és/vagy anti-inflammációs élettani hatásait, különösképpen azért is, mivel a GTE-k fitonutriens profiljai mintegy prediktálják ezen utóbbiak meglétét.

4.3.2. A *Drosophila w^{m4h}* lárvák transzkriptom eredményei NM és HS étrend hatására, GTE-kezelés nélkül

A *w^{m4h}* *ecetmuslica* teljes transzkriptom vizsgálata során 15.113 gént azonosítottam be. A kísérlet célja volt, hogy össze tudjam hasonlítani a NM és HSz étrendű *ecetmuslica* lárvák génexpressziós mintázatát és identifikáljam azokat a géneket, amelyeknek jelentősen megváltozik az expressziója az alkalmazott étrend következtében.

A szignifikáns transzkripciós különbségeket mutató géneket funkciójuk szerint csoportosítottam, és ilyenképpen 19 funkcionális génklasztert hoztam létre. Az egyes gének besorolása egy bizonyos klaszterbe a Flybase adatbázis génekre vonatkozó információinak áttekintése révén történt. A Flybase-ben minden *Drosophila* géne vonatkozó tudományos eredmény rögzítve van, ami azt jelenti, hogy a genomialis pozíciótól, a gén – transzkriptom – fehérje szerkezeteken és funkciókon át, a szövet –

szerv és életciklus specifikus expressziós mintázatokon keresztül, valamint az adott génre vonatkozó interaktom elemzéseig úgy, hogy az ecetmuslica teljes interaktoma ismert minden lényegi információ tanulmányozható a publikált bibliográfiai források alapján is. E kutatásaim során két funkcionális génklaszterre a hemolimfa/hormon (15. táblázat) és citoskeleton (17. táblázat) funkciójú génekre fókuszáltam.

13. táblázat: A *Drosophila melanogaster* genom génextpresszió

	Muslica állapot	Lárva	Lárva
	Tápközeg	NM	HS
	Oxigén	Normoxia	Normoxia
Muslica alapgének	Gén	X78370	X78374
FBgn0250789	alpha-Spec	3,045	5,944
FBgn0003863	alphaTry	2,943	894
FBgn0087040	alphaTub67C	0	5
FBgn0003884	alphaTub84B	26,584	21,616
FBgn0003885	alphaTub84D	1,496	1,734
FBgn0003886	alphaTub85E	546	457
FBgn0031068	Alr	312	618
FBgn0039332	alrm	38	52
FBgn0037116	Als2	791	572
FBgn0038535	alt	15,092	3,559
FBgn0004372	aly	56	28
FBgn0000071	Ama	6,018	637
FBgn0032881	Amacr	518	303
FBgn0000075	amd	18	38
FBgn0025686	Amnionless	76	22
FBgn0023179	amon	179	78
FBgn0052626	AMPdeam	5,549	3,159
FBgn0027356	Amph	2,422	4,027
FBgn0023169	AMPKalpha	1,310	1,819
FBgn0038309	Amt	2	0
FBgn0030328	Amun	2,592	1,444
FBgn0000077	amx	140	99
FBgn0000078	Amy-d	13,142	3,242
FBgn0000079	Amy-p	4,378	737
FBgn0020506	Amyrel	425	218
FBgn0011746	ana	684	370
FBgn0262167	ana1	406	217
FBgn0027513	ana2	127	84
FBgn0266111	ana3	305	93
FBgn0012037	Ance	11,361	7,068
FBgn0032535	Ance-2	6	3
FBgn0032536	Ance-3	82	92
FBgn0033366	Ance-4	1,099	1,920
FBgn0035076	Ance-5	401	251
FBgn0036741	anchor	352	318
FBgn0030898	Andorra	18	3
FBgn0016762	angel	77	36
FBgn0011747	Ank	8,246	3,241
FBgn0261788	Ank2	1,022	1,260
FBgn0028343	Ankle2	1,356	384
FBgn0052000	anne	6,374	2,603

A releváns gének kiválasztásakor, az általam kritikusnak tartott 5000 egységnyi expressziós értéket vettem alapul, és amennyiben egy gén expressziója meghaladta a fenti értéket a NM vagy HS kísérleti minta esetében, úgy az ismert vagy feltételezett funkciója alapján a megfelelő klaszter csoportba illesztettem. A 13. táblázat a nyers kísérleti adatok egy részét szemlélteti. A fenti nyers adatbázisban, a kiemelt gének funkcióját színek jelölik: a világoskék a citoskeleton vagy sejtalkotó; a rózsaszín immunrendszer; a

sötétzöld a lipid vagy szénhidrát anyagcsere; a sárga fehérje degradáció típusú funkciókra vonatkozik. A világoskék az *alpha-Spec* gén az aktin háléhoz, *alphaTub84B* gén a mikrotubulus és az Ank gén a citoszkeleton rögzítésekben, a plazmamembrán aktivitás funkciókkal kapcsolatos.

HEMOLIMFA génklaszter

A hemolimfa génklaszter vizsgálata során összesen 25 gén került azonosításra a 3-ik lárvastádium (120 óra) transzkriptomikai elemzése alapján. Ezek közül 5 gén kiemelt szerepet tölt be a vas-homeosztázis, a tápanyagraktározás és a metamorfózis alatti élettani folyamatok szabályozásában. E gének funkcionális szerepét, kapcsolódásukat metabolikus útvonalakhoz, valamint az irodalmi hátterét a 14. táblázat foglalja össze.

14. táblázat: A hemolimfa génklaszter kiemelt géneinek fő funkciói, metabolikus kapcsolatai és irodalmi háttere

Gén	Fő funkció	Metabolikus útvonal folyamata	Irodalmi háttér
<i>Fer1HCH</i>	Ferritin nehézlánc-homológ; vas tárolás, oxidatív stressz csökkentése.	Vas-homeosztázis; ferritin-komplex vas-oxidáció és raktározás; GO:0006879; Reactome R-DME-917937	FlyBase FBgn0015222; UniProt Q7KRU8
<i>Fer2HCH</i>	Ferritin könnyűlánc-homológ; vasanyagcsere stabilizálása.	Vas-raktározás; ferritinmagnukleáció; vasanyagcsere; GO:0006879; Reactome R-DME-917937	FlyBase FBgn0015221; UniProt Q9VA83
<i>Lsp1α</i>	Lárvális szérumfehérje, hemocianin-szerű; aminosav-tartalék a fejlődéshez.	Lárvális tápanyag-/aminosav-raktár; metamorfózis alatti ellátás (zsírtest–hemolimfa)	FlyBase FBgn0002562; UniProt P11995
<i>Lsp1β</i>	Szérumfehérje; tartalékfehérje az energia-ellátásban.	Tartalékfehérje-funkció <i>Lsp1α</i> kiegészítéseként; tápláltsági/anyagcsere állapothoz igazodó expresszió	FlyBase FBgn0002563; UniProt P11996; PLOS ONE, 2013
<i>Lsp2</i>	Glikozilált szérumfehérje; aminosav- és energiaraktár.	Hexamerin típusú tartalékfehérje; L3 zsírtest domináns; ekdizon-függő szabályozás leírt	FlyBase FBgn0002565; UniProt Q24388; FlyAtlas2

Megjegyzés: A génadatok a FlyBase (flybase.org), UniProt (uniprot.org), Reactome (reactome.org), EMBL-EBI és PLOS adatbázisból származnak.

A 14. táblázatban összefoglalt gének közül a *Fer1HCH* és *Fer2LCH* expressziója a HS étrend hatására lecsökkent, ami a celluláris vas-homeosztázis deficienciájára utalhat. Ezzel szemben az *Lsp1 α* , *Lsp1 β* és *Lsp2* gének expressziója növekedett, különösen az *Lsp1 β* esetében. Az NM és HS étrend hatására bekövetkező génexpressziós változásokat részletesen a 15. táblázat mutatja be.

15. táblázat: Az *ecetmuslica* hemolimfa génklaszter kiválasztott géneinek expressziós változásai NM és HS étrend hatására

Gének	Környezet	NM étrend	HS étrend
<i>Fer1HCH</i> Ferritin 1 nehéz lánc homológ		62,868	23,153 Celluláris vas ion-homeosztázis ↓
<i>Fer2LCH</i> Ferritin 2 könnyű lánc homológ		66,770	25,596 Celluláris vas ion-homeosztázis ↓
<i>Lsp1α</i> Lárvális szérum fehérje 1α		297,054	316,442 A metamorfózis során energia- és aminosavellátás ↑
<i>Lsp1β</i> Lárvális szérum fehérje 1β		395,386	728,257 A metamorfózis során energia- és aminosavellátás ↑
<i>Lsp2</i> Lárvális szérum fehérje 2		508,909	570,206 A metamorfózis során energia- és aminosavellátás ↑

Megjegyzés: NM = normál szénhidráttartalmú étrend; HS = magas szénhidráttartalmú étrend.

Jelmagyarázat: piros ↑ = növekvő génexpresszió; kék ↓ = csökkenő génexpresszió.

A 15. táblázatban megfigyelhető, hogy a HS tartalmú étrend során a lárvák *Fer1HCH* (37% ↓) és *Fer2LCH* (38% ↓) géneinek expressziója lecsökkent, a NM étrendű tenyészethez képest. Az említett gének funkciója a celluláris vas ion homeosztázisával kapcsolatos, így ezen gének csökkenő expressziója a celluláris vas háztartási deficienciáját jelzi kiváltó oka a magas szénhidrátbevitel (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025; REACTOME, 2025).

A *Fer1HCH* gén fehérjeterméke a vas(II)-ion vas(III)-ionná alakításában, azaz a ferroxidáz aktivitásban játszik szerepet, amely lehetővé teszi a vas biztonságos raktározását a ferritin komplexben (REACTOME, 2025). Biológiai hátterét tekintve a gén a ferritin nehézláncát kódolja, amely ezzel a mechanizmussal biztosítja a vas stabil formában történő tárolását. A génnek 9 annotált transzkriptuma és 9 polipeptidje ismert, citológiai helye 99F2 (FLYBASE, 2025). Összesen 50 allélt írtak le, amelyek különböző fenotípusokban nyilvánulnak meg, például az embrionális/lárva idegrendszerben, a női csírvonal őssejtjeiben, a kutikulában, a trichogén sejtekben, a mesothoracalis szegmensben és a ganglionokban. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik a letális,

a cirkadián ritmus és sejthalál defektusa, valamint a nőstény sterilitás (UNIPROT, 2025; REACTOME, 2025).

A *Fer2LCH* gén fehérjeterméke a ferritin könnyűláncát alkotja, amelynek feladata a ferritin magjának kialakítása és stabilizálása (REACTOME, 2025). Biológiai hátterét tekintve a gén a vas intracelluláris raktározásában, a sejtek oxidatív stressz elleni védelmében, valamint a vas-anyagcsere szabályozásában játszik kulcsszerepet. A gén 5 annotált transzkriptumot és 5 polipeptidet kódol, citológiai helye 99F2 (FLYBASE, 2025). Összesen 54 allélt írtak le, amelyek többek között az axonokban, az embrionális ganglion anyasejtekben, az embrionális agyban, a kutikulában, a csíraszalagban, valamint a központi idegrendszerben és a neuroblasztokban manifesztálódnak. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik a cirkadián ritmus hibája, a fejlődés során fokozott mortalitás, valamint mozgásszervi viselkedési defektusok (UNIPROT, 2025; REACTOME, 2025).

Összességében normál körülmények között mindkét gén – a *Fer1HCH* és a *Fer2LCH* – kiemelt aktivitást mutat a fejlődés során, különösen a 3. lárvastádiumban, amikor a vasraktározás, a ferritin mag kialakítása és stabilizálása, valamint az oxidatív stressz elleni védelem kulcsfontosságú. A jelen vizsgálatban azonban a HS hatására expressziójuk csökkent, ami arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel akadályozza a ferritin komplex működését, gátolja a vas biztonságos raktározását és növeli az oxidatív stressz kockázatát a fejlődő lárvában (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025; REACTOME, 2025).

A *Fer1HCH* és *Fer2LCH* gének együttes alkotják a ferritin komplexet, amely 12 nehéz- és 12 könnyűláncból épül fel, és jelen van a hemolimfában is. A két alegység közösen biztosítja a sejten belüli vas biztonságos raktározását és a vas-homeosztázis fenntartását. A ferritin ferroxidáz aktivitással rendelkezik, amely lehetővé teszi a vas(II)-ion vas(III)-ionná alakítását és beépítését a ferritin magjába, ezzel megelőzve a szabad vasion által kiváltott oxidatív károsodásokat. A ferritin működése ezért központi szerepet játszik a fejlődési folyamatokban, különösen az embriogenezis során. Molekuláris funkciói közé tartozik a vas(III)-ion megkötése, a ferroxidáz aktivitás, a vasion megkötése és a vas–vas kötések kialakítása (UNIPROT, 2025; REACTOME, 2025).

A hemolimfatikus funkciójú gének között egy másik géncsaládot képviselnek a lárvális szérum fehérjéket kódoló gének (*Lsp1α*, *Lsp1β*, *Lsp2*), amelyeknek expressziója, a kontrollhoz (normál körülmény) viszonyítva és a HS éttrend következtében növekedett (107% ↑, 184% ↑ és 112% ↑). Azonban, ez a megnövekedett génkifejeződés leginkább az

Lsp1β esetében tűnik szignifikánsnak, mivel megközelítőleg az HS specifikus érték csaknem kétszerese az alapállapotot jelentő NM specifikus értéknek (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025).

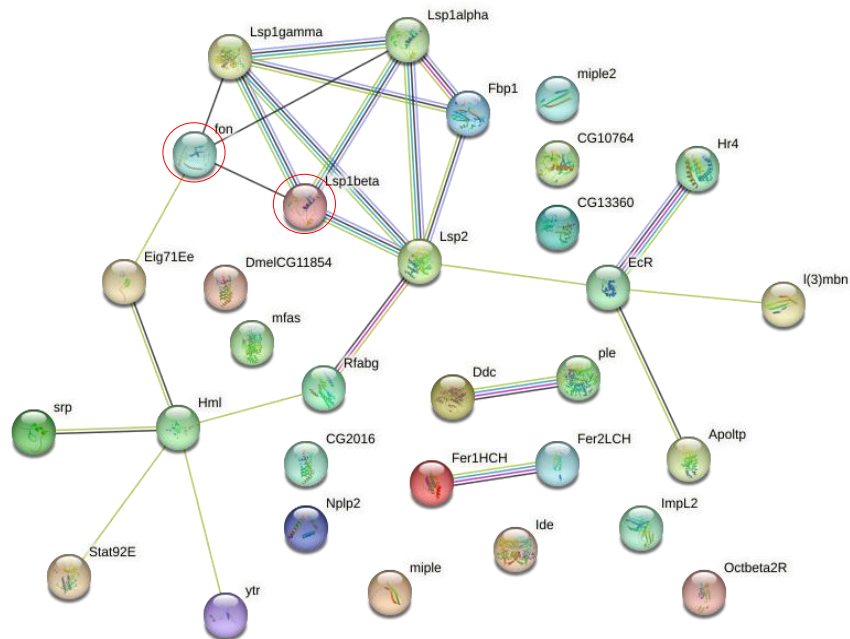
Az *Lsp1α* gén fehérjeterméke hemocianin-szerű fehérje, amely feltételezhetően az aminosav- és nitrogénraktározásban játszik szerepet, és a metamorfózis során mobilizálódik (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). A fehérje több domént tartalmaz, többek között a Hemocianin C- és N-terminális doméneket, a Hemocianin/hexamerin középső domént, az Immunglobulin E-készletet és egy di-rézközpontot. Molekuláris funkciója pontosan nem ismert. Biológiai hátterét tekintve az *Lsp1α* gén főként a zsírtesthez köthető, ahol a metamorfózis során az energia- és aminosavellátás biztosításában van szükség. A rákfélék hemocianinjaival a rovarok *Lsp* fehérjéi nem rendelkeznek oxigénszállító funkcióval. A génnek 1 annotált transzkriptuma és 1 polipeptidje ismert, citológiai helye 11A12. Összesen 8 allélt azonosítottak, amelyek fenotípusosan az életképességgel, az elektroforetikus variációkkal és a termékenységgel kapcsolatosak (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az *Lsp1α* gén magas aktivitást mutat a zsírtestben és az imágók szívében, expressziója pedig ekdizon-függő szabályozottságot követ. A HS éttrend hatására a gén expressziója emelkedett (107%), ami a fejlődési energiaraktárak átrendeződését jelzi (ZHANG és mtsai., 2013; LEADER és mtsai., 2018).

Az *Lsp2* gén fehérjeterméke egy 80 kDa molekulatömegű glikozilált polipeptid, amely a harmadik stádiumú lárvák egyik fő szérumfehérjéje (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Biológiai hátterét tekintve az *Lsp2* fehérje főként a zsírtesthez köthető, és szerepe a fejlődési energiaraktárak biztosítása a lárva-báb-imágó átalakulás során. A génnek 2 annotált transzkriptuma és 2 polipeptidje ismert, citológiai helye 26F5 (FLYBASE, 2025). A fehérje több hemocianin-szerű domént tartalmaz: Hemocianin C- és N-terminális, Hemocianin/hexarin középső domén, valamint az Immunglobulin E-készletet. Molekuláris funkciója pontosan nem bizonyított, de feltételezhetően részt vesz a motoros neuron axonok működésében. Összesen 9 allélt azonosítottak, amelyek fenotípusosan a letális vagy látható kategóriába sorolhatók (FLYBASE, 2025). Az allélok jelenléte jelzi, hogy a gén funkcióvesztése súlyosan érinti a fejlődési folyamatokat. Normál körülmények között a gén expressziója a harmadik lárvastádiumban kezdődik, majd a bábállapot közepéig fokozódik, ezt követően pedig csökken, a korai felnőttkorban az alapszintet éri el. Az expresszió szigorúan ekdizon-függő szabályozottságot mutat. A késői lárva- és bábállapotokban csúcsexpressziót figyeltek meg, amit a FlyAtlas2 adatai

is alátámasztanak (LEADER és mtsai., 2018). A jelen vizsgálatban az *Lsp2* gén expressziója közel azonos szintet mutatott az NM és a HS étrend esetében (112%), ami arra utal, hogy a két étrend mellett a lárvák hasonló fejlettségi stádiumot értek el, és az *Lsp2* nem reagál érzékenyen a szénhidrátbevitel növekedésére.

Az *Lsp1 β* gén két annotált transzkriptumot és két polipeptidet kódol, citológiai térképe 21E2 (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). A fehérje hemocianin-szerű, szerkezetében megtalálhatók a Hemocianin C- és N-terminális domének, a Hemocianin/hexamerin középső domén, az Immunglobulin E-készlet, valamint egy di-réz központ. Biológiai funkciója pontosan nem ismert, de feltételezhető, hogy a hemolimfával kapcsolatos tartalék fehérjekomplex részeként működik, amely a metamorfózis során energia- és aminosav-ellátást biztosít. A génhez eddig 12 mutáns allélt azonosítottak, amelyek fenotípusosan nem mutatnak letalitást, ami arra utal, hogy a gén nem esszenciális, de funkciója kiegészítő szerepet tölthet be a fejlődés során (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között a gén expressziója a lárvális fejlődés végéhez köthető, amikor az energiaraktárak felhalmozása kiemelt jelentőségű. A fehérje a zsírtestben raktározódik, ahol a metamorfózis során az energia- és aminosavellátást biztosítja. A hemolimfában végzett proteomikai vizsgálatok szintén megerősítették az *Lsp1 β* gén szerepét mint tartalék fehérje (ZHANG és mtsai., 2013). A jelen vizsgálatban a gén expressziója a HS étrend hatására jelentősen megnőtt (184%), ami a gén potenciális kulcsszerepére jelzi a szénhidrátbevitel okozta anyagcsere-átalakításban.

Összehasonlítva a HS és NM étrendek indukálta hemolimfa funkciójú gének viszonylagos génexpressziós adatait, arra lehet következtetni az *Lsp1 α* és *Lsp2* közel azonos expressziós szintjeik alapján, hogy a NM és HS lárvák hasonló fejlődési paramétereket mutatnak legalábbis az említett gének esetében. Ugyanakkor az *Lsp1 β* specifikus transzkriptom szintjének emelkedése az HS étrend kapcsán arra utalhat, hogy bár e gén nem tűnik esszenciális funkciójúnak mivel a funkcióvesztéses mutáns alléljai nem letális fenotípusúak, mégis a HS étrend olyan funkciónyeréses mutáns fenotípust eredményezhet, amely akár kedvezőtlenül is befolyásolhatja az *ecetmuslica* egyedfejlődését. Fontos lenne, hogy a feltételezett funkciónyeréses mutáns fenotípus kapcsán eldöntésre kerüljön annak neomorf, avagy antimorf jellege, mivel ez magyarázattal szolgálna arra vonatkozóan, hogy a HS étrend milyen komplikációkat okozhat a fölösleges kalóriabevitel következményeképpen. Annak érdekében, hogy még átfogóbb képet alkossunk a hemolimfatikus génklaszter funkcionális kapcsolatairól, elkészítettem ezen klaszter néhány tagjának primer interakcióját (26. ábra).



26. ábra: A hemolimfatikus génklaszter funkcionális kapcsolat rendszerének primer interaktomja

Az interaktom egyértelműen jelzi az *Lsp1β* gén csomópont jellegét ebben a funkcionális génklaszterben. Tekintettel arra, hogy az *Lsp1β* gén expressziója jelentősen megnövekedett a HS étrend következtében és így várhatóan további hemolimfa gének funkciója is sérülni fog, mint a *fondue (fon)* géné, amely funkciója véralvadással kapcsolatos és az HS étrend következtében szignifikánsan megnövekszik. Ez a fajta interaktom vizsgálat lehetővé teszi, hogy szélesítsük a HS étrend okozta tünetegyüttes komplexitásának felderítését.

CITOSZKELETON – AKTIN, MIKROTUBULUSOK génklaszter

A citoszkeletális génklaszter vizsgálata során összesen 126 gén került azonosításra a harmadik lárvastádium (120 óra) transzkriptomikai elemzése alapján. Ezek közül 10 gén emelkedik ki, amelyek az aktin mikrofilamentumok és a mikrotubulusok szerkezetének, valamint a sejtváz dinamikus átrendeződésének szabályozásában játszanak kulcsszerepet. E gének funkcionális szerepét, kapcsolódásukat a sejtciklushoz, a sejtmotilitáshoz és a morfogenezishez, valamint az irodalmi háttérrel a 16. táblázat foglalja össze.

A citoszkeletális gének vizsgálata során a HS étrenden nevelt lárvákban az *Act42A* (-75%), *Act5C* (-60%), *Act87E* (-24%), *αTub84B* (-19%) és *βTub60D* (-65%) génextpressziója csökkenést mutatott a NM kontrollhoz képest. Ezzel szemben az *Act57B*

(+181%), *βTub56D* (+16%), *Mlc2* (+19%), *Mlp60A* (+242%) és *Mp20* (+13%) génexpressziója emelkedett HS étrend hatására.

16. táblázat: A citoskeletális génklaszter kiemelt génjeinek fő funkciói, metabolikus kapcsolatai és irodalmi háttére

Gén	Fő funkció	Metabolikus útvonal folyamata	Irodalmi háttér
<i>Act42A</i>	Aktin fehérje, citoskeletális szerkezet alkotója	Citoszkeleton szerveződés, sejtváándorlás, mitotikus citokinézis	FlyBase FBgn0000043; UniProt P10987
<i>Act57B</i>	Aktin fehérje, citoskeletális szerkezet alkotója	Sejtadhézió, szinapszis szerveződés, mitotikus citokinézis	FlyBase FBgn0000044; UniProt P10988
<i>Act5C</i>	Aktin fehérje, citoskeletális szerkezet alkotóeleme	Sejtváz szerveződés, sejtosztódás, citokinézis	FlyBase FBgn0000043; UniProt P10986
<i>Act87E</i>	Aktin fehérje, citoskeletális szerkezet alkotója	Hisztón-acetilézés, sejtváándorlás, mitózis	FlyBase FBgn0000045; UniProt P10989
<i>αTub84B</i>	Alfa-tubulin fehérje	Mikrotubulus szerkezet, kromoszóma szegregáció, sejtosztódás	FlyBase FBgn0003884; UniProt P06605
<i>βTub56D</i>	Béta-tubulin fehérje	GTP kötés, mitotikus orsó működése, neuroblaszt fejlődés	FlyBase FBgn0003886; UniProt P06607
<i>βTub60D</i>	Béta-tubulin fehérje	Mikrotubulus szerkezet, sejtosztódás, sejt differenciáció	FlyBase FBgn0003885; UniProt P06606
<i>Mlc2</i>	Miozin könnyűlánc	Aktin-miozin interakció, kontraktilis rostok szabályozása	FlyBase FBgn0002779; UniProt Q9V3F1
<i>Mlp60A</i> Izom LIM fehérje a 60A	LIM-domén fehérje	Izomfejlődés, miofibrillum szerveződés	FlyBase FBgn0032715; UniProt Q9V9V5
<i>Mp20</i> Izom fehérje 20	Izomfehérje	Aktin megkötése, izom összehúzódnás	FlyBase FBgn0011653; UniProt Q9V9V4

Megjegyzés: A génadatok a FlyBase (flybase.org) és az UniProt (uniprot.org) adatbázisokból származnak. A citoskeletális génekhez nem tüntettem fel Reactome-útvonalakat, mivel a legtöbb elérhető annotáció számítógépes következtetésen (inferred) alapul más fajokból, és nem *Drosophila*-specifikus validált adat. Ezért a táblázat kizárólag a FlyBase és UniProt által közölt, közvetlenül *Drosophilára* vonatkozó funkcionális információkat tartalmazza.

Az *Act42A* gén egy annotált transzkriptumot és egy polipeptidet kódol, citológiai térképe 42A7 (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). A gén az actin család tagja, fehérjeterméke a citoskeleton szerkezeti alkotója. Molekuláris funkciója az aktinfilamentumok kialakítása, amelyek a sejtváz alapvető elemei. Biológiai hátterét tekintve a gén részt vesz a citoskeleton szerveződésében és a mitotikus citokinézisben. Az *Act42A* génhez eddig 13 mutáns allélt írtak le, amelyek fenotípusosan a chaeta, a trichogén sejtek, a külső érzékszervek, a wing sensillum és a mesothoracalis tergum fejlődésében manifesztálódnak. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartoznak a látható eltérések, a báb stádiumban jelentkező letalitás, valamint a szemiletalitás (FLYBASE, 2025). Az aktinfehérjék erősen konzervált eukarióta mikrofilamentum-képző fehérjék,

amelyek polimerizációját az ATP megkötése és hidrolízise szabályozza. Az aktinok kulcsszerepet játszanak a sejtmozgásban, az izomösszehúzódsban, a sejtek közötti anyagáramlásban és a mechanikai stabilitás fenntartásában (UNIPROT, 2025). Normál körülmények között az *Act42A* gén expressziója az embriogenezis során, a lárvális fejlődés késői szakaszaiban és a bábállapotban mutat csúcsokat. Az eredményeim azt mutatják, hogy az *Act42A* gén expressziója a HS étrend hatására 75%-kal csökkent, ami arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel a sejtvez stabilitását biztosító aktinfilamentumok mennyiségének csökkenését okozhatja, és ezáltal hátrányosan befolyásolja a fejlődési folyamatokat.

17. táblázat: Az *ecetmuslica* citoskeletális génklaszter kiválasztott géneinek expressziós változásai NM és HS étrend hatására

Környezet \ Gének	NM étrend	HS étrend
<i>Act42A</i>	28,692	7,075 ↓
<i>Act57B</i>	167,899	471,939 ↑
<i>Act5C</i>	180,010	72,459 ↓
<i>Act87E</i>	20,286	15,450 ↓
<i>αTub84B</i>	26,584	21,616 ↓
<i>βTub56D</i>	27,143	31,494 ↑
<i>βTub60D</i>	3,107	1,073 ↓
<i>Mlc2</i>	127,046	150,575 ↑
<i>Mlp60A</i> Izom LIM fehérje a 60A	45,691	156,228 ↑
<i>Mp20</i> Izom fehérje 20	53,785	60,692 ↑

Megjegyzés: NM = normál szénhidráttartalmú étrend; HS = magas szénhidráttartalmú étrend.

Jelmagyarázat: piros ↑ = növekvő génexpresszió; kék ↓ = csökkenő génexpresszió.

Az *Act57B* gén egy annotált transzkriptumot és egy polipeptidet kódol, citológiai térképe 57B5 (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). A gén az actin család tagja, fehérjeterméke a citoskeleton szerkezeti alkotóeleme. Biológiai hátterét tekintve részt vesz a szívfejlődésben, a mitotikus citokinézisben, a sejtvez szerveződésében, a neuromuszkuláris kapcsolatok strukturális és funkcionális fenntartásában, a vázizomrostok működésében, valamint a szinapszisok szerveződésének szabályozásában. Az *Act57B* génhez eddig 23 mutáns allélt írtak le. A fenotípusos következmények között

szerepel a szupramolekuláris komplexek szerveződési hibája, az idegrendszeri és szívfejlődési eltérések, az embrionális és lárvális neuromuszkuláris kapcsolatok zavara, valamint a csíravonal ciszták, ionotróp glutamát receptor komplexek és izomsejtek működésének sérülése. Az allélok a spektrin-asszociált citoszkeletonban, a membrán belső összetevőiben és a szomatikus izmokban is manifesztálódnak. A fenotípusos osztályok közé tartozik a repülési hiba és a fokozott letalitás (FLYBASE, 2025). Az *Act57B* gén különlegessége, hogy a *Drosophila* genom azon kevés aktingénjei közé tartozik, amelyek myofibrilláris aktint kódolnak, és fehérjeterméke az összes embrionális és adult izomban expresszálódik (UNIPROT, 2025). Az eredményeim szerint az *Act57B* expressziója a HS étrend hatására megnőtt 181%-kal, ami arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel az izomsejtek citoszkeletális rendszerének túlzott aktivációját eredményezheti. Ez az eltérés összefüggésben állhat a neuromuszkuláris integritás zavarával és a fokozott energiefelhasználás igényével a fejlődő lárvákban.

Az *Act5C* gén a citoplazmatikus aktint kódolja, és az egész egyedfejlődés során magas szinten kifejeződik. A génnek 5 annotált transzkriptuma és 5 polipeptidje ismert, ezek közül egyedi izoformát is tartalmaz (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 5C. Biológiai funkcióját tekintve a gén részt vesz a mitotikus citokinézisben, a fehérjék intracelluláris lokalizációjában, a spermiumok individualizációjában, valamint a kromatin átrendeződésében. Az *Act5C* a sejt citoszkeletonjának alapvető szerkezeti alkotóeleme, amely biztosítja a sejtdinamikai folyamatokhoz szükséges aktin-filamentumokat. Az *Act5C* génhez eddig 84 mutáns allélt írtak le, amelyek különböző fenotípusokban nyilvánulnak meg. A mutációk hatására rendellenességek jelennek meg a felnőtt feji szenzillumokban, a makrochaetákban, a mechanoszenzoros chaetákban és más érzékszervi járulékos sejtekben. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik a letalitás, a szemiletalitás, a sterilitás és a látható morfológiai malformációk (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az *Act5C* expressziója csúcspontot ér el az embriogenezisben, a lárvális fejlődés során, a bábos időszakban, valamint a kifejlett nőstényekben is. Az eredmények szerint az *Act5C* gén expressziója a HS étrend hatására 60%-kal csökkent, ami arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel gátolja a citoszkeletális rendszer működését, különösen az aktin filamentumok stabilizációját. Ez a csökkenés a sejtdinamikai folyamatok zavarához vezethet, amely kihatással lehet a sejtosztódásra és a fejlődési programokra is.

Az *Act87E* gén három annotált transzkriptumot és három polipeptidet kódol, köztük egy egyedi izoformát (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 87E11. A

fehérje a citoszkeleton szerkezeti alkotóeleme, amely részt vesz a hiszton-acetilezésben, a citoszkeleton szerveződésében és a hisztoncsere folyamataiban. Biológiai hátterét tekintve az *Act87E* gén az aktin klasszikus sejtvá- és kromatinátalakító szerepét képviseli, amelyek nélkülözhetetlenek a sejtmag dinamikájához és a sejtciklus szabályozásához. Az *Act87E* génhez eddig tíz mutáns allélt írtak le, azonban fenotípusos adataik nem állnak rendelkezésre (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az *Act87E* expressziója a 12–24 órás embrionális fejlődési szakaszban a legmagasabb, de a késői bábstádiumban is jelentős szinten marad. Az eredmények tükrében az *Act87E* gén expressziója a HS étrend hatására 24%-kal csökkent a kontroll NM étrendhez képest. Jelezve, hogy a magas szénhidrátbevitel negatívan befolyásolja a kromatinátalakítással és citoszkeletonális stabilitással kapcsolatos folyamatokat, amelyek a sejtosztódás és a fejlődés szabályozásában játszanak kulcsszerepet.

Az *α Tub84B* gén egy annotált transzkriptum és egy polipeptid kód (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 84B. A fehérje az α -tubulin család tagja, amely az α - és β -tubulin heterodimerek részeként a mikrotubulusok alapvető szerkezeti egységét alkotja. Szerkezeti jellemzői közé tartoznak az α -tubulin, tubulin, tubulin C-terminális és konzervált tubulin domének, valamint a tubulin/FtsZ domén. Molekuláris funkciói közé tartozik a GTP-kötés, a GTPáz aktivitás, valamint a citoszkeletonális szerkezeti alkotóelemként betöltött szerep. Biológiai folyamataiban szerepet játszik a mikrotubulus-alapú folyamatokban, a mitotikus sejtciklusban, a kromoszóma szegregációban, a lizoszóma lokalizációban, valamint az antimikrobiális humorális válaszban. A tubulin két GTP-molekulát köt: az egyik a β -láncához cserélhető módon, a másik az α -láncához nem cserélhetően kapcsolódik. Ez a mechanizmus alapvető a mikrotubulus-dinamika szabályozásában. Normál körülmények között az *α Tub84B* expressziója a 0–18 órás embrionális stádiumban a legmagasabb, emellett jelentős aktivitást mutat a lárvális és bábstádiumban is. A gén konstitutív expressziót mutat, és a kódolt tubulin szekvencia erősen konzervált más állatfajokéhoz képest. Az eredményeim azt mutatják, hogy a *α Tub84B* gén expressziója a HS étrend hatására 19%-kal csökkent az NM kontrollhoz viszonyítva. Ez arra enged következtetni, hogy a magas szénhidrátbevitel negatívan befolyásolja a mikrotubulusok dinamikáját, a sejtosztódást és az intracelluláris transzportfolyamatokat, amelyek a fejlődés szempontjából kulcsfontosságúak.

Az *β Tub56D* gén két annotált transzkriptumot és két polipeptidet kódol (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 56D7–56D8. A fehérje a β -

tubulin család tagja, szerkezeti jellemzői közé tartozik az autoregulációs kötőhely, a C-terminális és GTPáz domén, valamint a tubulin/FtsZ szupercsalád. A fehérje a β -tubulin család tagja, és alapvető szerepet játszik a mikrotubulusok felépítésében azáltal, hogy GTP-t köt és GTPáz aktivitást fejt ki. Biológiai hátterét tekintve a gén részt vesz az izomösszehúzódásban, a sejtosztódásban és más mikrotubulus-alapú folyamatokban, amelyek a sejt alakjának fenntartásához nélkülözhetetlenek. A génhez eddig több mutáns allélt írtak le, amelyek különböző fenotípusokat eredményeznek, például a neuroblasztok fejlődési zavara, az embrionális és lárvális szomatikus izmok eltérései, a középvonali primordium hibái és neuroblaszt defektusok. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik a sterilitás, a fokozott mortalitás és a megnövekedett sejtszám (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között a *β Tub56D* mRNS-e az anyai petesejtekben tárolódik, majd a korai embriókban expresszálódik, ezt követően pedig a fejlődés során szinte minden felnőtt szövetben jelen van. Vizsgálatom alapján a *β Tub56D* gén expressziója a HS étrend hatására 16%-kal emelkedett. Ez arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel mérsékelt szinten fokozza a mikrotubulusokhoz kapcsolódó sejt dinamikai folyamatokat, amelyek hozzájárulhatnak az izomműködés és a sejtosztódás fenntartásához a fejlődő lárvákban.

Az *β Tub60D* gén két annotált transzkriptumot és két polipeptidet kódol, amelyek egyedi jellemzőkkel rendelkeznek (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 60C6. A gén által kódolt fehérje a β -tubulin család tagja, amely alapvető szerepet tölt be a mikrotubulusok felépítésében GTP-kötő és GTPáz aktivitásán keresztül. Biológiai hátterét tekintve a gén részt vesz a citoskeleton szerkezetének fenntartásában, a fényingerre adott válaszban, az axonogenezisben, a szív fejlődésében, a mitotikus sejt ciklusban, valamint az axon szerkezeti és működési integritásának biztosításában. A génhez eddig 27 mutáns allélt azonosítottak, amelyek fenotípusai többek között az embrióban, a ganglion anyasejtekben és a neuroblasztokban (neuronális őssejtek) nyilvánulnak meg. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik az axonogenezis zavara, a lárvák viselkedési eltérései és a fényingerre adott válasz rendellenességei (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az expresszió időbeli profilja változatos, a magas csúcspontoktól a mérsékelt szintekig terjed. A legjelentősebb csúcspontok az embrionális stádiumban, a késői lárvaállapotban és a bábido szakban figyelhetők meg. A kapott adatok szerint a *β Tub60D* gén expressziója a HS étrend hatására 65%-kal csökkent. Ami jelzi, hogy a magas szénhidrátbevitel kedvezőtlenül hat a mikrotubulusokhoz kapcsolódó axonális és sejt ciklus-folyamatokra, amely a neuromuszkuláris integritás gyengülésével és a fejlődési programok zavarásával hozható összefüggésbe.

A miozin könnyű lánc 2 (*Mlc2*) gén egy annotált transzkriptumot és egy polipeptidet kódol (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 99E1. A fehérje EF-kéz (EF-hand) kalciumkötő domént tartalmaz; molekuláris funkciója Ca^{2+} -kötés, amely a miozin komplex szabályozásához kapcsolódik. A miozin könnyű láncok (MLC) a miozin nehéz láncokhoz az IQ-motívumon keresztül kapcsolódnak a nyaki régióban, az aktin mikrofilamentumok menti csúszást támogatják, az ATP-hidrolízist modulálják és szerkezeti stabilitást adnak a szarkomernek. Biológiai hátterét tekintve a *Mlc2* részt vesz a repülési izomzat működésében, a myofibrillum-szerveződésben és általában az izomrendszeri folyamatokban. A génhez eddig 18 mutáns allélt írtak le; a fenotípusok főként a szarkomer szerveződésében manifesztálódnak. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik a repüléshiba, életképességi defektus, fokozott mortalitás és hím sterilitás (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az *Mlc2* expressziós csúcsa a 12–24 órás embrionális stádiumban figyelhető meg; magas szinten van a teljes lárvaperiódus alatt, késői bábokban, valamint mindkét nem felnőtt egyedeiben is (FLYBASE, 2025). A vizsgálat során az *Mlc2* expressziója a HS étrend hatására +19%-kal nőtt a kontroll NM-hez képest. Ez arra utal, hogy a magas szénhidrátbevitel fokozza az izomrendszeri folyamatokat és a myofibrillumok aktivitását, ami a fejlődő lárvák megnövekedett energiaigényével függhet össze.

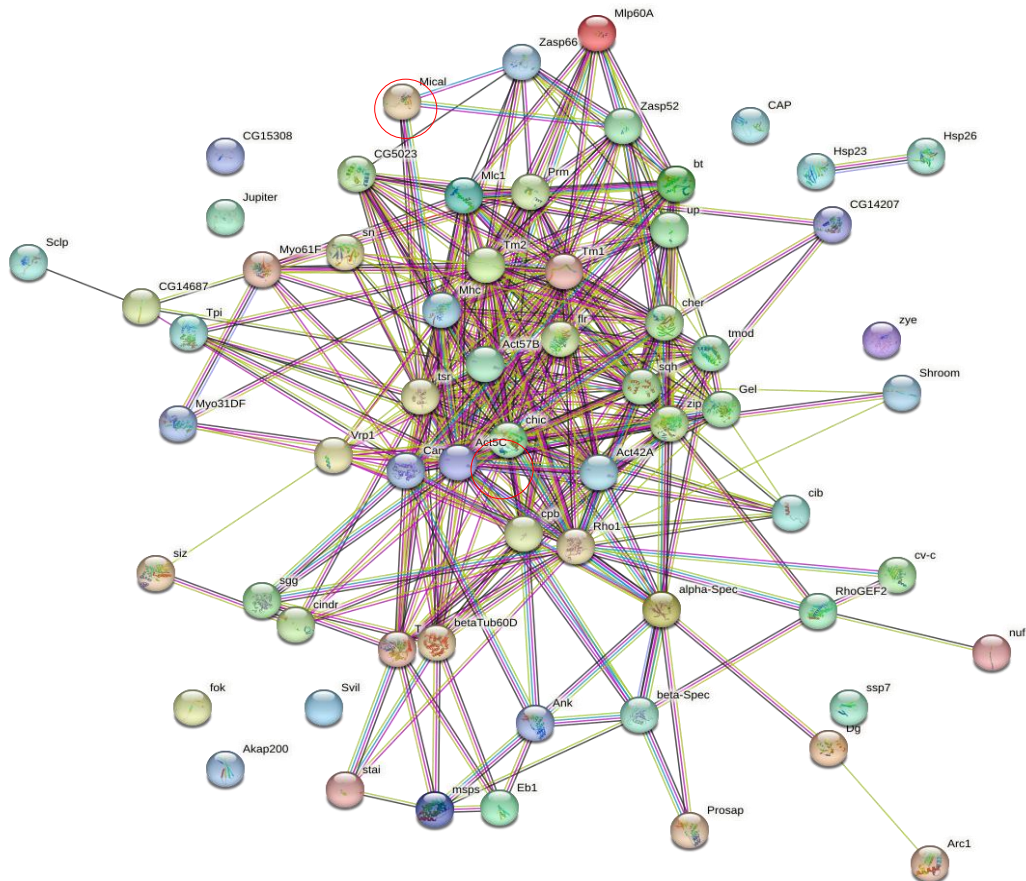
Az izom LIM fehérje 60A (*Mlp60A*) gén egy citoskeletális LIM-domén fehérjét kódol, amely cinkion-kötő, ciszteinben gazdag fehérje (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 60A. A fehérje főként a szarkomer Z-sáv régiójában expresszálódik, ahol kulcsszerepet játszik az embrionális és a repülési izmok fejlődésében és fenntartásában, valamint elősegíti a miogén differenciálódást. A génnek 4 annotált transzkriptuma és 4 polipeptidje ismert. Molekuláris szerepe pontosan nem tisztázott, de funkciója összefüggésbe hozható az izomszövet fejlődésével és stabilitásával. A génhez 12 mutáns allélt azonosítottak, amelyek életképes fenotípust mutatnak, ami arra utal, hogy a gén nem létfontosságú, de fontos szerepet tölt be az izomrendszeri folyamatokban (FLYBASE, 2025). Normál körülmények között az *Mlp60A* expressziója a 12-24 órás embrionális stádiumban éri el csúcspontját, jelentős aktivitást mutat a teljes lárvaperiódusban és a késői bábstádiumban, valamint mindkét nem felnőtt egyedeiben is.

A vizsgálat hatására az *Mlp60A* expressziója a HS étrend hatására +242%-kal nőtt az NM kontrollhoz képest. Ami arra enged következtetni, hogy a magas szénhidrátbevitel erőteljesen stimulálja a szarkomerfehérjék kifejeződését, ami fokozott izomaktivitással és energiaigénnyel járhat a fejlődő lárvákban.

Az *Mp20* gén két annotált transzkriptumot és két polipeptidet kódol, amelyek mindegyike egyedi izoformát képvisel (FLYBASE, 2025; UNIPROT, 2025). Citológiai térképe 49F13. A gén egy 20 kDa-os izomfehérjét kódol, amely nem expresszálódik az aszinkron oszcilláló repülési izmokban, ugyanakkor jelen van a legtöbb szinkronizált izomszövetben. A fehérje a CH domén szupercsaládba tartozik, aktinkötő funkcióval rendelkezik, és részt vesz a myoblaszt-fúzió szabályozásában, amely kulcsfontosságú a vázizomrostok kialakulásában. A génhez eddig hét mutáns allélt írtak le, amelyek különböző izomtípusokban – például az embrionális myoblasztokban, a háti harántizmokban és a háti akut izmokban – mutatnak eltéréseket. Az allélok fenotípusos osztályai közé tartozik az életképesség megtartása mellett jelentkező morfológiai rendellenesség (FLYBASE, 2025). Biológiai hátterét tekintve az *Mp20* kulcsszerepet játszik az izomfejlődéshez szükséges myoblaszt-fúzióban és az izomrostok szerkezetének fenntartásában, amelyek nélkülözhetetlenek a mozgás és az izomműködés szempontjából. Normál körülmények között az *Mp20* gén expressziója az embrionális fejlődés 18-24 órás szakaszától kezdve emelkedik, és jelentős aktivitást mutat a késői bábstádiumig. Az eredményeim azt mutatják, hogy a HS étrend hatására az *Mp20* gén expressziója +13%-kal nőtt az NM kontrollhoz képest. Ez arra enged következtetni, hogy a magas szénhidrátbevitel serkenti az aktinkötő izomfehérjék expresszióját, ami hozzájárulhat az izomszöveti átalakulásokhoz és a fejlődési programok módosulásához a lárvákban. A citoskeletális génklaszter primér interakomjának az elkészítése további részleteket tárt fel a HS étrend előidézte szignifikánsan megváltozott gének kapcsolatrendszeréről (27. ábra).

A citoskeletális gének interaktoma kapcsán központi helyet foglal el az *Act5C* gén, amelynek expressziója jelentősen lecsökken az HS étrend következményeképpen, és mint olyan fontos szerepe van az F-aktin típusú mikrofilamentumok kialakításában. Az a tény, hogy a *mical* gén transzkripciója is jelentősen lecsökken, arra enged következtetni, hogy az aktin mikrofilamentumok depolimerizációja is sérül. Azaz a HS étrend következménye lesz az aktin polimerizációs-depolimerizációs folyamat többpontú defektusa, amelynek további celluláris motilitási rendellenességekhez vezethetnek. Az NM és HS étrenddel kapcsolatos transzkriptomok összehasonlító elemzése rávilágított arra a tényre, hogy az étrendnek jelentős hatása van az *ecetmuslica* egyedfejlődésére és génjeinek expressziójára. A bemutatott hemolimfa és citoskeletális génklaszterekbe tartozó gének funkciója ismert, avagy a fehérje szerkezetek homológiája alapján prediktálható, az a tény mely szerint a magas szénhidrát bevitelnek a következményei messzibbre mutatnak, mint

a már ismert hiperglikémiás anyagcsere defektusok. Ilyen értelemben ezek a megfigyelések teljesen új kutatási perspektívákat vetítenek előre nemcsak a diabétesz komplikációinak, hanem az antidiabetikus hatások megismerése kapcsán is. A tanulmányozott GTE-k kapcsán célul tűztük ki, hogy vizsgálni fogjuk e növényi kivonatok hatását NM és HS étrendeket alkalmazva *ecetmuslica* lárvákon. E megközelítés kapcsán szinkronizált életkorú és azonos genotípusú lárvák életképességét tanulmányoztuk, és ilyenképpen a kísérleti eredmények összehasonlító jelleggel bírnak.

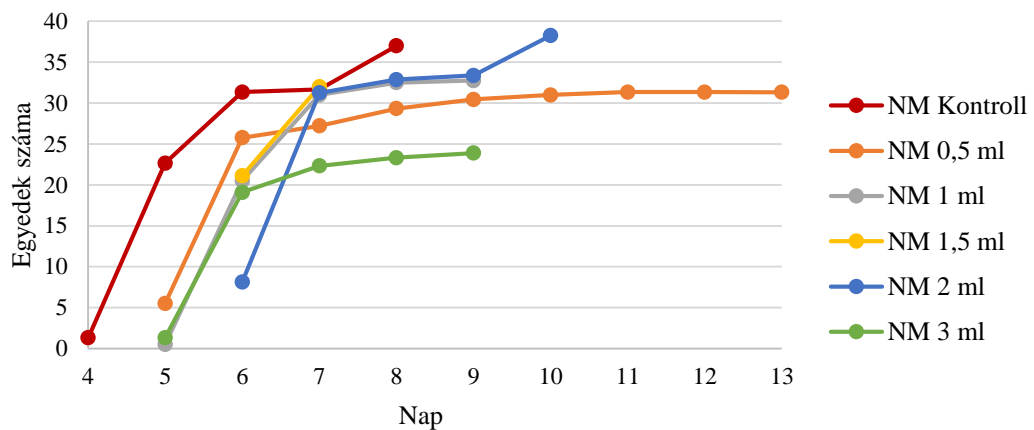


27. *ábra:* A citoszkeleton génklaszter funkcionális kapcsolat rendszerének primer interaktomja

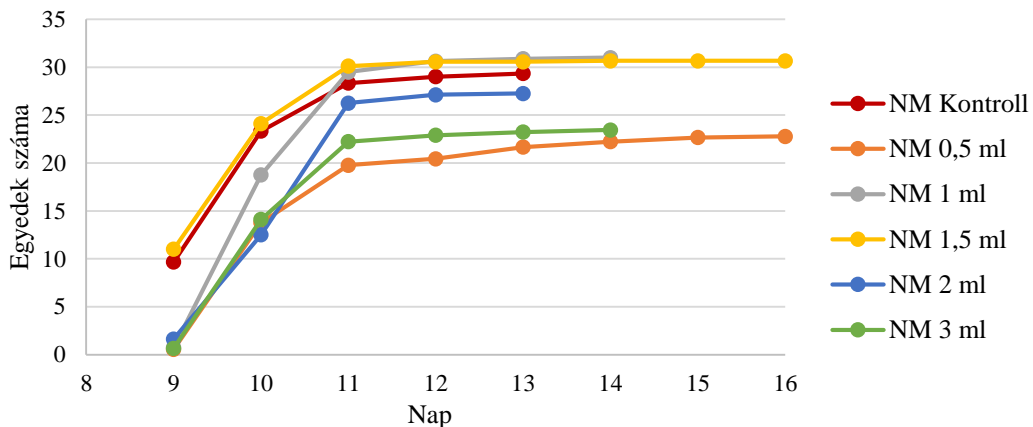
4.3.3. Rügykivonatok hatásainak vizsgálata a *Drosophila* egyedfejlődésére

A w^{m4h} *ecetmuslica* élettani hatásainak vizsgálatát *in vivo* körülmények között figyeltem meg. Az alábbi 18. táblázatban a NM és HS tartalmú táptalajú tenyésztés (25 °C-on) eredményei láthatóak különböző koncentrációjú Rn-GTE függvényében. A vizsgálatok során a NM és HS tartalmú tápközegen, a 3-ik stádiumú lárvák bebábozási időpontját (egyedfejlődési napokra vonatkoztatva) és az imágók kikelési időpontját monitoroztuk, mivel ezek a vizsgált egyedek életképességét is jelzik.

A NM tápközegen a bebábozódás százalékos aránya egyes Rn-GTE koncentrációk (0,5; 1,5 és 2 ml) esetében növekedett (56, 53, és 58%) a kontroll mintákhoz képest (50%), míg más kivonatokkal (1 és 3 ml) szemben csökkent a lárvák életképessége (47 és 36%). A kivonatokat tartalmazó NM közegen a bebábozódás időszaka kitolódott 10 napra 0,5 ml-nél, míg az 1, a 2 és a 3 ml kivonatok esetében pedig megegyező volt a napok száma a kontrollal (4 nap). Egyedüli esetként figyelhető meg a 1,5 ml kivonat kapcsán, hogy a napok száma lecsökkent 2-re és a metamorfózis során a kikelt imágók száma növekedett (51%) kontrollhoz képest (48%) (28. ábra)



28. ábra: A lárvák életképessége NM táptalajon különböző Rn-GTE koncentrációk mellett



29. ábra: A kikelt imágók életképessége NM táptalajon különböző Rn-GTE koncentrációk mellett

Ezt a növekedési hatást egyedüli koncentrációban volt képes hozni a Rn-GTE, míg a többi kivonattal szemben az egyedfejlődések száma lecsökkent (36, 47, 38, 36%). Ugyanakkor, az 1,5 ml koncentrációban a GTE volt a leghosszabb (8 nap) az egyedfejlődés ideje a kontrollhoz (4 nap) képest. Továbbá megfigyelhető, a többi GTE koncentrációkkal szemben is, hogy a metamorfózis ideje kitolódik a NM tápközeges

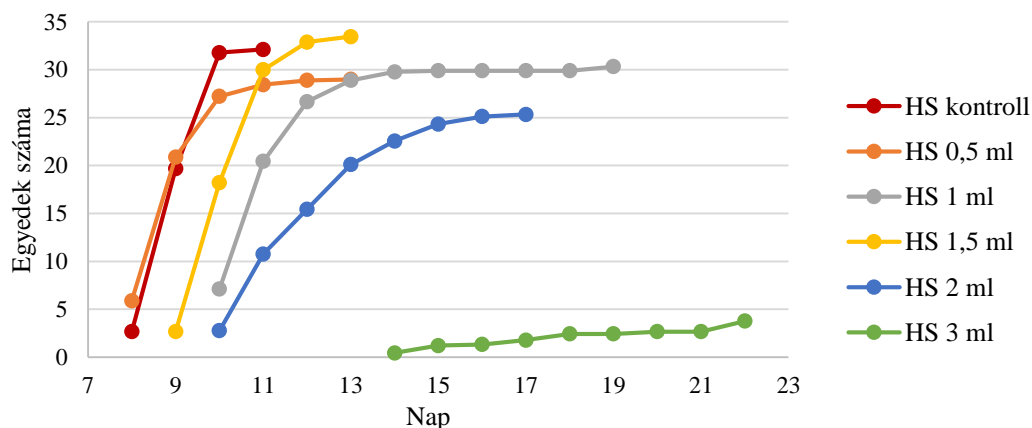
kísérletekben 5 napra az 1 és 3 ml, illetve 7 napra a 0,5 kivonatokkal szemben. Addig, a legjobb egyedfejlődési időt a 2 ml kivonat esetében sikerült mérni, ahol 4 nap volt a kontrollal megegyezően (29. ábra).

18. táblázat: A Rn-GTE hatása a *w^{m4h} Drosophila melanogaster* egyedfejlődésére

<i>Ribes nigrum</i> GTE	Bebábozódás			Metamorfózis		
	Egyed- fejlődési napok	Egyedszám	%	Egyed- fejlődési napok	Egyedszám	%
NM/Kontroll	4-8	24,8 ± 2,4	50	9-13	23,9 ± 3,4	48
NM/0,5 ml	5-15	27,8 ± 12,2	56 ↑	9-16	18,0 ± 10,8	36 ↓
NM/1 ml	5-9	23,5 ± 7,5	47 ↑	9-14	23,6 ± 6,7	47 ↑
NM/1,5 ml	6-7	26,6 ± 4,5	53 ↑	9-17	25,6 ± 6,1	51 ↑
NM/2 ml	6-10	28,8 ± 7,7	58 ↑	9-13	19,0 ± 9,7	38 ↓
NM/3 ml	5-9	18 ± 7,2	36 ↓	9-14	17,8 ± 6,0	36 ↓
HS/Kontroll	8-11	21,6 ± 7,0	43	11-16	15,5 ± 10,3	31
HS/0,5 ml	8-13	23,4 ± 5,1	47 ↑	12-18	22,3 ± 5,0	45 ↑
HS /1 ml	10-19	26,3 ± 7,9	53 ↑	14-20	25,9 ± 9,8	52 ↑
HS /1,5 ml	9-13	23,4 ± 3,4	47 ↑	13-18	20,7 ± 7,6	41 ↑
HS /2 ml	10-17	18,3 ± 13,7	37 ↓	14-21	16,4 ± 12,1	33 ↑
HS /3 ml	14-22	2,1 ± 1,8	4 ↓	18-24	4,7 ± 2,0	9 ↓

Magyarázat: NM = normál szénhidráttartalmú tápközeg; HS = magas szénhidráttartalmú tápközeg; nt = nem tesztelt.

Jelmagyarázat: zöld ↑ = növekedés; piros ↓ = csökkenés az egyedszámban.

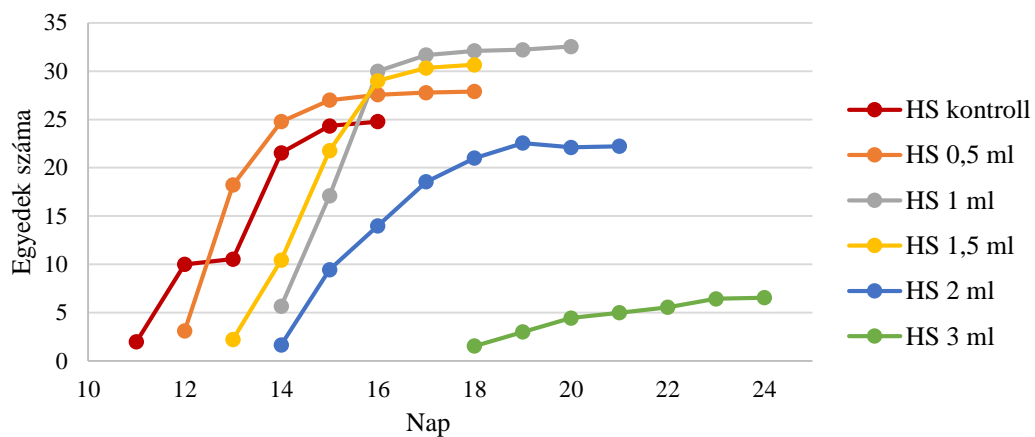


30. ábra: A lárva életképessége HS táptalajon különböző Rn-GTE koncentrációk mellett

A HS tartalmú tápközegben (18. táblázat) a Rn-GTE koncentrációk (0,5 és 1,5 -ml) hatására a bebábozódás mértéke növekedett (47, 47%), a kontroll mintához viszonyítva (43%). Jelentősebb növekedés az 1 ml kivonattal szemben mutatkozott meg (53%), míg a 2 ml kivonat esetében lecsökkent az egyedszáma a bebábozódó lárváknak, és 3 ml kivonat már a lárva életképességére gátló hatással volt. Jól megfigyelhető, hogy a bebábozódás idő a HS tápközeges kísérletekben az 1,5 ml kivonattal szemben volt a

legjobb 4 nappal a kontrollhoz viszonyítva (3 nap). Addig, a többi esetben 5, 7 és 9 nap volt 0,5, 2 és 1 ml kivonatokkal szemben (30. ábra).

A metamorfózis során a muslica egyedek száma a HS tartalmú táptalajon 1 ml kivonat mellett (52%) volt a leghatásosabb, a kontroll mintához képest (31%). Ugyanakkor, 0,5 és 1,5 ml GTE esetében az egyedek száma alacsonyabbnak bizonyult (45%, illetve 41%) az 1 ml-es adaghoz viszonyítva. A 2 ml kivonattal szemben a kikelt imágók száma a kontrolltól kicsivel volt magasabb (33%). Megfigyelhető, hogy a növekvő kivonat koncentrációval csökken az életképes egyedek száma, amelyet a 3 ml GTE vizsgálati eredmények is megerősítenek. A HS tartalmú táptalajon a metamorfózis időtartama 1,5 ml-él megegyező volt a kontroll mintával, mely 5 nap volt, míg a 0,5 és 1 ml GTE-vel szemben 6 nap volt és 2 ml GTE esetében 7 nap (31. ábra)

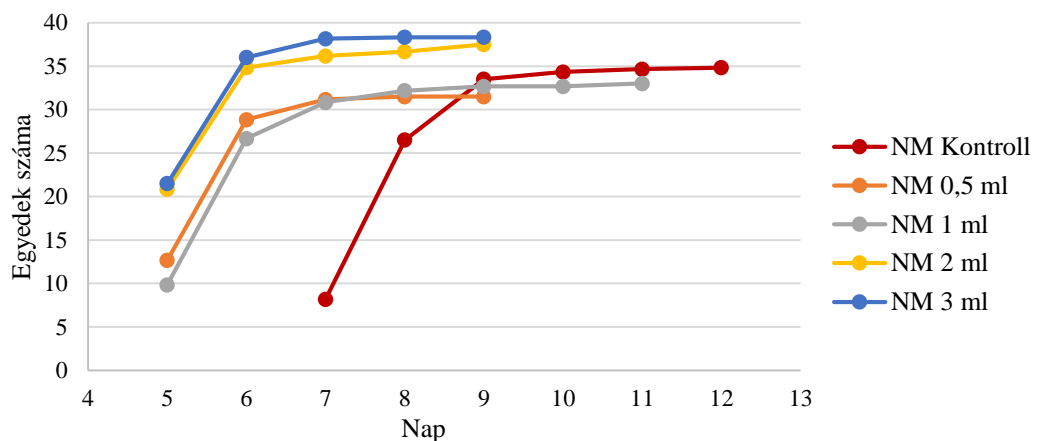


31. ábra: A kikelt imágók életképessége HS táptalajon különböző Rn-GTE koncentrációk mellett

Összegezve, a vizsgálati eredményeket elmondható, hogy a Rn-GTE koncentrációk jelentős hatással vannak a lárva állapotokra, és fontos szerepet játszanak a populációk szabályozásában. A magasabb koncentrációk általában negatív hatással vannak a lárva fejlődésére, míg az alacsonyabb koncentrációk esetén növekedést lehetett tapasztalni. Ezenkívül, a különböző koncentrációk eltérő hatásokat váltanak ki az ecetmuslica fejlődési ciklusaira, mintegy jelezve a Rn-GTE koncentráció-dependes hatását. Kedvezőbb eredménnyel a NM közegen az 1,5 ml volt a bebábozódásnál és a metamorfózisnál, de az utóbbi esetben hosszabb volt az egyedfejlődés idő. Ezzel szemben a HS közegen az 1 ml GTE volt eredményesebb hatása a bebábozódásra és a kikelt imágók esetében, de mindkét folyamat során növekedett az egyedfejlődés idő. Fontos továbbá megjegyezni, hogy a 3 ml Rn-GTE a HS tartalmú táptalajon a w^{m4h} ecetmuslica egyedfejlődés nem érte el a korai bábállapotot, így ennek a kivonat koncentrációnak

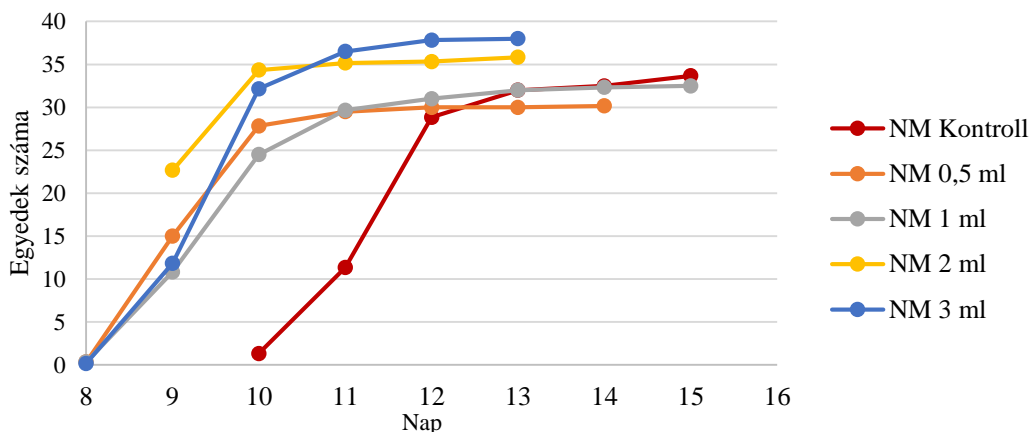
életképességére gátló hatása van. A NM és HS tápközeg között statisztikailag nem volt igazolható szignifikáns különbség (Tukey-féle HSD teszt: $p = 0,653$). Mindezek alapján kijelenthető, hogy a Rn-GTE feltehetőleg bifázisos hatással bír a muslica életképességét illetően.

A muslicával szemben vizsgált Rf-GTE által kiváltott életképességi hatásvizsgálatokat az alábbi 19. táblázatban ismertetem. A NM tartalmú tápközegen a bebábozódás értéke az első két koncentráció (0,5 és 1 ml) esetében lecsökkent (54, 48%), majd egy növekedést váltott ki (2 és 3 ml) a Rf-GTE mennyiségének a növelése (66, 69%) a kontroll mintához képest (57%). Rövidebb volt a bebábozódási idő a NM táptalajon, 2 és 3 ml GTE kapcsán viszonyítva a kontroll mintához (5 nap). Azonban a 0,5 ml-el megegyezett a kontroll napokkal, addig 1 ml-él már 6 nap volt (32. ábra).



32. ábra: A lárvák életképessége NM táptalajon különböző Rf-GTE koncentrációk mellett

A muslica egyedek metamorfózisa a NM tartalmú és 0,5 ml RF-GTE szemben változatlan volt (47%) a kontrollhoz képest, de az 1 ml kivonat esetében a muslica egyedszáma már enyhe növekedést mutatott (48%). Fontos megjegyezni, a Rf-GTE a NM tartalom mellett az imágók megjelenését a nagyobb (2 és 3 ml) koncentráció már növelte az egyedszámát (65, 52%) a kontrollhoz viszonyítva (47%). A metamorfózis során az egyedfejlődés 4 napig tartott a 2 ml kivonatnál, mely egyik legjobbnak számít, a kontrollhoz képest (5 nap). Ebben a 2 ml-es koncentrációban mondható a legjelentősebbnek az egyedszám növekedés és az imágókra ráeső legkisebb időtartam a vizsgálat kapcsán. A 3 ml GTE-nél 5 napra volt szüksége az imágóknak, valamint 0,5 és 1 ml-él 6-7 napra (33. ábra).



33. ábra: A kikelt imágók életképessége NM táptalajon különböző Rf-GTE koncentrációk mellett

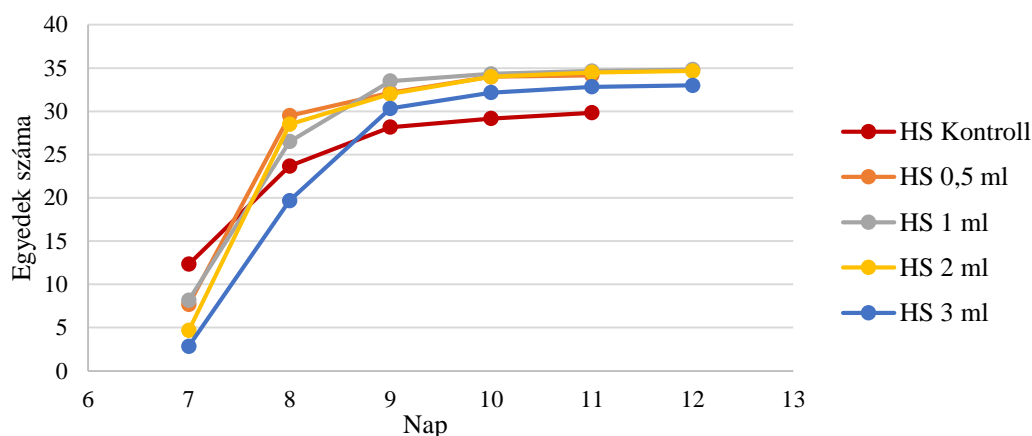
19. táblázat: A Rf-GTE hatása a w^{m4h} *Drosophila melanogaster* egyedfejlődésre

<i>Rubus fruticosus</i> GTE	Bebábozódás			Metamorfózis		
	Egyed- fejlődési napok	Egyedszám	%	Egyed- fejlődési napok	Egyedszám	%
NM/Kontroll	7-12	28,7 ± 1,2	57	10-15	23,3 ± 3,3	47
NM /0,5 ml	4-9	27,1 ± 0,5	54 ↓	8-14	23,3 ± 1,8	47
NM /1 ml	5-11	23,8 ± 1,5	48 ↓	8-15	24,1 ± 3,4	48 ↑
NM /2 ml	5-9	33,2 ± 3,8	66 ↑	9-13	32,7 ± 2,8	65 ↑
NM /3 ml	5-9	34,5 ± 3,7	69 ↑	8-13	26,1 ± 3,4	52 ↑
HS/Kontroll	7-11	24,6 ± 1,3	49	10-16	22,8 ± 2	46
HS /0,5 ml	7-11	27,5 ± 1,5	55 ↑	10-15	26,6 ± 2,6	53 ↑
HS /1 ml	7-12	28,7 ± 1,2	57 ↑	10-15	23,3 ± 3,3	47 ↑
HS /2 ml	7-12	28,1 ± 0,7	56 ↑	11-15	27,1 ± 3,3	54 ↑
HS /3 ml	7-12	25,1 ± 0,2	50 ↑	11-16	23,5 ± 1,0	47 ↑

Magyarázat: NM = normál szénhidráttartalmú tápközeg; HS = magas szénhidráttartalmú tápközeg; nt = nem tesztelt.
Jelmagyarázat: zöld ↑ = növekedés; piros ↓ = csökkenés az egyedszámban.

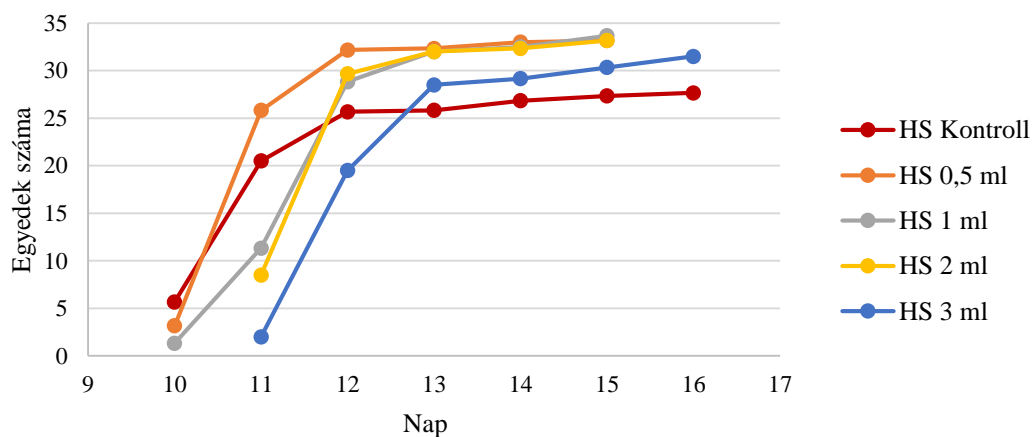
Összességében a jelentősebb hatással a kikelt imágók egyedfejlődésére a 2 ml Rf-GTE-nak volt, míg a harmadik stádiumú lárvákkal szemben a 3 ml kivonat bizonyult jobbnak. Ami mindenképpen arra utal, hogy NM táptalajos közegben a növekvő Rf-GTE tartalom emeli a muslica lárvák és imágók életképességét. A NM tartalmú vizsgálatokkal szemben, a HS tartalmú táptalajon a Rf-GTE (0,5, 1 és 2 ml) koncentrációja növelte a bábozódás mértékét (55, 57, 56%) a kontrollhoz viszonyítva (49%), de egy enyhe visszaesés figyelhető meg 3 ml (50%) kivonatonál. Megfigyelhető ez a jelenség is az antimikrobiális eredmények kapcsán is, ahol a dózis-függő hormézis hatásváltás tapasztalható a Rf-GTE esetében. Ugyanakkor, a tömény kivonat (3 ml) esetében, a bebábozódás mértéke (50%) megegyezőnek mondható a kontroll mintához képest (49%),

feltehetően a kivonat koncentráltabb alkalmazása már a muslica lárvák életképesség csökkenésére és egyben gátló hatásként is képes funkcionálni. A vizsgálat alatt 4 nap volt a 0,5 ml kivonattal szemben és HS tartalom mellett a bebábozódási idő, mely azonos volt a kontrollal, és 5 nap volt az 1, 2 és 3 ml esetében (34. ábra). A magas szénhidrát tartalom (19. táblázat) és a Rf-GTE koncentrációja nem tulajdonít negatív hatást az egyedfejlődés időtartamára.



34. *ábra:* A lárvák életképessége HS táptalajon különböző Rf-GTE koncentrációk mellett

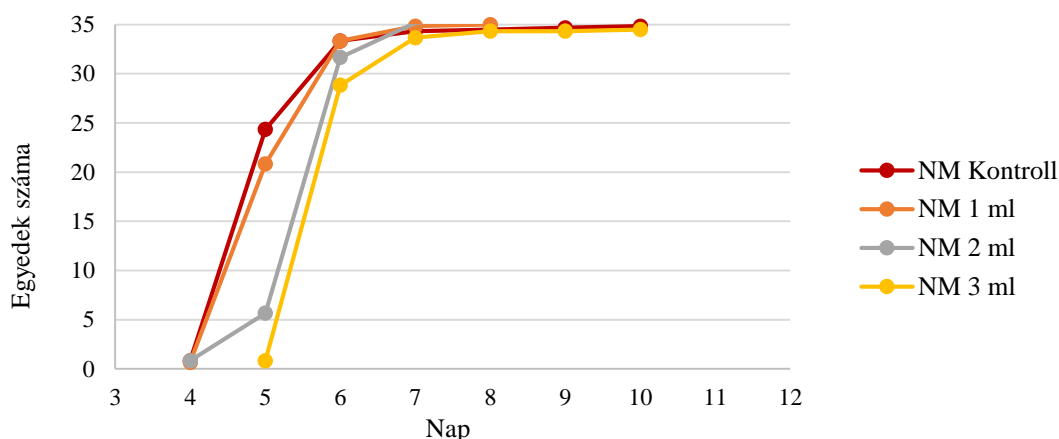
A metamorfózis során a HS étrend az imágók életképességének növelésére elsősorban 0,5 és 2 ml koncentrációk (53, 54%), majd másodsorban az 1 és 3 ml (47%) Rf-GTE voltak hatásosak a kontroll mintához képest (46%). Egyöntetűen elmondható, hogy a Rf-GTE bifázisos hatással rendelkezik az életképesség vizsgálata során. A HS étrend kapcsán, a kikelt imágók időtartama lecsökkent a Rf-GTE koncentrációjának növelésével 4 napra 2 ml és 5 napra 0,5, 1 és 3 ml-él, a kontrollhoz képest (6 nap) (35. ábra).



35. *ábra:* A kikelt imágók életképessége HS táptalajon különböző Rf-GTE koncentrációk mellett

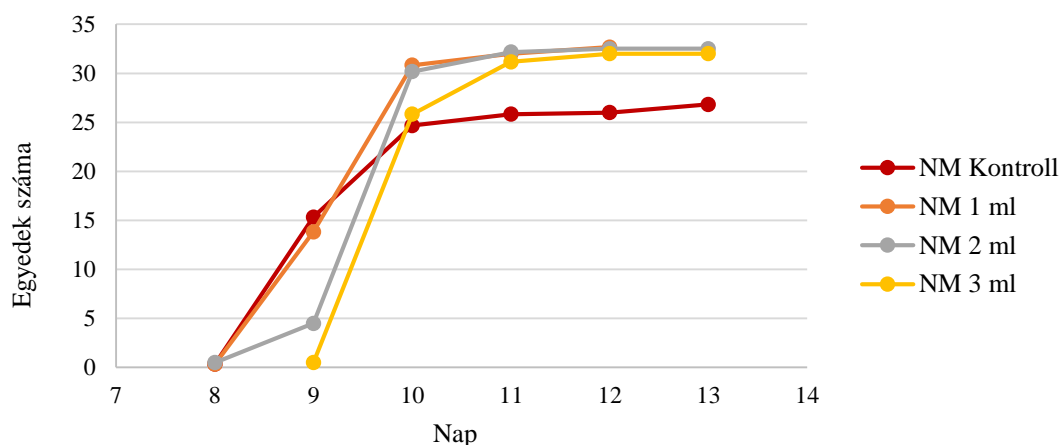
Összefoglalva az eredményeket, megállapítható, hogy a Rf-GTE koncentrációk jelentős hatással vannak az ecetmuslica bebábozódására és a kikelő imágók életképességére. Számottevő eredményt a NM étrend mellett a 2 és 3 ml ért el, míg a HS étrendnél 1 ml volt hatással a bebábozódásra és 2 ml a kikelt imágók számára. Fontos megemlíteni, hogy az előbb említett kivonat koncentrációk rendelkeznek a legjobb egyedfejlődési idővel. A Rf-GTE pozitívan támogatja a muslica életképességét, mindezek alapján megállapítható, hogy a kivonat támogató hatással van az egyedek fejlődésére, azon túlmenően, hogy jelentős gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus fitonutrienseket tartalmaz. A statisztikai elemzés alapján a normál és magas szénhidrátartalmú tápközegek között nem volt szignifikáns különbség kimutatható (Tukey-féle HSD teszt: $p = 0,927$).

Az ecetmuslica életképesség-vizsgálatokat a Vm-GTE kapcsán az alábbi 20. táblázat foglalja össze. A tenyésztési körülmények az előbb ismertett két kivonathoz hasonló voltak. A NM étrenden a lárvák bebábozódása csökkent a Vm-GTE (1 és 2 ml) mennyiségének a növelésével (50, 54%), viszonyítva kontrollhoz (56%) (36. ábra).



36. *ábra:* A lárvák életképessége NM táptalajon különböző Vm-GTE koncentrációk mellett

Ezzel szemben a nagyobb koncentráció (3 ml) GTE a kontrollal azonos bábállapot-kialakulást (56%) biztosít. A Vm-GTE 1 és 3 ml-es koncentrációi esetében az egyedek bebábozódási ideje 4, illetve 5 napra csökkent a kontrollmintához képest (6 nap). Érdekes módon 2 ml GTE koncentráció esetében 7 napra volt szükség (37. ábra).



37. ábra: A kikelt imágók életképessége NM táptalajon különböző Vm-GTE koncentrációk mellett

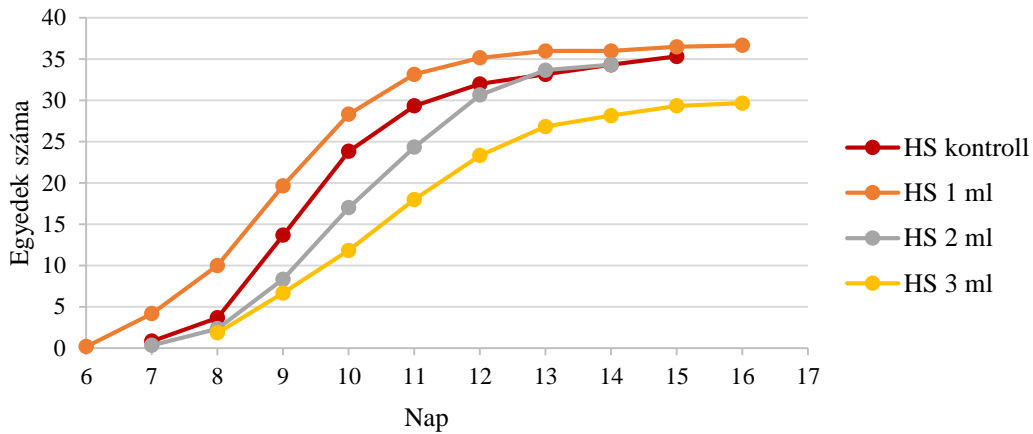
20. táblázat: A Vm-GTE hatása a *w^{m4h} Drosophila melanogaster* egyedfejlődésre

Vaccinium myrtillus GTE	Bebábozódás			Metamorfózis		
	Egyed-fejlődési napok	Egyedszám	%	Egyed-fejlődési napok	Egyedszám	%
NM/Kontroll	4-10	28,1 ± 1,5	56	8-13	19,8 ± 3,0	40
NM /0,5 ml	nt	nt	nt	nt	nt	nt
NM /1 ml	4-8	24,9 ± 2,9	50 ↓	8-12	21,9 ± 3,0	44 ↑
NM /2 ml	4-11	27,1 ± 1,2	54 ↓	8-13	22,1 ± 1,7	44 ↑
NM/3 ml	5-10	27,8 ± 1,8	56	9-13	24,3 ± 2,6	49 ↑
HS/Kontroll	7-15	22,9 ± 1,7	46	11-19	23,4 ± 2,1	47
HS /0,5 ml	nt	nt	nt	nt	nt	nt
HS /1 ml	6-16	25,1 ± 2,9	50 ↑	11-18	24,2 ± 1,9	48 ↑
HS /2 ml	7-14	18,9 ± 2,3	38 ↓	12-19	20,9 ± 2,4	42 ↓
HS /3 ml	8-16	19,5 ± 2,9	39 ↓	11-20	16,0 ± 4,2	32 ↓

Magyarázat: NM = normál szénhidráttartalmú tápközeg; HS = magas szénhidráttartalmú tápközeg; nt = nem tesztelt.
Jelmagyarázat: zöld ↑ = növekedés; piros ↓ = csökkenés az egyedszámban.

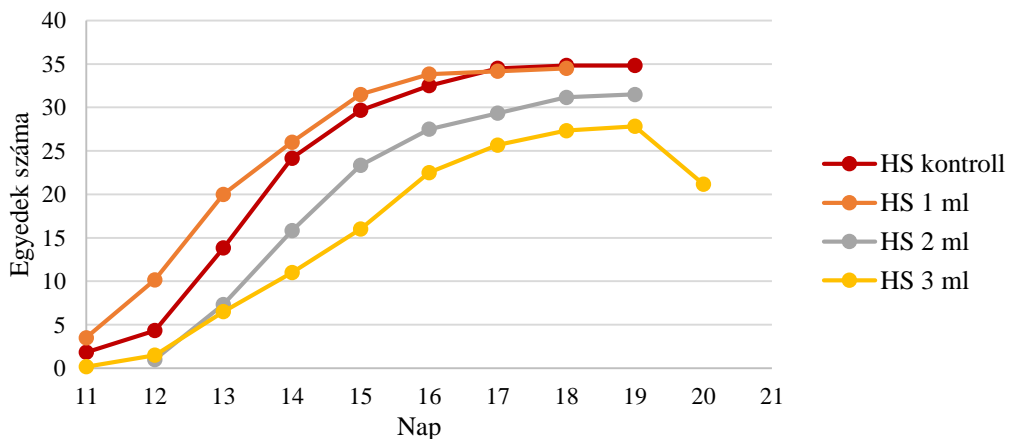
A metamorfózis során az NM tápközeges kísérletekben a Vm-GTE 3 ml-es koncentrációjánál emelkedett a kikelt imágók száma (49%). Ugyanakkor kisebb arányban (44,44%), de növekedés figyelhető meg az 1 és 2 ml-es koncentrációknál is a kontrollhoz képest (40%). Az egyedfejlődés során a kikelt imágók ideje 4 nap volt az 1 és 3 ml GTE-vel kiegészített vizsgálatok során, míg 5 nap a 2 ml-es koncentrációnál, amely megegyezett a kontrollmintával. Figyelemre méltó, hogy egyik esetben sem növelte meg az egyedfejlődési időt a GTE mennyiségének növelése, azaz az egyedfejlődési napok száma csak kisebb eltérést mutatott a kontrollhoz képest. A HS tartalmú tápközegben a bebábozódás százalékos aránya az 1 ml Vm-GTE esetében mutatott jelentősebb hatást (50%) a növekedésben a kontrollmintákhoz képest (46%). A vizsgálatok során a 2 és 3

ml kivonat koncentrációja gátló hatást fejtett ki a harmadik állapotú lárvákra (38%, 39%) a kontrollhoz képest (46%) (38. ábra).



38. ábra: A lárvák életképessége HS táptalajon különböző Vm-GTE koncentrációk mellett

Hasonló eredményeket mutattak a HS tartalmú táptalajon nevelt imágók egyedszámának változásai (20. táblázat), ahol enyhe növekedés volt megfigyelhető az 1 ml GTE esetében (48%) a kontrollhoz képest (47%). Továbbá, fontos megjegyezni, hogy a nagyobb koncentrációjú kivonatok (2 és 3 ml) enyhe gátló hatást mutattak az életképességi vizsgálat során. Az HS tápközegen a kikelt imágók fejlődési ideje 8 nap volt a 3 ml kivonat esetében, amely megegyezett a kontrollmintával. Ezzel szemben a fejlődési idő 7 nap volt a 2 ml, és 10 nap az 1 ml kivonat esetében. Az HS tápközegen az egyedek metamorfózisának időtartama 7 nap volt (39. ábra).



39. ábra: A kikelt imágók életképessége HS táptalajon különböző Vm-GTE koncentrációk mellett

Összegezve elmondható, hogy úgy a NM, mint a HS tartalmú táptalajon a különböző Vm-GTE koncentrációk alkalmazása nincs számottevően pozitív hatással a

bebábozódásra és a kikelt imágók egyedeire. Megfigyelhető, hogy a 3 ml kivonat eredményes hatással van a NM tartalmú tápközegen a tenyésztett imágók életképességére, míg a bebábozódásnál ez a hatás megegyező a kontrollal. Mindezen túl a HS tápközegen viszont mindkét életszakaszban enyhe életképességnövelő hatást figyelhető meg az 1 ml kivonat kapcsán. A statisztikai értékelés alapján a tápközeg típusa és a Vm-GTE kezelés között nem mutatkozott szignifikáns különbség (Tukey-féle HSD teszt: $p = 0,884$).

Az ecetmuslica életképesség vizsgálatok tükrében megállapítható, hogy a leghatékonyabb kivonat a Rf-GTE volt, majd ezt követte a Rn-GTE és a Vm-GTE. Úgy a NM, mint a HS tartalmú tápközegen az ecetmuslicák bebábozódását a Rf-GTE befolyásolta számottevően. A kikelt imágók életképességét hasonlóan növelték a Rn-GTE egyes koncentrációi, míg a Vm-GTE esetében e hatás elmaradt minkét szénhidrát tartalmú tenyészetek eseteiben. Tehát, elmondható, hogy a Rf-GTE-ban jelenlévő fitonutriensek hatással vannak az általunk előidézett diabetikus tünetek kezelésére. Az analitikai- és irodalmi adatok alátámasztják, hogy a HS tartalmú étrend mellett a tenyésztett ecetmuslicák, melyek Rf-GTE-vel voltak kiegészítve erős antidiabetikus élettani hatást képesek gyakorolni az ecetmuslicák egyedfejlődésben. Továbbá, a kivonatra jellemző a magas antioxidáns tartalom ugyancsak hozzájárulhat a kiváltott életképességi paraméterek eléréséhez az ecetmuslica egyedfejlődése során.

Az eredmények tükrében mindhárom tanulmányozott GTE a fitonutriensei révén képes koncentráció-függően befolyásolni az ecetmuslica egyedek életképességét, amely mindenképpen bizonyos nutritív hatást feltételez.

4.4. A rügykivonatok nutritív hatásának vizsgálata a zsenge pontyok kiegészítő táppal történő etetésében

Az előbbi részben az általam vizsgált GTE-k különböző hatást mutattak az ecetmuslica életképességére, kezdve a táplálékfelvételtől egészen a lárvaállapotig. Következésképpen, úgy döntöttem, hogy további vizsgálatokat végezzek ezeknek a hatásoknak az elemzésére a zsenge ponty esetében. Az állatok takarmányozásának célja, hogy fedezzék a szervezet számára az ATP hatékony termeléséhez szükséges makronutrienseket, valamint további mikronutriensek révén biztosítsák a szervezeteik működési hatékonyságát. Ennek értelmében egy célzott kiegészítő tápot állítottam össze a táplálkozó lárvaegyedek számára, GTE-k hozzáadásával (részletek az Anyag és Módszer fejezetben). A vizsgálat első lépésében a szaporítást követően, az embriógenézis

elkezdődik és a lárva egyedek kelés ideje 60-70 napfok. Ebben az időszakban a lárva növekszik és kialakulnak a fontos szervei, mint például a szív, az agy és a gerincvelő. A lárva táplálkozása a kezdetektől fogva fontos szerepet játszik a fejlődésükben. Először a lárva táplálékát az ikrában tárolt tápanyagok biztosítják, majd ahhoz, hogy tudjon növekedni, áttér a külső táplálék felvételére. A lárva táplálkozása természetes környezetben kisméretű zooplanktonokra épül. Viszont, mesterséges nevelési környezetben a sórák (*Artemia salina*) a legalkalmasabb táplálék. A ponty életképességének felmérése során a harmadik naptól kezdődő táplálkozási szakasz kritikus időszakot jelent a lárvafejlődés szempontjából. Bármilyen táplálkozási hiány ebben a fázisban gátolhatja a növekedést és potenciálisan a lárvák pusztulásához vezethet. Különösen fontos, hogy három nappal a kikelés után a lárvák megtöltik úszóhólyagjukat levegővel és elkezdnek táplálkozni (ahogy a 40. ábrán is látható). Ez a szakasz a fejlődésük kritikus pontját jelenti, ahol a megfelelő táplálkozás elengedhetetlen a túlélésükhöz és növekedésükhöz.



40. ábra: A ponty életképességének értékelése

Balról jobbra: (A) az embriogenezis során befejeződött lárvák láthatók; (B) a nem táplálkozó lárva a kelést követő 1. napon; (C) a táplálkozó lárva a kelést követő 3. napon, zöld nyíl jelzi az úszóhólyagot (ALEYA és mtsai., 2023).

Ebben az időszakban a pontylárva anyagcseréje intenzíven fog ATP-t termelni, felhasználva az elfogyasztott táplálékból származó tápanyagokat és a levegőből származó oxigént. Az ATP termelés fontos szerepet játszik ebben a folyamatban, mivel az energiát biztosítja a sejtek számára a növekedéshez és a fejlődéshez. A pontylárva táplálkozása és légzése összefügg egymással, és mindkettő elengedhetetlen a megfelelő fejlődéshez.

A vizsgálat célja az volt, hogy összehasonlítsam a sórák táplálkozási hatékonyságát a GTE-kkel kiegészített táppal. A kísérlet során párhuzam állítható fel, a termelődött ATP és a lárva testhossz-növekedés értékelése között a harmadik naptól kezdődően. Az adatok elemzése során megállapítást nyert, hogy a megtermékenyített ikrák és a nem táplálkozó lárva szakaszokban a testhossz a magas ATP szint mellett megkétszereződik. A kikelés után 3 nappal a táplálkozó lárva szakaszában jelentős különbségek mutatkoztak az ATP-hozamok tekintetében a csoportok között. Mivel az

ATP mérésekre pontosan 1 órával etetés után kellett sor kerülnie a minták összehasonlíthatósága és a kísérlet reprodukálhatósága érdekében (figyelembe véve az ATP stabilitását és a napszakos etetési ciklusok által befolyásolt ATP-szintváltozásokat), a mintavételezés valamint a mérési folyamat időigénye miatt, mintánként 10 egyed vizsgálatára volt lehetőségem. A hal-laboratórium és az ATP mérés helyének közelsége, illetve több személy bevonása a mintavételbe a jövőben jelentősen megkönnyítheti a módszer többszörös replikálását és szélesebb körű alkalmazását. Bár a lárvák testméretei összehasonlíthatóak voltak, az ATP-hozamokban jelentős eltérések voltak (21. táblázat).

21. táblázat: A GTE-k táplálkozási hatása a ponty lárvákra

Lárvafejlődés napokban	Mért értékek	Kiegészítőtáp			
		<i>Ribes nigrum</i> GTE	<i>Rubus fruticosus</i> GTE	<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE	<i>Artemia salina</i>
Ikrák (0. nap)	Testméret (mm)	1,95 ±0,05			
	ATP (pg/10 egyed)	77,29			
Nem táplálkozó lárvák (1. nap)	Testméret (mm)	5,84 ±0,10			
	ATP (pg/10 egyed)	51,71			
Táplálkozó lárvák (3. nap)	Testméret (mm)	7,21 ±0,09			
	ATP (pg/10 egyed)	128,02	168,32	247,16	156,92
Táplálkozó lárvák (5. nap)	Testméret (mm)	7,21 ±0,09			
	ATP (pg/10 egyed)	292,03	37,52	285,19	99,37
Táplálkozó lárvák (7. nap)	Testméret (mm)	7,77 ±0,16			8,74 ±0,09
	ATP (pg/10 egyed)	244,12	189,11	173,14	240,83

Megjegyzés: *Artemia salina* (sórák)-kontrollcsoport. Mért paraméterek: testméret (mm), ATP-tartalom (pg).

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az ATP-termelés hatékonyabb lehet a táplálék változatosságával, és ezáltal befolyásolhatja a lárvák növekedését és fejlődését. Fontos tehát figyelembe venni a táplálék típusát és változatosságát a lárvák optimális fejlődése érdekében. Az ATP hozamának változása befolyásolhatja a lárvák általános energia-anyagcseréjét és növekedési potenciálját, hangsúlyozva annak lehetőségét, hogy megértsük a táplálkozási tulajdonságokat és a különböző tápok hatásait az akvakultúra gyakorlatában. Az eredmények tükrében e kritikus fejlődési szakaszban a Vm-GTE által termelt ATP tartalom volt a legmagasabb (58%) meghaladva a sórákkal etetett kontrollcsoportot (21. táblázat). A Rf-GTE esetében egy kisebb növekedés (7%) figyelhető meg az ATP termelésben, ellenben a Rn-GTE erős csökkenést váltott ki az ATP termelésben (-18%) a kontrollhoz viszonyítva. A három GTE közül a legmagasabb hozamot a Vm-GTE produkálta, majd ezt követte a Rn-GTE. Megfigyelhető, hogy a Rn-GTE esetében az ATP tartalom a Vm-GTE-hez képest felére csökkent. Azonban a sórák és a Rn-GTE specifikus ATP értékek megegyezőnek mondhatók egy kis eltéréssel

Öt nappal az első levegővételt követően az értékelés során azt tapasztaltam, hogy a lárvák mérete gyakorlatilag változatlan maradt (21. táblázat: lárvák etetése 5. nap).

Viszont, ebben a ciklusban a GTE-ok nagyon változatos ATP hozamot mutattak a mérések során. Azonban jól megfigyelhető, hogy a kontrollcsoporton belül ATP tartalom kritikusan lecsökken a többihez képest (a 3 és 7 napokhoz viszonyítva). A GTE-al kiegészített tápok közül a Rn-GTE (194%) és a Vm-GTE (187%) hatására jelentősen megnőtt az ATP-koncentráció a lárvákban. Ezzel szemben a Rf-GTE-vel táplált lárvák ATP tartalma láthatóan lecsökkent (-62%) a kontrollcsoportéhoz képest.

Hét nappal a kikelés után hasonló eredményt adott mindhárom GTE-vel kiegészített haltáp a lárvák testhosszában, amely a kontrollcsoportéhoz képest rövidebbnek bizonyultak (21. táblázat). Azonban, a lárvák ATP tartalma az Rn-GTE és a kontrollcsoport között számottevő különbségek nem mutatkozott meg. Megfigyelhető, hogy táplálkozó lárva ATP érték ebben az egy esetben érte el a kontroll minta ATP szintjét, míg a Rf-GTE (-21%) és Vm-GTE (-28%) tartalmak lecsökkentek. Az is jól megfigyelhető, miközben a zsenge táplálkozó ivadék táplálásánál (3 naptól kezdődően) a Rn-GTE-nak volt a leggyengébb hatása az ATP tartalomra, addig az idősebb lárváknál egyik legjobbnak bizonyult. Kilenc nappal a kelés után kizárólag a sórákkal etetett lárvák maradtak életben. Összességében az ATP-szint érzékeny és gyors markernek bizonyult a táplálkozási hatások korai szakaszban történő kimutatására, ugyanakkor önmagában nem alkalmas a hosszú távú hatások értékelésére, ezért a jövőbeni vizsgálatoknak ki kell terjedniük a növekedési ütem, túlélési arány és egészségi állapot monitorozására is.

A fenti eredmények azt mutatják, hogy a kikelés utáni harmadik nappal az Vm-GTE kiváló ATP-termelő képességgel mutatott, hasonlóan a kontrollként alkalmazott sórákkal táplált lárvákhoz. Az ötödik napon azonban csak az Rn-GTE és a Vm-GTE-vel táplált lárvákban volt megfigyelhető az ATP növekedése. A hetedik napon pedig csak a Rn-GTE-vel táplált lárvákban volt enyhe az ATP-tartalom emelkedése.

A vizsgálat egyik legfontosabb eredménye, hogy egy újszerű, a szakirodalomban eddig nem dokumentált módszerrel sikerült mérni a pontyivadékok ATP-tartalmának változását, ami új lehetőségeket nyithat az élettani kutatások terén. Ez a mérési technika lehetővé tette annak pontosabb nyomon követését, hogy a különböző táplálékforrások, köztük a GTE, milyen hatással vannak a sejtek energiaszintjére. Az eredmények azt mutatták, hogy a GTE pozitívan befolyásolja az ATP-koncentráció növekedését a lárvafejlődés során, ami igazolja tápláló tulajdonságait. Ugyanakkor a lárvák érzékenysége minden életciklusban megfigyelhető volt. Mivel az ATP a sejtek energiájának fő forrása, elengedhetetlen a normális sejt működéshez. A vizsgálat során kiderült, hogy a különböző GTE-k standard sórákkal való helyettesítése növelte az ATP-

szinteket a pontylárvákban. Ez arra utal, hogy a GTE-k hatékonyan hozzájárulhatnak a frissen kikelt pontylárvák tápanyagellátásához, és a haltápban található tápanyagok jól hasznosulnak a sejtek energiatermelésében. A kutatás eredményei alapján megállapítható, hogy a GTE-k potenciális alternatív táplálékforrásként szolgálhatnak a pontyok korai fejlődési szakaszában. Ez a felfedezés különösen fontos lehet a haltenyésztés számára, mivel hozzájárulhat a haltápok összetételének optimalizálásához, elősegítve ezzel a pontyok egészséges fejlődését és növekedését.

A *Drosophila* és a ponty lárvák vizsgálataival a 3. célkitűzés teljesült, mivel ezekben sikerült feltárni a GTE-k táplálkozástani és anyagcsere-hatásait, valamint a fejlődésre gyakorolt szerepüket.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A disszertációm alapját képezte az eddig ismeretlen fekete ribizli (Rn: *Ribes nigrum*), szeder (Rf: *Rubus fruticosus* L.) és fekete áfonya (Vm: *Vaccinium myrtillus* L.) rügyhajtások beltartalmi értékeinek vizsgálata továbbá az antimikrobiális és élettani hatásainak tanulmányozása, és a jelentősebb eredményeket a következőkben fogom ismertetni.

A GTE-k jelentős, de eltérő bioaktív összetevői hasonló élettani hatásokkal rendelkeznek

A vizsgált növényi kivonatokat részletesen vizsgáltam a kémiai összetételük tekintetében, hogy teljes képet kapjak róluk. A GTE-k kvalitatív és kvantitatív elemzését is elvégeztem e vizsgálat során. Kimagasló számban a Rn-GTE friss növényi rügyhajtásból kinyert extraktumból 139 fitonutriens sikerült beazonosítani, a Rf-GTE-ből 95-et és a Vm-GTE-ből 85-t kémiai összetevőt. A Rn-GTE a legszámosabb polifenolt tartalmazza a GTE-k közül, összesen 84 különböző flavonoidot és 23 nem-flavonoid típusú polifenolt. A Rf-GTE kevesebb kémiai összetevőt tartalmaz, de közülük főleg 36 flavonoidok és 25 nem-flavonoid típusú, míg a Vm-GTE 47 flavonoidot, de kevesebb 8 nem-flavonoid típusú polifenolt tartalmaz. A három különböző GTE-kben aminosavak, karbonsavak, vitaminok és egyéb vegyületek is megtalálhatók, de az összetételük eltér egymástól. Mindhárom rügy-extraktumból sikerült olyan új komponenseket azonosítani, amelyek eddig nem voltak ismertek a növény levelében, a termésében és az adott növényi fajon belül. A GTE-k tanulmányozása során a minőségi azonosításban összesen 48 nem-flavonoid és 133 flavonoid komponenst sikerült beazonosítani. Az eredmények érdekes betekintést nyújtottak a lehetséges egészségügyi előnyökre vonatkozóan.

A Rn-GTE fitonutriens összetétele arra utal, hogy a kivonat főként gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus hatásokkal rendelkezhet, de kisebb arányban tumorprevenációs, neuroprotektív, szív- és érrendszeri védő, valamint elhízás elleni hatások is megfigyelhetők. Ezek a tulajdonságok jól összhangban állnak a szakirodalmi adatokkal, amelyek több azonosított vegyületnél igazolták ezeket a hatásokat. Ezt támasztják alá többek között azok a vizsgálatok is, amelyek az acacetin, apigenin, rutin és luteolin gyulladáscsökkentő hatásait írták le. CHANG és mtsai., (2017) vizsgálták a szívizominfarktust, amely során az acacetin adagolással a kísérleti patkányok

szívizomsejtjeinek apoptózisát csökkentette. Az acacetin anti-inflammatorikus hatását megfigyelték tüdő sérülések (CHANG és mtsai., 2024), és májkárosodás (LIOU és mtsai., 2022) kapcsán. Ugyanakkor, egy másik tanulmány az apigenin erős gyulladásgátló aktivitásáról számolt be, azáltal, hogy a nitrogén-monoxidtermelést, az indukálható-nitrogén-monoxid-szintázt és a ciklooxygenáz-2-t gátolta (CHOI és mtsai., 2014). Az anti-inflammatorikus fitonutriensek között említeni kell a rutint (rutozid) is, amelynek egyik metabolitja (3,4-dihidroxitoluol) hatékonyan gátolja az inflammatorikus NF- κ B jelátviteli útvonalat a lipopoliszacharidok által aktivált makrofágokban (SU és mtsai., 2014). A luteolin egy másik fitonutriens, amelynek anti-inflammatorikus hatását sikerült bizonyítani, hiszen az NF- κ B jelátviteli útvonal gátlásával akadályozza a proinflammatorikus citokinek (IL-1 β és IL-18) szintézisét (BLEVINS és mtsai., 2022).

Az antioxidáns tulajdonságok közül ki kell emelni a hiperozidot és a kvercetin. XING és mtsai., (2011) arról számoltak be, hogy a hiperozid flavonoid tovább fokozza a sejt antioxidáns védelmi rendszerét, úgy, hogy a hem oxigenáz-1 aktivitást növeli és fokozza az expresszióját. A kvercetin és származékainak az *in vitro*, illetve *in vivo* antioxidáns hatásai is jól ismertek (XU és mtsai., 2019).

Az antidiabetikus komponensek közül több vegyület is fontos szerepet játszik. PANDA és KAR, (2007) tanulmánya során arról számol be, hogy a kvercetin-3-O-glükozid antidiabetikus szer az inzulinstimuláló és/vagy szabadgyökfogó tulajdonságain keresztül. A myricetin antidiabetikus hatását is részletesen tanulmányozták (LI és mtsai., 2017). A trigonellin egy alkaloid típusú fitonutriens, amely egy NAD⁺ prekursor (MEMBREZ és mtsai., 2024), és az antidiabetikus szerepe a vércukorszint szabályozásával kapcsolatos (van DIJK és mtsai., 2009). Továbbá az antidiabetikus hatás kapcsán említeni szükséges a 4-hidroxi-iso-leucin aminosav jelenlétét, amelynek inzulin rezisztencia csökkentő hatása bizonyított (GAO és mtsai., 2015), de a makrofág specifikus inflammatorikus hatást is enyhíti a metabolikus szindróma kapcsán (YANG és mtsai., 2021).

A tumor prevenciót támogató fitonutriensek közül említhető az isorhamnetin flavonoid, amelyről kimutatták, hogy jelentősen fokozhatja a kapecitabin gyomorrák elleni hatását (MANU és mtsai., 2015). Ugyanakkor, kimutatták, hogy a terpén családba tartozó geranylgeraniol szerepet játszhat az U937 leukémia sejtek apoptózisának indukálásában (MASUDA és mtsai., 2006).

A Rn-GTE-ben megtalálható neuroprotektív hatással rendelkező fitonutriensek közül a kempferol és a kinurénsav emelhetők ki. CHENG és mtsai., (2018) ígéretes

hatóanyagoknak vélik a kempferolt, mert az egerek agyában kiváltott gyulladási válaszokat enyhíti, azáltal, hogy csökkenti a HMGB1 felszabadulását és szabályozza a TLR4/MyD88 gyulladási útvonalakat az agyban. A kinurénsav egy fontos fitonutriens a Rn-GTE-nek, és anti-neuroinflammatorikus szerepe viszonylag jól ismert (YAN és mtsai., 2023).

Szív-, és érrendszer védő hatással rendelkező növényi komponensek közül a rutin emelhető ki, melyet antitrombotikus és véralvadásgátló szerként is használnak. CHOI és mtsai., (2015) kísérletük során kimutatták, hogy a rutin gátolja a trombózt és az akut thromboemboliát egerekben, így képes a szív-, és érrendszeri betegségek kezelésére, azáltal, hogy véralvadásgátló és vérlemezke-gátló tulajdonságot mutat.

Az elhízás elleni komponensek közül a kempferol emelhető ki, amelyről bizonyították, hogy zebrahalban gátolja a lipid felhalmozódást a zsírszövetekben, és ilyenképpen alkalmas lehet a lipid-metabolizmus szabályozására (LEE és mtsai., 2015).

A Rn-GTE fitonutriens profilja alapján prediktálhatóak az anti-inflammatorikus és antidiabetikus élettani hatások. Saját kísérletes eredményeink is megerősítették a Rn-GTE prevenció jellegét: patkány modellen indukált neuroinflammáció során a hipokampális mikroglia morfológiájában és a szérumban specifikus TNF- α szintjében egyaránt gyulladáscsökkentő hatást figyeltünk meg (TÉGLÁS és mtsai., 2023).

Az irodalmi adatok mellett fontos kiemelni a Rn-GTE egyes domináns komponenseit is, amelyek mennyiségüknél fogva különös jelentőséggel bírhatnak.

A Rn-GTE rendelkezik a legalacsonyabb *in vitro* antioxidáns kapacitással. A Rn-GTE esetében három polifenolnak van jelentős reprezentációja kvalitatív mérés kapcsán. Az első ilyen vegyület a kávéssav, melynek megnövekedett mennyisége arra utal, hogy a Rn-GTE jelentős gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatással rendelkezhet (KIRMIZIBEKMEZ és mtsai., 2019; SYMES és mtsai., 2018). Szorosan követi a rutin, amely a kávéssav után a második legelterjedtebb flavonoid, melyről kimutatták, hogy nemcsak gyulladáscsökkentő, hanem antidiabetikus és neuroprotektív hatással is rendelkezik (GHORBANI, 2017). A harmadik legnagyobb mennyiségben előforduló vegyület a hiperozid, mely számos egészségügyi hatással rendelkezik, mint gyulladásgátló (LEE és mtsai., 1993), antidepresszáns (ZHENG és mtsai., 2012), neuroprotektív (ZHANG és mtsai., 2011), antidiabetikus (VERMA és mtsai., 2013), tumor ellenes (LI és mtsai., 2014) tulajdonságokkal rendelkezik.

A szeder specifikus Rf-GTE esetében a fitonutriens összetétel szintén többféle élettani hatásra utal. Leginkább a gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus

hatások emelhetők ki, de jelen vannak a tumorelles, idegrendszert védő, kardioprotektív, elhízás elleni és antibakteriális tulajdonságok is. Az irodalmi adatok alátámasztják, hogy az azonosított összetevők jelentős része valóban ilyen hatásokkal bír.

Számos gyulladáscsökkentő összetevőt azonosítottam be ebben a kivonatban, de ezek közül is egyik legfontosabb a flavonoidok csoportjába tartozó luteolin. Több kutatás igazolta a luteolin gyulladást gátló, rákellenes és neuroprotektív tulajdonságait (CAPORALI és mtsai., 2022). FAN és mtsai., (2018), arról számoltak be, hogy különböző egerekben kiváltott gyulladást követően, a luteolin gyulladáscsökkentő hatású és fájdalomcsillapító tulajdonsággal rendelkezik. Egy másik kísérletben igazolták, hogy a luteolin gyulladáscsökkentő tulajdonságai révén megakadályozza az irinotecan által kiváltott bélnyálkahártya-gyulladást egerekben (BOEING és mtsai., 2020). A luteolin anti-inflammatorikus hatásán túl, mindenképpen szólni kell a tumor-ellenes sajátosságairól is, amely kapcsán igazolták, hogy a luteolin gátolja az IGF-1 által közvetített PI3K/Akt aktivációt (TUORKEY, 2016). A prosztatarák CSC (cancer stem cell)-k gátlására is képes a luteolin és ezért alkalmazása új terápiás stratégiává vált (Han és mtsai., 2018).

Az antioxidáns hatásokban az astragalin és a chrysoeriol játszanak fontos szerepet. Az astragalin képes modulálni az oxidatív stresszre reagáló MAPK jelátviteli útvonalat (CHO és mtsai., 2014). Az asztragalinnak az oxidatív stresszre gyakorolt javító hatását a mitokondriális jelátviteli útvonalra vonatkozóan kimutatták varicocelizált patkányok esetében (KARNA és mtsai, 2019). Ugyanakkor, a flavonoid csoporthoz tartozó chrysoeriol vegyület is erős antioxidáns kapacitással rendelkezik, azáltal, hogy TOFIGHI és mtsai., (2014) megerősítették, hogy a szabad gyökfogó aktivitása nagyobb volt, mint a többi tiszta vegyületé, ami összehasonlítható az E-vitaminnal és a butil-hidroxitoluolal.

Az antidiabetikus tulajdonságokat szintén több vegyület képviseli. ORŠOLIĆ és mtsai., (2011) vizsgálata során megállapították, hogy a naringeninben gazdag tápot fogyasztó diabéteszes egerek viszonylag védettek lehetnek a cukorbetegség hosszú távú szövődményeitől a csökkent oxidatív stressz következtében. Ennek alapján az egész szervezet diabétesz elleni védelemmel rendelkezhet e vegyület jelenlétében. Az antidiabetikus hatás kapcsán fontos megemlíteni az izorhamnetint és glikozilált származékait, mivel különböző jelátviteli utakon keresztül elősegítik a glükózfelvételt az izomrostokban (JIANG és mtsai, 2019).

A tumorprevenció hatásokban kvercetin-származékok, rutin és luteolin játszanak szerepet. Közöttük is előfordulnak kvercetinek és glikolizált származékaik, amelyek

tumor ellenes hatását több kísérleti megfigyelés is igazolja (NEAMTU és mtsai., 2022). A tumorpreventív hatású fitonutriensek között a Rf-GTE-ben is megtalálható a rutin és a luteolin.

A neuroprotektív hatások közül az ellagsav, a procianidinek és a pinocembrin emelhetők ki. Az egyik ilyen összetevő az ellagsav, amelyről kimutatták, hogy neuroprotektív tulajdonságokkal bír a Parkinson-kór 6-hidroxidopamin-indukált patkánymodelljében: mérsékli az apoptózist és az oxidatív stresszt, valamint antioxidáns tulajdonsága révén javítja a monoamin-oxidáz B aktivitását, fokozza a nukleáris faktor (eritroid eredetű 2)-szerű 2 és a hem-oxigenáz-1 szintjét (BALUCHNEJADMOJARAD és mtsai, 2017). Emellett a Rf-GTE procianidineket is tartalmaz, amelyek neuroprotektív hatását több kísérleti megfigyelés igazolta (CHEN és mtsai, 2022). A pinocembrin egy olyan fitonutriens, amely szerepet játszik a hipoxia indukálta neuroinflammáció gátlásában (GONG és mtsai., 2020).

Az elhízás elleni aktivitásokhoz a klorogénsav és a katechinek járulnak hozzá. Egy ilyen vegyület a klorogénsav. CHO és mtsai. (2010) kutatásai során klorogénsavval dúsított, magas zsírtartalmú táplálékkal etették az egereket, és arra a következtetésre jutottak, hogy a klorogénsav kedvezően befolyásolja a testsúlyt, a lipidanyagcserét és az elhízással összefüggő hormonok szintjét. CRESPIY és WILLIAMSON (2004) beszámoltak a katechinek hosszú távú fogyasztásának előnyeiről, amelyek segíthetnek a magas zsírtartalmú étrend által kiváltott elhízás visszaszorításában. Ezen kívül kedvezően hatnak a 2-es típusú cukorbetegség kialakulásában szerepet játszó lipid- és glükózanyagcsere-zavarokra, valamint csökkenthetik a szív- és érrendszeri betegségek kockázatát.

A szív- és érrendszeri védő hatásokban az astragalín szerepe figyelemre méltó. Egy korábbi tanulmány szerint az astragalín kezelés hatásos lehet az ischaemia/reperfúziós sérülés során. Csökkenti a szívizom oxidatív károsodását, mérsékli a gyulladást, valamint alacsonyabb szintű szívizomsejt-elhalást eredményez (QU és mtsai., 2016).

Az antibakteriális komponensek közül a 3-O-metil-ellagsav emelhető ki. KUMAR és mtsai. (2014) vizsgálatai szerint a 3-O-metil-ellagsav számottevő gátló hatást fejt ki a *Staphylococcus aureus* és a meticillinrezisztens *S. aureus* törzsekkel szemben, ami új lehetőséget kínálhat a humán antibakteriális kezelésekben.

Ezt a felállást alátámasztják az *in vitro* körülmények között végzett vizsgálati eredmények, ahol az antioxidáns kapacitás értékek alapján (22. táblázat) a második helyet foglalja el a Rf-GTE. A szalicilsav az első vegyület, amely nagyobb mennyiségben van

jelen a Rf-GTE-ban, mint fitokémiai anyag. létfontosságú szerepe a kórokozók ellen van, gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatással bíró fenolsav (RANAJELOVIĆ és mtsai., 2015). Második helyen két flavonoid vegyület helyezkedik el: az apigenin és a rutin. Az apigenin egy jól tanulmányozott vegyület, melyről igazolták, hogy jelentős gyulladáscsökkentő (GINWALA és mtsai. 2019), antioxidáns (KIM és mtsai., 2019), neuroprotektív (NABAVI és mtsai., 2018) és tumor megelőző (YAN és mtsai, 2017) hatásokkal rendelkezik. Míg a rutinról kimutatták, hogy nemcsak gyulladáscsökkentő és antioxidáns (GAUTAM és mtsai., 2016) hanem antidiabetikus (PRINCE és mtsai., 2006) hatással is rendelkezik.

22. táblázat: A GTE antioxidáns értékeinek csökkenő sorrendje

GTE minta	Összes polifenol-TPC (mg GAE/ 100 ml)	Összes flavonoid - FRAP (mg ASA/100 ml)	DPPH antioxidáns aktivitás, %
<i>Ribes nigrum</i>	3	3	3
<i>Rubus fruticosus</i>	2	2	1
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1	1	2

A Vm-GTE kémiai összetétele alapján elsősorban antioxidáns, anti-inflammatorikus és antidiabetikus hatások várhatók, ugyanakkor kisebb mértékben tumorelles, kardiovaszkuláris védő, neuroprotektív és obezitás elleni aktivitás is kimutatható lehet. Ezek az eredmények jól illeszkednek azokhoz a korábbi vizsgálatokhoz, amelyek az egyes azonosított fitonutriensek hasonló biológiai szerepét írták le.

Az antioxidáns tulajdonságokhoz több flavonoid is hozzájárul. A pruninról (naringenin-7-O-glükózid) kimutatták, hogy védelmet nyújt a doxorubicin által kiváltott oxidatív károsodás ellen, és gátolja a szívizomsejtek elhalását (HAN és mtsai., 2012). Az ampelopsin szintén jelentős antioxidáns hatással bír (HOU és mtsai., 2014), továbbá tumorelles aktivitást (TULI és mtsai., 2022) és az inzulinrezisztencia csökkentését is igazolták (ZHOU és mtsai., 2016). Az avikularin antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatását több vizsgálat is igazolta (ZHANG és mtsai., 2020), amelynek hatásmechanizmusában a TLR4/MyD88/NF- κ B és az Nrf2/HO-1 jelátviteli útvonalak közreműködnek (SHI és mtsai., 2023).

Az oxidatív stressz mérséklésén túl a kivonat több komponense gyulladáscsökkentő hatással is rendelkezik. Közülük kiemelhető a 4-kumársav, amelynek aktivitását akut bélgyulladásos modellekben mutatták ki (LUCERI és mtsai., 2004). A cianidin és származékai szintén fontos összetevők, amelyek csökkentik a TNF α és az IL-6 expresszióját, továbbá mérséklék az inzulinrezisztenciát (GUO és mtsai., 2012). A

hirsutrin, egy kvercetin-származék, gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus tulajdonságokkal egyaránt rendelkezik (BHUIA és mtsai., 2023). A laricitrin gyulladáscsökkentő aktivitását is kimutatták (LEE és mtsai., 2023), emellett daganatellenes hatásai is ismertek (CHANG és mtsai., 2016). A malvidin és a peonidinek további antioxidáns és gyulladáscsökkentő vegyületek, amelyek jelentőségét több kísérlet is alátámasztja (FAGUNDES és mtsai., 2021; HAO és mtsai., 2023).

Az anyagcsere-betegségek elleni hatásokban is több vegyület vesz részt. Az antidiabetikus hatások közül kiemelkedik az abszcizinsav, amelyet az egyik legismertebb terpénsavként tartanak számon. Korábbi vizsgálatok szerint enyhítheti a II-es típusú cukorbetegség tüneteit, és hatásmechanizmusa hasonlóságot mutat a tiazolidindionokkal (BASSAGANYA-RIRA és mtsai., 2010). Ezen kívül fekete áfonyakivonatok esetében is kimutatták, hogy antioxidáns és antidiabetikus hatások mellett génexpressziós változásokat is képesek kiváltani (NEAMTU és mtsai., 2020).

A tumorellenes aktivitást több összetevő is támogatja. Az avikularin hatékonyságát például emberi gyomorrák kezelésében igazolták (GUO és mtsai., 2018). A szív- és érrendszeri védő hatásokhoz elsősorban a kvercetin-származékok járulnak hozzá, köztük az izokvercetin, amelynek kardioprotektív aktivitását iszkémia/reperfúziós kísérletekben mutatták ki (CAO és mtsai., 2017). Neuroprotektív vegyületként a cianidin-3-O-szambubiozid emelhető ki, amely a Parkinson-kór folyamatait enyhítheti (STRATHEARN és mtsai., 2014). Az elhízás elleni hatásokban a klorogénsav és a kávésav játszanak szerepet, amelyek lipidanyagcsere-szabályozó tulajdonságait több állatkísérlet is igazolta (CHO és mtsai., 2010). Az antimikrobiális komponensek közül az avikularin említhető, amely *Candida* fajokkal szemben bizonyult hatékonynak (DESRINI és mtsai., 2023).

A Vm-GTE rendelkezik a legnagyobb *in vitro* antioxidáns kapacitással (22. táblázat), ahol az első helyet foglalja el e tekintetben. A Vm-GTE esetében a polifenolok közül legnagyobb mennyiségben kávésav és kvercetin-tartalmával várhatóan jelentős gyulladáscsökkentő és antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik a korábbi tanulmányok alapján (SYMES és mtsai., 2018; YANG és mtsai., 2013; MUHAMMAD ABDUL KADAR és mtsai., 2021). A kivonatok közül kimagasló mennyiségben van jelen a klorogénsav, melyről kimutatták, hogy javítja a glükóz és lipid metabolizmust az aktivált protein kináz aktivitása révén, így jótékony hatással lehet az antidiabetikus kezelésekben (ONG és mtsai., 2013).

Összességében a három kivonat összehasonlítása is érdekes különbségekre világít rá. Megfigyeléseim szerint a Rn- és a Vm-GTE kávésvartartalma, valamint a Rn-GTE rutin mennyisége szignifikáns, míg a Vm-GTE különösen nagyobb mennyiségű kvercetin és klorogénsavat tartalmaz, a Rf-GTE pedig szalicilsav-tartalmával tűnik ki. Ezek a polifenol-kombinációk potenciálisan felhasználhatók lehetnek gyulladáscsökkentő, antioxidáns és antidiabetikus hatások támogatására. Bár a Vm-GTE és az Rf-GTE hasonlóan erős *in vitro* antioxidáns kapacitással rendelkezik, a Rn-GTE kevésbé bizonyult hatékonynak. Fontos azonban megjegyezni, hogy az *in vitro* antioxidáns kapacitás önmagában nem feltétlenül jelzi előre az *in vivo* egészségjavító hatásokat.

A szeder és fekete áfonya GTE-k hatékony bakteriális növekedést gátlók és ugyanakkor jó baktériumölő szerek

Fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.)

Az antimikrobiális elemzést követően, kevésbé hatékonynak bizonyult az agar diffúziós módszer során a Rn-GTE. A vizsgálati eredmények kimutatták, hogy a kivonat nem mutat szignifikáns antimikrobiális hatást a legtöbb vizsgált mikroorganizmusra, kivéve a *L. monocytogenes* baktérium és a *S. cerevisiae* élesztőgomba (11. táblázat). Ezzel szemben egy korábbi tanulmány arról számolt be, hogy a romániai Rn-GTE vizsgálat során gátló hatást találtak a *S. aureus*, a *P. aeruginosa*, az *E. coli*, az *A. niger* és a *Candida albicans* mikroorganizmusokkal szemben (RAICIU és mtsai., 2010). A látszólag egymásnak ellentmondó adatok a különböző termesztési helyekkel vagy az eltérő kivonási módszerekkel magyarázhatók. Vagyis, RAICIU és mtsai., (2010) vizes extrahálással vonták ki a Rn-GTE-t, addig esetemben az extrahálás alkohol-glicerines volt. Kutatásuk során kimutatták, hogy a termőterület földrajzi elhelyezkedése befolyásolhatja a különböző növényfajok fitonutriens összetételét, így ez azzal is magyarázható, hogy a romániai bogyók gazdagabbak antioxidáns komponensekben, mint az oroszországi bogyók (GEORGESCU és mtsai., 2022). Hasonló módon, a Rn antioxidáns kapacitása változhat évszaktól és fajtától függően (TABART és mtsai., 2006).

A Rn-GTE gazdag flavonoidokban és polifenolokban. A fiatal Rn rügyhajtások leggyakoribb összetételei között azonosítottam fenolos vegyületeket, mint a galluszsav, a hidroxifahéjsav-származékok, jó néhány flavonolt (kvercetin, miricetin, kaempferol és izorhamnetin) és dihidrokvercetin származékait, amelyet alátámasztanak IERI és mtsai., (2015) is kutatásukban, illetve TABART és mtsai., (2006) tanulmányaiban beszámolnak

a Rn rügyhajtásokban leggyakrabban előforduló vegyületekről, melyek a rutin, az izokvercetin és az astragalin. Feltehetően, hogy az előbb említett kémiai vegyületek hatással lehetnek az antimikrobiális gátlásokért. Egy korábbi vizsgálatban, különböző litván Rn gyümölcsök antimikrobiális hatását figyelték meg, ahol az 1%-os koncentráció gátló hatást fejt ki a *Rhodotorula rubra*, *Lactococcus lactis*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. typhimurium* és *E. coli* mikroba fajokra (BENAOKAS és mtsai., 2018). Ez az állítás arra enged következtetni, hogy a Rn gyümölcs kivonat sokkal szélesebb körű antimikrobiális hatással rendelkezik, mint az általam bevizsgált GTE. Esetemben, a legérzékenyebb baktériuma a *P. vulgaris* volt a Rn-GTE-vel szemben, ahol a 20%-os GTE bakteriosztatikus hatást mutatott a MIC vizsgálat során, addig a legkevésbé érzékeny az *E. faecalis* (nincs gátlása) és a *S. enterica* (csak a 100%-os kivonat gátolja), de megjegyzendő, hogy különböző koncentrációban a GTE gátló hatással rendelkezik a mikrobákra. Ugyanakkor, a vizsgálat tükrében elmondható, hogy a kivonat baktericid hatással nem rendelkezik egyetlen vizsgált mikroorganizmusra sem. PAUNOVIĆ és mtsai. (2022) szerb Rn gyümölcs és levélkivonatot vizsgálták és esetükben a kivonat gátolta a *S. aureus*, az *E. coli* és a *P. vulgaris*, ahol a MIC értéke 55,82 és 199,21 mg/ml között változott

Továbbá, TRAJKOVIĆ és mtsai., (2023) az általuk végzett kutatásban arról számoltak be, hogy a Rn liofilizált lé, ahol a MIC érték 100 mg/ml volt, hatékonyan gátolja a *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, az *E. coli* és a *P. aeruginosa* baktériumokat, addig az MBC érték nagyobb volt, mint 100 mg/ml. Egy mostani tanulmány szerint a fagyasztva szárított Rn porból négy jelentős fenolos (kaempferol-3-*O*-rutinozid, rutin, cianidin-3-*O*-glükózid és hiperozid) vegyületet azonosítottak be, amelyek a rügy GTE-ben is jelen voltak. Megállapították, hogy az előbb említett összetevők felelősek a MIC és agar diffúziós vizsgálatok során kapott antibakteriális tulajdonságokért (*S. aureus* és *S. typhimurium*). Ezek közül jelentősebb MIC értéket a cianidin-3-*O*-glükózid mutatott. És megerősítést nyert, miszerint a cianidin-3-*O*-glükózid vegyület károsítja a sejtfalat és a membránt, és ezt a sejtből kiáramló alkalikus foszfátáz, laktát-dehidrogenáz, fehérje- és DNS vizsgálatokkal igazolták (ZHAO és mtsai., 2021). Az előbb említett publikált tanulmányok alátámasztják azt a felállást, hogy a Rn gyümölcs és rügy GTE széles, de alacsony antimikrobiális aktivitással rendelkezik.

Szeder (*Rubus fruticosus* L.)

A szeder GTE a vizsgált tizennégy mikroorganizmussal szemben nyolc esetben hatékony antimikrobiális szernek minősül. A legérzékenyebb mikrobának a *L. monocytogenes* bizonyult, ahol a 100%-os koncentrált Rf-GTE $19,20 \pm 0,87$ mm-es gátlási zónát eredményezett, ezzel szemben a 20%-os kivonat esetében a gátlási zóna átmérője $13,4 \pm 0,53$ mm. A *S. aureus* törzssel szemben alacsonyabb, de a három kivonat tekintetében egyedüli gátlási zónákat eredményezett a GTE. Ellenben, a kivonat 50-70% közötti gátlása jóval nagyobbak bizonyult, mint 80-100%-ál. A kivonat összetétele és az egyes komponensek megoszlása felelős lehet a jelentősebb antimikrobiális gátlásért, amelyet a hormézis effektussal hozható kölcsönhatásban. E hatás kiváltás hátterét ajánlatos a továbbiakban részletesen is tanulmányozni. Kis mértékben fejtett ki gátlást a *P. vulgaris* baktériummal és *S. cerevisiae* élesztővel szemben a Rf-GTE. Nem tapasztaltunk valódi gátlást a penészgombák esetében sem, mivel a gátlási zónákban telepek jelentek meg. Azonban fontos kiemelni, azt a tényt, hogy a GTE képes volt valamiképpen enyhe gátlást produkálni, ami egy újonnan felfedezett hatást jelent. WELI és mtsai., (2020) által végzett kutatás alapján kimutatták, hogy az ománi szederlevél-kivonatok gátló hatást fejtenek ki az *E. coli*, a *Haemophilus influenza*, az *E. faecalis* és a *S. aureus* baktériumokra. Egy másik vizsgálatban a pakisztáni szeder különböző növényi részeit vizsgálták meg, ahol a szárkivonat $100 \mu\text{g}$ korongként hatékonyak bizonyult nyolc baktériummal szemben: *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus*, *Citrobacter*, *B. subtilis* és *P. aeruginosa* (RIAZ és mtsai., 2011). Vizsgáltak különböző szerbiai *Rubus* fajokat, ahol megállapítást nyert a fenolos összetétel kapcsán, hogy a fő fenolsav az ellagsav volt a levélkivonatban, ugyanakkor a legnagyobb mennyiséget a szederlevél kivonatában sikerült azonosítani, valamint a levélben egyaránt jelen voltak a hidroxifahéjsavak, az aesculin, a katechin, a miricetin, a rutin, a kvercetin és a kaempferol. Így feltehetően a kémiai összetevők hozzájárulhatnak az antimikrobiális gátlás eléréséhez (PAVLOVIĆ és mtsai., 2016). Fontos megjegyezni, hogy az általam vizsgált GTE-ban az említett fitonutriensek jelenlétét UHPLC-ESI-MS vizsgálatokkal megerősítem, valamint új vegyületeket is azonosítottam, mint például az aminosavak (4-hidroxi-izoleucin és triptofán).

A Rf-GTE bakteriosztatikus hatását figyeltem meg a MIC vizsgálat során. Megállapítást nyert, hogy a Rf-GTE különböző koncentrációi hatékonyak az összes vizsgált törzssel szemben. Közülük a legérzékenyebb mikroba 10%-ál *P. vulgaris* és 20%-ál a *B. cereus*. Míg a legkevésbé érzékeny a *S. aureus*, az *E. faecalis*, a *S. enterica*

és a *S. cerevisiae* volt (60%). Az MBC elemzésekor azt figyeltem meg, hogy a 60%-os RF-GTE-koncentrációban a kivonat baktericid hatást mutatott a *L. monocytogenes*-szel szemben, míg ugyanazon kivonat 60%-os koncentrációja a *S. aureus*, 70%-os koncentrációja pedig az *E. faecalis* esetében bizonyult eredményesnek. Ugyanakkor, a GTE cid hatása 100%-nál mutatkozott meg a *S. cerevisiae* élesztőgombánál. Egy friss tanulmányban arról számoltak be, hogy a spanyol szeder gyümölcse szemben eredményesen találtak antimikrobiális gátlásokat, ahol az MBC vizsgálatnál a 25 mg/ml a *L. monocytogenes* és a *S. aureus* esetében volt hatásos, addig a 12,5 mg/ml az *E. faecalis*, *B. cereus*, *E. coli* és *S. enterica* szemben, valamint 100 mg/ml mennyiség volt képes a *P. aeruginosa* szaporodását gátolni (GIL-MARTÍNEZ és mtsai., 2023). Összegezve az eredményeket a szeder gyümölcsből származó kivonatok baktériumölő hatását tekintve jobbnak tűnik, mint az általam vizsgált Rf-GTE.

Fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus* L.)

Az agar diffúziós vizsgálat során a Vm-GTE esetében a leghatékonyabb gátlást a *P. vulgaris* baktériummal szemben találtam tömény 100%-os GTE alkalmazásával, ahol a gátlási zóna $12,76 \pm 0,80$ mm volt. Megfigyelhető, az említett baktérium esetében a GTE gátló hatása egészen 30%-os koncentrációig. De, figyelemre méltó eredményt kaptam 70-90% között a gátlási zónák méretében, azaz legnagyobb gátlás a 80%: $15,04 \pm 1,03$ mm, 70%: $14,24 \pm 0,86$ mm és 90%: $13,55 \pm 0,75$ mm volt, amelyet a hormézis hatással tudok magyarázni. A GTE további három mikroorganizmussal szemben volt hatásos, éspedig a *B. cereus*, az *E. faecalis* és a *S. cerevisiae*, ahol a gátlási zóna tartományok igen alacsonyak bizonyultak. A 90-50%-os GTE koncentrációk által kiváltott gátlási zónák között az *E. faecalis* baktériummal szemben nem volt szignifikáns különbség ($p = 0,182$), vagyis ezek a hígítások egyforma hatással rendelkeztek.

Egy korábbi tanulmányban a fekete áfonya gyümölcs összetevőiről (NEAMȚU és mtsai., 2020) és a zsenge fekete áfonya hajtásokban és levelekben található fő fenolos osztályokról számoltak be (IERI és mtsai., 2013). A levelekben és a hajtásokban a fő fenolos osztály a hidroxifahéjsavak, a flavonolok és a proantocianidinek, melyek a GTE-ben is megtalálhatók, és feltehetően antimikrobiális hatásokat váltanak ki.

A Vm-GTE a tápleves MIC vizsgálat tekintetében a legérzékenyebb baktériumnak bizonyult 20%-os kivonatkonzentrációnál a *B. cereus* és a *P. vulgaris*. Majd ezt követte a *S. aureus*, az *E. faecalis* és a *L. monocytogenes* 30%-os koncentrációban. A legérzékenyebb baktérium a *S. enterica* volt a 40%-os Vm-GTE szemben, addig

legkevésbé érzékenyek a *S. cerevisiae* bizonyult. Az MBC elemzéskor azt figyeltem meg, hogy a 30%-os GTE koncentráció baktericid hatással van az *E. faecalis*-ra, addig a 60%-os koncentráció a *L. monocytogenes* esetében váltott ki cid hatást. A vizsgált GTE közül a Vm esetében találtam baktericidhatást a *P. aeruginosa* és a *S. enterica* törzsekre. MILJKOVIĆ és mtsai., (2018) a szerb fekete áfonya antimikrobiális hatását vizsgálták és megállapították, hogy a metanolos kivonat számottevően sok Gram-pozitív és Gram-negatív mikrobával szemben hatékonyan bizonyult, köztük a *S. aureus* (MIC, MBC = 63 mg/ml), az *E. faecalis* ellen. (MIC = 63 mg/ml, MBC = 126 mg/ml), az *E. coli* és a *P. aeruginosa* (MIC = 31,5 mg/ml, MBC = 126 mg/ml). Megfigyeléseink megerősítik eredményeiket, kivétel az *E. coli* baktérium. Azonban az *S. cerevisiae* esetében a 100% GTE-specifikus MBC hatása új információnak tekinthető.

23. táblázat: A GTK-k vizsgálatánál alkalmazott módszerek során kapott eredmények összehasonlítása

Kivonatok	<i>Ribes nigrum</i> GTE			<i>Rubus fruticosus</i> GTE			<i>Vaccinium myrtillus</i> GTE		
	ADM	MIC	MBC	ADM	MIC	MBC	ADM	MIC	MBC
Mikroorganizmusok									
<i>B. cereus</i>	na	+	na	na	+++	na	++	+++	na
<i>S. aureus</i>	na	+	na	+++	++	++	na	+++	+
<i>E. faecalis</i>	na	na	na	na	++	+	++	+++	+++
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	na	+++	++	++	na	+++	++
<i>P. vulgaris</i>	na	+++	na	+	+++	na	+++	+++	na
<i>P. aeruginosa</i>	na	++	na	na	++	na	na	++	+
<i>E. coli</i>	na	+	na	na	++	na	na	++	na
<i>S. enterica</i>	na	+	na	na	++	na	na	++	+
<i>S. cerevisiae</i>	+	+	na	+	++	+	+	++	+

Megjegyzés: ADM: agar diffúziós módszer; MIC: minimális gátlási koncentráció; MBC: minimális baktericid koncentráció; +: csökkent, de kimutatható hatás a vizsgált mikroorganizmusokra magas, 70-100%-os GTE-koncentrációnál; ++: közepes méretű hatás a vizsgált mikroorganizmusokra 40-60%-os GTE koncentráció tartományban; +++: szignifikáns hatás a vizsgált mikroorganizmusokra a legalacsonyabb 10-30%-os GTE koncentrációintervallumban; na: nem mutatható ki (a vizsgált mikroorganizmusokra egyáltalán nem volt hatással még 100%-os koncentrált GTE mellett sem).

A kapott eredményekből arra a következtetésre jutottam, hogy a vizsgált GTE-ok különböző antimikrobiális hatékonyságot mutattak, és az alkalmazott agar diffúziós módszer (ADM) segítségével ezeket sikerült kimutatni (23. táblázat). A szignifikáns különbségek közül a nagyobb gátlási zónák valódi bakteriosztatikus vagy baktericid potenciált jeleznek, míg a kisebb eltérések gyakorlati jelentősége korlátozott lehet, így biológiai szempontból csak a markáns gátlás tekinthető relevánsnak. Az alkalmazott agar diffúziós módszer (ADM) kiváló eszköz a GTE-k antimikrobiális szűrésének kezdeti szakaszában, bár nem ad betekintést az antimikrobiális hatásmechanizmusba. Az ADM alapján a Vm-GTE és Rf-GTE négy, míg a Rn-GTE pedig kettő gátló mikrobiális hatást mutatott a vizsgált mikrobatörzsek tekintetében.

Az antimikrobiális tulajdonságok két fő típusa a bakteriosztatikus és a baktericidhatások, amelyek eltérő mechanizmusokon alapulnak. A bakteriosztatikus antibiotikumok megakadályozzák a mikroorganizmusok szaporodását (stacionárius növekedési fázisban tartják), míg a baktericid hatásúak elpusztítják azokat. A bakteriosztatikus hatású baktériumokat a gazdaszervezet immunrendszere távolítja el, míg a baktericidhatásúak közvetlenül elpusztítják a mikroorganizmusokat. A MIC-k és MBC-k fontos tájékoztatásokat nyújtanak a mikrobiális érzékenységről és az antimikrobiális szerek hatékonyságáról. A MIC az antimikrobiális szerek rezisztenciáját és bakteriosztatikus hatékonyságát mutatja, míg az MBC az antimikrobiális szer közvetlen halálos hatását jelzi. Ezek az adatok (23. táblázat) segíthetnek a megfelelő kezelés kiválasztásában és a rezisztencia kialakulásának megelőzésében. A bakteriosztatikus antimikrobiális szerek hatása a bakteriális fehérjeszintézis gátlására irányul. Azonban ennek következtében befolyásolhatják a transzmembrán potenciált és zavarhatják az antimikrobiális rezisztenciát (ZHANG és mtsai., 2022). A MIC módszer eredményei szerint a legbakteriosztatikusabbak a Vm-GTE (5 gátolt törzssel), majd ezt követte a Rf-GTE (2 törzssel) hatékonyság szempontjából. A Rn-GTE kevésbé hatékonyan gátolta a baktériumok növekedését a MIC próba során, és csak egy törzsre volt hatással. Ezek a hatások a legalacsonyabb, 10-30%-os GTE koncentrációnál jelentkeztek. A Rn-GTE alacsonyabb teljesítményt mutatott az ADM vizsgálat során, azonban a MIC vizsgálatban nagyobb hatékonyságot mutatott. Az MBC vizsgálatban a baktericid hatások az Vm- és Rf-GTE-k esetében voltak relevánsak, míg a Rn kivonat nem mutatott életkorlátozó káros hatást. A megfigyelt eredmények átfogóbb képet nyújtanak az elemzett GTE-k antimikrobiális felhasználhatóságáról. Tulajdonképpen, minden GTE képes gátolni a vizsgált mikrobafajok növekedését, azonban hatékonyságuk koncentrációfüggő. Bár vannak hatékonyabbak és kevésbé hatékonyak, de mindegyikük rendelkezik antimikrobiális tulajdonságokkal.

Az áfonya GTE számottevő bakteriosztatikus hatással rendelkezik, de leginkább az *E. faecalis* és *L. monocytogenes* baktériumok ellen mutatott baktericid hatást. Az *E. faecalis* a leggyakrabban előforduló baktérium az egészséges egyéneknél, de számos betegséget okozhat, mint például endocarditist, húgyúti fertőzéseket, agyhártyagyulladást és végül szepszist is. A *L. monocytogenes* egy virulens, élelmiszer-eredetű kórokozó, amely agyhártyagyulladást okozhat (KOOPMANS és mtsai., 2023). Fontos megemlíteni azt is, hogy az Vm-GTE specifikus hatást mutatott a *P. vulgaris*

baktériumok ellen, amelyek opportunisták kórokozók és rezisztens kórházi fertőzéseket okozhatnak, ugyanakkor hatással van a széles körben elterjedt *B. cereus* kórokozóra is.

A Rf-GTE erős antimikrobiális hatással rendelkezik, különösen a *L. monocytogenes* és *S. aureus* baktériumok ellen. A *S. aureus* egy opportunisták kórokozók, amely kórházakban és más közösségi helyeken nehezen kezelhető fertőzéseket okozhat. A fekete áfonya és a szeder GTE-k hatékonyak lehetnek a listeriózis kezelésében, bár megfigyelésem szerint egy korábbi vizsgálat alapján az áfonya-szeder GTE keverék nem mutatott kölcsönhatást (HÉJJA és mtsai., 2023).

Összességében elmondható, hogy az ADM-hez képest a MIC- és MBC-tápleves tesztek során a vizsgált mikroorganizmusok sokkal érzékenyebbek voltak a táplevesben való szuszpendálásra, feltehetően a levesben a GTE-ok komponensei hatásosabb eredménnyel képesek a mikroorganizmusokra hatni ezáltal jobb gátlást képesek kifejteni. A MIC és MBC elemzés lehetővé tette a bakteriosztatikus és baktericid hatások összehasonlítását. THWAITES és mtsai., (2018) azt feltételezték, hogy az alacsonyabb koncentrációban lévő baktericidhatás pozitív képességgel lehet egy új antibakteriális faktorra, amely segíthet megakadályozni a baktériumok rezisztenciájának kialakulását. A vizsgálatok szerint az áfonya- és szeder-GTE-k hasonló hatással lehetnek, és fontos szerepet játszhatnak a baktériumok elleni harcban. Továbbá a klinikai gyakorlatban vitatható az antibiotikumok bakteriosztatikus és baktericid kategóriákba való besorolása a hasi, bőr- és légzőszöveti fertőzésekkel, tüdőgyulladással kapcsolatos helyzetekben (NEMETH és mtsai., 2015). A kutatás szerint kimutatták, hogy a tüdőgyulladás kezelésében a baktericidhatású és a bakteriosztatikus antibiotikumok között nincs szignifikáns különbség a klinikai gyógyulási arányban, a kezelés sikertelenségében vagy a visszaesések arányában. (SALEEM és mtsai., 2022). Az egyre növekvő tudományos ismeretek alapján a személyre szabott antimikrobiális kezelés fontos eleme lehet a bakteriosztatikus és baktericid hatások közötti megfelelő egyensúly megtalálása. Tehát, ha a baktériumölő tulajdonság helyett a bakteriosztatikus hatást részesítjük előnyben, akkor a Vm és Rn-GTE-ket tovább kell vizsgálni a bélgyulladással kapcsolatban. Az Rn- és Vm-GTE-kről kiderült, hogy számos fitonutrientet tartalmaznak, amelyek gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezek a hatóanyagok szinergikusan működnek, korlátozzák a mikrobiális növekedést és csökkentik a gyulladásokat. Az új antimikrobiális szerek kutatása folytatódik, és a tudományos megfontolások egyre összetettebbek. A természetes megoldások keresése végtelen motivációnak tűnik ebben a folyamatban.

A NM és HS étrendek limfatikus és citoskeletális génklaszterek funkcionális elemése

A kutatások szerint a magas szénhidrát tartalmú táplálkozás cukorbetegség-szerű állapotot okoz a *Drosophila melanogaster* modellrendszerben (VATASCHUK és mtsai., 2022). Egy másik tanulmányban a 35%-os szacharóztartalmú étrend inzulinrezisztenciát idézett elő Sprague–Dawley patkányokban, még testsúlynövekedés nélkül is (CAO és mtsai., 2012). ROVENKO és mtsai., (2015) pedig kimutatták, hogy a magas glükóztartalmú étrend késlelteti a bebábozódást és növeli a fejlődési mortalitást a fruktóz étrendhez képest. Ez összhangban van a saját eredményeimmal, miszerint a HS étrend háromnapos késleltetést okoz a harmadik lárvaállapotban, bár a kifejlett imágók kikelését már nem befolyásolta.

Az Rn-GTE koncentrációfüggő kettős hatást mutatott: alacsony dózisban (0,5-1,5 ml) serkentette a bebábozódást és növelte a túlélési arányt, míg magasabb dózisban (2-3 ml) gátolta a fejlődést és csökkentette az imágók számát. A normál étrenden kedvezőbb, míg a magas szénhidráttartalmú közegben inkább gátló hatások érvényesültek.

Ezek az eredmények azt jelzik, hogy az Rn-GTE képes támogatni a fejlődést és az életképességet, de a hatás kettős jellegű. A GTE-kben rejlő lehetőségek különösen az olyan táplálkozási kihívásoknál lehetnek fontosak, mint a magas szénhidráttartalmú étrend, mivel védő és támogató szerepet tölthetnek be.

A vizsgálati eredmények alapján az Rf-GTE jelentős, dózisfüggő hatást gyakorolt az *ecetmuslica* fejlődésére és életképességére. Az NM táptalajon a közepes koncentrációk (különösen a 2 ml) bizonyultak a leghatékonyabbnak: növelték a bebábozódás arányát (66%) és a kikelt imágók számát (65%), ami az életképesség erősödésére utal. Alacsony dózisban (0,5–1 ml) a hatás kevésbé volt kedvező, míg a magasabb koncentráció (3 ml) már mérsékelt gátló hatást mutatott a fejlődési folyamatokra.

A HS közegben szintén a 0,5–2 ml tartományban jelentkezett pozitív hatás (bebábozódás 55–56%, imágók aránya 53–54%), míg 3 ml esetén a fejlődés és az életképesség csökkent (47%). Ez arra utal, hogy a táplálkozási háttér befolyásolja a kivonat hatásmechanizmusát, de a közepes dózis itt is előnyösnek bizonyult.

Biológiai értelemben a Rf-GTE tehát serkentő hatást fejt ki az egyedfejlődésre és az életképességre optimális koncentrációban, ugyanakkor túl alacsony dózisban nem elég hatékony, túl magas dózisban pedig gátló. Ez a kettős, dózisfüggő hatás a kivonat bioaktív komponenseinek jellegzetes működésére utal, amelyek megfelelő mennyiségben

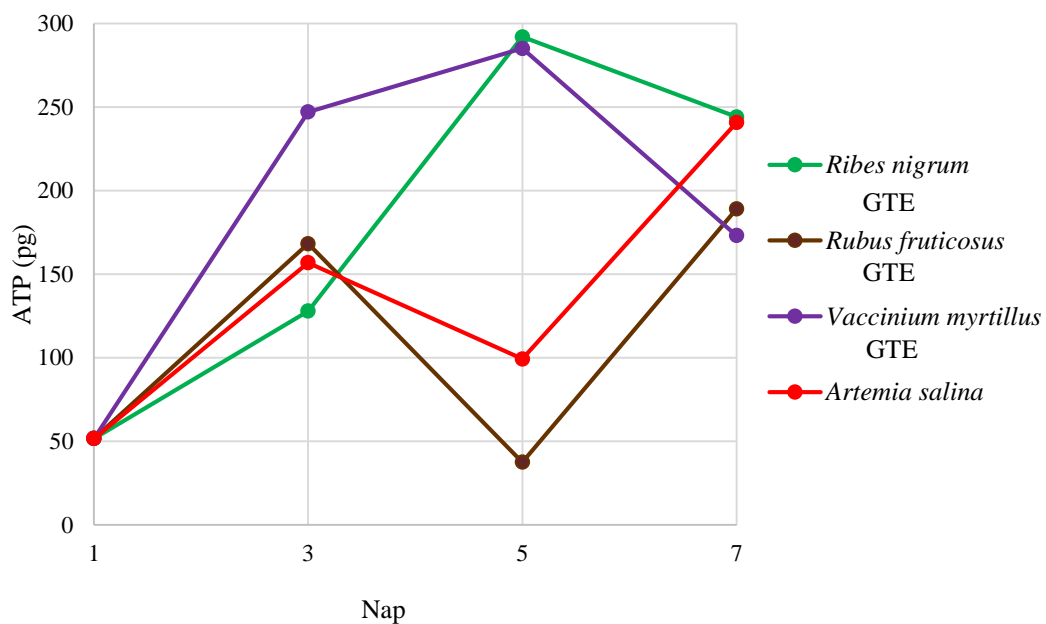
támogatják a fejlődést és a populáció fennmaradását, de túladagolva stresszhatásokat válthatnak ki.

Összességében elmondható, hogy az élettani hatások vizsgálatának során megerősítést nyert, hogy a magas szénhidrát (HS) tartalmú étrend alkalmazásakor a GTE-ok képesek a fejlődés késleltetését javítani, illetve növelni a túlélési arányt, ezáltal pozitív hatást gyakorolhatnak az egészségre. Az *ecetmuslica* életképességének vizsgálata során megfigyelhető volt, hogy a Rf-GTE kivonat bizonyult a leghatékonyabbnak, majd sorrendben a Rn-GTE és a Vm-GTE következett. Érdekes módon az összes polifenoltartalom (TPC), az összes flavonoid-tartalom (FRAP), valamint az antioxidáns aktivitás (DPPH) értékei közvetlen összefüggést mutattak a lárvák és bábok életképességével. Ez arra utal, hogy a magas polifenol- és flavonoid-tartalom előnyösen támogathatja a fejlődést az oxidatív stressz csökkentésén keresztül. A Vm-GTE esetében viszont a túlzott antioxidáns aktivitás fejlődésgátló hatást eredményezett, ami jelzi, hogy a biológiai relevancia erősen koncentrációfüggő.

Továbbá a vizsgálatok azt is kimutatták, hogy a Vm-GTE magas polifenol- és antioxidáns-képessége minél nagyobb koncentrációban volt jelen, annál kifejezettebb gátló hatást gyakorolt az *ecetmuslica* lárvákra és bábokra. Ezzel szemben az Rf-GTE a kedvezőbb komponenseknek köszönhetően jelentősen támogatta az életképességet és a növekedést. A Rn-GTE alacsonyabb TPC, FRAP és DPPH értékei miatt gyengébb életképességet biztosított ugyan, de még így is kedvezőbb hatást mutatott, mint a Vm-GTE. Az *ecetmuslicák* bebábozódásához a Rf-GTE jelentősen hozzájárult, ezáltal nő az életképességük és az ellenállóképességük. A Rf-GTE-ban a fitonutriensek jelenléte hatással van a gyulladásos tünetek kezelésére, és erős antidiabetikus hatást képest kiváltani az *ecetmuslicák* fejlődésében. A magas gyulladáscsökkentő és antioxidáns tartalomnak köszönhetően a Rf-GTE hozzájárul a kívánt hatások eléréséhez az *ecetmuslica* átalakulási fázisaiban. A Rf-GTE hasonló hatást generál az *ecetmuslicák* számára, mint a NM tartalmú tápközegen tenyésztett étrend esetén. Továbbá megfigyelhető, hogy az *ecetmuslica* számára e specifikus táplálkozás feltételeket biztosít a GTE-vel kiegészítve a lárvák túlélésére és a bábok kikelésére gyakorolt életciklusban. Ezen eredmények tekintetben a GTE-k sajátos profiljának köszönhetően alkalmas lehet a szabadgyökök által kiváltott gyulladások kezelésében és/vagy megelőzésében. Támogató képessége a magas antioxidáns és gazdag fitonutrienseknek köszönhető, mely nem korrelál teljes mértékben a kimutatott lárva/báb életképességi hatásokkal, feltételezhetően

a GTE-k által kiváltó, de nem ismert mentőmechanizmusok komplex interakcióknak tudható be.

A transzlációs modellrendszerben a második egyedfejlődés a *Cyprinus carpio* (ponty) lárváira is kiterjedt, hogy értelmezni tudjam a GTE-k táplálkozási hatását. Az ATP-hozamokban jelentős különbségek mutatkoztak a táplálkozó lárva szakaszában, ahol az ATP-termelés hatékonysága változatos táplálékkal növelhető. A Vm-GTE és a Rn-GTE hatására nőtt az ATP-koncentráció a lárvákban, míg a Rf-GTE-vel tápláltaknál csökkent (41. ábra).



41. ábra: A GTE tartalmú haltápok által indukált ATP szintézis a ponty lárvákban

A ponty lárvák növekedését és ATP-tartalmát vizsgálva azt tapasztaltam, hogy a GTE-k specifikus nutritív sajátosságokat fejtenek ki a táplálkozó lárva esetében (41. ábra). Ez arra enged következtetni, hogy a GTE-okkal kiegészített haltápokban található makronutriensek eltérő módon hasznosulnak a ponty lárva energiatermelésében. Az Rn-GTE és a Vm-GTE közel hasonló módon viselkedtek, mivel a 3-7 napos időszakban képesek voltak a lárvalis ATP-szintézist a kontrollként alkalmazott sórák szintjén megtartani. Az Rf-GTE specifikus ATP-indukáló hatása ugyan csökkentebb mértékű volt, de mégis követte a kontroll aktivitási mintázatait. A 3-7 napos lárvakorban a hallárva életképesek és bár az ATP termelés hasonló szinteket mutat, a 7. napon már jelentős növekedésbeli különbségek mutatkoznak a kontroll sórák javára. Ez arra utal, hogy bár a GTE-alapú starter tápok támogatják az ATP-termelést a lárvalis állapot kezdeti szakaszában, mégis deficitesek bizonyultak a kompetens egyedfejlődés 7. nap utáni

fenntartásában. Ennek következményeként a GTE-vel táplált hallárvák 9. napi letalitása szignifikánsan megnőtt.

A kapott eredmények alapján kijelenthető, hogy a vizsgált GTE-k nutritív potenciállal rendelkeznek a pontyok korai egyedfejlődési szakaszában, ami fontos előrelépést eredményezhet a haltenyésztés korai és egyben rendkívül kritikus tenyésztési időszak szempontjából, ami nem más, mint a korai lárvális állapot. Ugyanakkor optimalizálni kell a GTE-alapú hallárva tápösszetételét és mennyiségét a pontyok egészségének és növekedésének javítása érdekében. Az optimalizálásnak ki kell terjednie nemcsak a makronutriensek megfelelő egyensúlyának kialakítására, hanem az energetikai igények mellett a szomatikus szerkezeti és működési feltételek biztosítására is. Ezek a kérdések további kutatásokat igényelnek, melyek során továbbra is integráljuk az ecetmuslica- és pontylárva-alapú kísérleti rendszereinket.

A transzlációs modellrendszerek jelentősége a GTE értékelésében

Azáltal, hogy sikerült összekapcsolni a *Drosophila melanogaster* és *Cyprinus carpio* fajok egyedfejlődésének vizsgálatát a GTE-k nutritív jellegének tanulmányozása során létrejött egy újfajta transzlációs modellrendszer, amely szavatolja az alapkutatások gyakorlati alkalmazásokba való átültetését. Az alapkutatási eredmények valójában a GTE-k fitonutriens profiljára és a NM meg HS alapú étrend transzkriptomikai és fiziológiai következményeire vonatkoznak. Ezek olyan dimenziók, amelyek előrevetítik annak lehetőségét, hogy a GTE-k nutritív, illetve antidiabetikus hatásait tanulmányozzuk úgy az ecetmuslica mint a ponty lárvákon is. Tekintettel arra, hogy elsőként ecetmuslicán leírtak alapján lehetett következtetni a GTE-k nutritív hatására, így feltételeztük a GTE-k nutritív hatásának a meglétét a ponty lárvák esetében is. Tulajdonképpen sikerült a GTE-k részleges nutritív jellegét igazolni a mindenevő ponty hallárvák esetében. E célból az ATP termelését monitoroztuk és kimutattuk, hogy a GTE-k szavatolni tudták korlátolt mértékig az ATP szintézisét, ám röviddel a kezdeti ATP szint növekedés után már csökkeni látszott az ATP szintézis intenzitása. Az a tény, hogy az ATP szintje változó sajátossággal rendelkezik, egyben arra is utal, hogy a kifejlesztett ATP detekciós eljárás kellő érzékenységgű és alkalmas arra, hogy megközelítőleg 50 pg-nyi eltéréseket is detektáljon a ponty hallárvák esetében.

Másképpen az ecetmuslicás alapkutatások révén ki lehetett mutatni, hogy a GTE-k hatása koncentráció-függő sajátosságot mutat, de a kiváltott élettani hatások mértéke ugyancsak változó képet mutathat a lárvák ún. normális – NM és magas

szénhidrátbevitelű – HS étrendek következtében. Ugyanaz a GTE koncentráció annak függvényében, hogy NM vagy HS étrendű lárvák esetében vizsgáljuk, jelentős eltéréseket eredményezhet a tesztelt egyedek életképességét illetően. A GTE-k étrend alapú és koncentráció-függő hatásának vizsgálati lehetősége egy teljesen új sajátossága a kifejlesztett transzlációs modellrendszernek. Ilyenképpen az is kiderült, hogy a GTE-k optimális élettani hatásának elérése érdekében fontos lenne odafigyelni a megfelelő makronutriens bevitelre is, amely minden bizonnyal faj- és életkor – specifikus sajátosságokkal rendelkezik.

A fentiekben említetteket támasztja alá az a további megfigyelés is, amely a NM és HS étrendekre jellemző teljes lárvális transzkriptomok összehasonlító vizsgálatára vonatkozik. Ezek a kutatások kimutatták, hogy több mint tíz funkcionális klaszterbe lehet a HS étrend alapú és jelentősen megváltozott expressziójú géneket sorolni (lásd pld. a hemolimfa és citoskeletális klasztereket). A hemolimfa klaszterhez tartozó gének közül a ferritinek expressziója csökkent, míg a transferrin receptoroké emelkedett, ami a vas-homeosztázis és a gyulladásos folyamatok szabályozásának átrendeződésére utal. A citoskeletális klaszterben tapasztalt változások, például az actin- és tubulin-gének expressziójának módosulása, a sejtek szerkezeti stabilitására és a fejlődési dinamikára hathatnak. Azonban a kisebb mértékű expressziós eltérések biológiai relevanciája bizonytalan, így ezek jelentősége korlátozott lehet. Ez a tény tulajdonképpen az étrend indukálta és a teljes egyedre vonatkozó regulációs mechanizmusok komplexitására utal. Arra a komplexitásra, amelyet lehetett feltételezni, de a megfelelő kísérleti modellek hiányában nem igazán lehetett vizsgálni. A hemolimfa és citoskelet génelőklaszterek interakciójainak az elemzése éppen ezt a komplexitást szemlélteti, de az interakció hálózati elemzése és a csomópontok megtalálása mintegy új korrekciós célpontokat is kijelölhet, amire eddig nem volt lehetőségünk. Ezen csomópontokban lévő gének expressziójának vizsgálata alkalmas lehet arra, hogy bizonyos terápiás intervenciók hatékonyságát célirányosan le tudjuk ellenőrizni.

Az a tény, hogy a transzlációs modellrendszerünk az *ecetmuslica* típusú alaputatásra épül egy olyan kompetitív előnyt jelent, amely a genetikai/genomikai háttere kapcsán nagyobb tudományos biztonságot, avagy megalapozottságot ad számunkra akkor, amit a ponty lárvák táplálkozását tanulmányozva következtetéseket teszünk. És éppen ez a célunk, azaz, hogy az *ecetmuslica*n megtanultak alapján, az új ismereteink gyakorlati hasznosítása révén, sikereket érjünk el a zsenge ponty táplálkozása

kapcsán. A modellrendszer sikeresnek bizonyult és a további fejlesztése éppúgy indokolt, mint a hallárvek számára kialakított tápoké.

Transzlációs modellrendszer előnyei és korlátai

A *Drosophila melanogaster* alkalmazása a GTE-k élettani hatásainak vizsgálatában több szempontból előnyösnek bizonyult. A muslica gyors fejlődési ciklusa és jól kontrollálható genetikai háttere lehetővé tette a különböző kivonatok koncentrációfüggő hatásainak részletes nyomon követését. Az eredmények alapján az Rf-GTE javította leginkább a lárvák és bábok életképességét, míg az Rn-GTE mérsékeltebb, a Vm-GTE pedig bizonyos koncentrációkban gátló hatást mutatott. A modell érzékenyen jelezte a polifenol- és antioxidáns-tartalom, valamint az életképességi mutatók közötti összefüggéseket, ugyanakkor a túl magas antioxidáns aktivitás bizonyos esetekben kedvezőtlen reakciókat is kiváltott, amire jó példa a Vm-GTE koncentrációfüggő fejlődésgátló hatása. Ez a kettősség jól szemlélteti a modell erősségét: rövid idő alatt és nagy megbízhatósággal mutathatók ki a táplálkozás-élettani hatások és azok dózisfüggései. Korlátot jelent azonban, hogy a *Drosophila* anyagcseréje egyszerűbb, mint a halaké, így a gyakorlati takarmányozásra vonatkozó következtetések csak közvetve alkalmazhatók.

A ponty (*Cyprinus carpio*) lárvák kísérletes vizsgálata a GTE-k takarmányozási potenciálját tette kézzelfoghatóbbá. Az ATP-mérések alapján kimutatható volt, hogy a GTE-k képesek a sejtszintű energiatermelés támogatására: a Vm-GTE és az Rn-GTE növelte az ATP-koncentrációt a lárvákban, míg az Rf-GTE mérsékeltebb hatást fejtett ki. A korai, 3–7 napos táplálkozó szakaszban a GTE-k a kontrollként használt sőrak szintjéhez közel tartották az ATP-szintézist, ami arra utal, hogy bizonyos mértékig pótolhatják a hagyományos táplálékot. A 7 nap után azonban a lárvák növekedése és életképessége visszaesett, a 9 napon pedig a mortalitás szignifikánsan megnőtt. Ez rávilágít a modell erősségére – a gyakorlati táplálkozási hatások érzékeny kimutatására, de a korlátaira is, hiszen a GTE-k nem tudták hosszú távon biztosítani a kompetens fejlődést, és szükség van a makro- és mikronutriensek optimális egyensúlyára.

A két modell egymást kiegészítve ad teljes képet a GTE-k potenciáljáról. Az ecetmuslica gyors és költséghatékony rendszerként a mechanizmusok, dózisfüggések és antioxidáns-hatások feltárására alkalmas, míg a ponty lárvák vizsgálata a gyakorlati takarmányozási alkalmazhatóságot és a hosszabb távú fiziológiai következményeket teszi értelmezhetővé. Az eredmények együttesen mutatják, hogy a transzlációs modellrendszer

lehetővé teszi a GTE-k nutritív és élettani hatásainak komplex értékelését, ezért az eltérő biológiai komplexitás miatt az adatok integrálása körültekintést igényel.

Az eredmények összhangban állnak a kísérleti céllal, miszerint a magas szénhidrát-tartalmú étrenddel gyulladásozó folyamatokat kívántam indukálni, és ezek géneexpressziós következményeit vizsgálni. A HS étrend által kiváltott változások jól szemléltetik, hogy a szignifikáns eltérések biológiai relevanciáját mindig kontextusban kell értelmezni, mivel egyes géneexpressziós módosulások valódi élettani hatásokat tükröznek, míg mások jelentősége korlátozott.

Az ATP-szint rövid távon hasznos markernek bizonyult a táplálkozási hatások korai kimutatására, ugyanakkor a GTE-k hosszú távú hatásainak értékeléséhez elengedhetetlen a növekedési, túlélési és egészségi paraméterek bevonásával végzett utánkövetés.

E fejezetben a 4. célkitűzés teljesült, amely a két modellrendszer összekapcsolására és a translációs alkalmazhatóság lehetőségeinek bemutatására irányult.

Gyakorlati következtetés / takarmányozási hasznosítás

A vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a GTE-k alkalmazása a halgazdálkodásban ígéretes lehet, mivel kedvező élettani hatásokat mutattak a halivadékok fejlődésének korai szakaszában. Használatuk különösen indokolt lehet stresszhelyzetekben, a korai életfázisokban természetes energiatámogató vagy immunrendszert erősítő anyagként, illetve alternatív, természetes eredetű adalékanyagként, amely hozzájárulhat a betegségek megelőzéséhez és a vitalitás javításához. Ugyanakkor az extraktumok takarmányba történő integrációja technológiai kihívásokat (pl. stabilitás, adagolhatóság, ízletesség) vet fel, amelyek megoldásához további fejlesztések – például mikroenkapszulálás és stabilitási vizsgálatok – szükségesek. A jövőbeni kutatásoknak ezért a GTE-k hatékony és biztonságos takarmányrendszerekbe történő beépítésére, valamint tárolhatóságuk optimalizálására kell irányulniuk.

6. ÚJ TUZUMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Jelen kutatás kiemelkedik összehasonlító megközelítésével, és részletes vizsgálatot kínál a vizsgált rügykivonatok komponens összetételéről, ahol:

- A *Ribes nigrum* (Rn-GTE) rügykivonatban 139 bioaktív komponenszt azonosítottam, amelyek közül 104 vegyület ismeretlen volt a rügykivonatban. Ezek közül 72 flavonoid, 19 polifenol, 6 karbonsav, 2 alkaloid, 2 észter és 3 egyéb metabolit tartozik az újdonság körébe.
- A *Rubus fruticosus* (Rf-GTE) rügyhajtásból előállított gemmoterápiás extraktumban azonosított 95 bioaktív komponens közül 57 vegyület ismeretlen volt a rügykivonatban. Ezek közül 22 flavonoid, 18 polifenol, 6 aminosav, 4 karbonsav, 2 vitamin, 1 észter és 4 további metabolit tartozik az újdonság körébe.
- A *Vaccinium myrtillus* (Vm-GTE) rügyhajtásából 85 bioaktív komponens közül összesen 34 vegyület ismeretlen volt a rügykivonatban. Ezek közül 16 flavonoid, 6 polifenol, 1 terpenoid, 1 iridoid, 1 aminosav, 2 karbonsav, 1 lakton, 1 cukor és 4 egyéb metabolit tartozik az újdonság körébe.

2. A GTE-k komponens-összetétele pozitív hatást mutatott a mikroorganizmusokkal szemben, ami lehetőséget nyit az eddig nem vizsgált gemmoterápiás extraktumok jövőbeni alkalmazására.

- Az antimikrobiális vizsgálatok során, táplevesben történő tenyésztés mellett, a minimális baktericid koncentrációk (MBC) az Rf-GTE esetében a következők voltak: 60% (30 mg/ml) – *L. monocytogenes*, *S. aureus*; 70% (35 mg/ml) – *E. faecalis*; 100% (50 mg/ml) – *S. cerevisiae*.
- A Vm-GTE esetében az MBC értékek: 30% (15 mg/ml) – *E. faecalis*; 60% (30 mg/ml) – *L. monocytogenes*; 70% (35 mg/ml) – *P. aeruginosa*; 80% (40 mg/ml) – *S. aureus*, *S. enterica*; 100% (50 mg/ml) – *S. cerevisiae*.

3. A transzlációs modellrendszer keretében a *Drosophila melanogaster* és a *Cyprinus carpio* lárvákon végeztem összehasonlító vizsgálatokat a GTE-k biológiai hatásainak értékelésére.

- A muslica-modellben a szeder (Rf-GTE) kivonatok szignifikáns hatást mutattak a bebábozódásra és az imágók kikelésére: NM étrend mellett a bebábozódás 2 ml

(66%) és 3 ml (69%), HS étrend mellett 1 ml (57%) és 2 ml (56%); a kikelő imágók aránya 2 ml esetén NM (65%) és HS (54%) étrend mellett volt a legmagasabb. A fekete ribiszke (Rn-GTE) kivonatok bifázisos választ eredményeztek, míg a fekete áfonya (Vm-GTE) kivonatok nem mutattak számottevő pozitív hatást. Egyik kivonat sem bizonyult toxikusnak.

- A pontylárvák esetében mindhárom GTE nutritív potenciált mutatott a korai fejlődési szakaszban. Új módszerfejlesztési eredményként elvégeztem az ATP-tartalom közvetlen meghatározását táplálkozó pontylárvákban, amely direkt bizonyítékkal szolgált a GTE-k metabolikus aktivitásra és tápanyag-hasznosulásra gyakorolt hatásáról.

7. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

1. Biológiai és táplálkozás-élettani hatások

- A GTE-k jelentős hatást gyakoroltak a lárvák és bábok életképességére, ami szoros összefüggést mutatott a táplálkozási feltételekkel (normál vs. magas szénhidrátszint).
- Normál szénhidrátszint mellett az Rf-GTE és Rn-GTE különböző mértékű életképesség-növekedést eredményezett, ami a fitonutriensek összetételbeli diverzitásának szerepére utal.
- Magas szénhidráttartalmú környezetben a GTE-k életképesség-növelő hatása még erőteljesebb volt, ami potenciális támogató szerepet jelez metabolikus stresszhelyzetekben.
- A Vm-GTE magas polifenol- és flavonoidtartalma a lárvák és bábok életképességének csökkenésével járt együtt, ugyanakkor a pontylárvák ATP-szintjét növelte, ami metabolikus aktivációra utal.

2. Antimikrobiális és egészségvédő potenciál

- A Vm-GTE több mikrobafaj ellen gátló hatást mutatott, míg az Rf-GTE esetében volt megfigyelhető a legerősebb antimikrobiális aktivitás.
- Ezek az eredmények természetes alternatívát kínálhatnak a fertőzések megelőzésében vagy kiegészítő kezelésében, ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek a gyakorlati bevezetéshez.

3. Módszertani és technológiai innováció

- Kidolgozásra került egy új, egyedileg fejlesztett ATP-mérési eljárás, amely lehetővé tette a táplálkozó pontylárvák ATP-tartalmának pontos és közvetlen meghatározását.
- Ez a módszer mérőföldkő a halnevelésben, mivel:
 - objektív, kvantitatív értékelést biztosít az élőlények metabolikus aktivitásáról,
 - alkalmas a különböző kiegészítőtápok hatékonyságának gyors és biokémiailag megalapozott értékelésére,

- közvetlenül hozzájárulhat az optimális startertápok fejlesztéséhez és a halak egészségi állapotának javításához.
- A módszer kutatási és gyakorlati programokban egyaránt alkalmazható, ami új standardot teremthet a tápanyag-hasznosítás biokémiai értékelésében.

4. Transzlációs kutatási modell és alkalmazási lehetőségek

- A *Drosophila melanogaster* és *Cyprinus carpio* fejlődési modelljeinek összevetése transzlációs keretet biztosított, amely összekapcsolja az alapkutatási eredményeket a gyakorlati halneveléssel.
- Az eredmények alapján a GTE-k összetételének és koncentrációjának célzott módosítása javíthatja a halnevelés hatékonyságát, és támogathatja fenntarthatóbb táplálkozási stratégiák kidolgozását.

A kutatás tudományosan megalapozott kiindulópontot biztosít a GTE-k biztonságos és hatékony alkalmazásához az akvakultúrában.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre fontosabb a természetes növényi anyagok ismerete és alkalmazása antimikrobiális és főképpen élettani hatásaik miatt. A növények gazdagok fitonutriensekben, amelyek fokozhatják a celluláris életjelenségek hatékonyságát, valamint elengedhetetlenek az egészséges táplálkozás szempontjából. Számos alapvető tápanyagot biztosítanak, mint például élelmi rostokat, ásványi anyagokat, vitaminokat és fitokemikáliákat, különösen a polifenolokat, melyek antioxidáns és gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkeznek. Ugyanakkor sok növényi rész, például a rügyek, kevésbé ismert forrásai ezeknek a vegyületeknek. Ennek okán a tanulmány a növényi rügyhajtásból készült kivonatok gyógyászati tulajdonságait vizsgálja botanikai, kémiai, farmakológiai és klinikai megközelítéssel, analitikai technikákkal feltárva a bennük rejlő hatóanyagokat.

Dolgozatomban a fekete ribizli (*Ribes nigrum* L.), szeder (*Rubus fruticosus* L.) és fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus* L.) fiatal rügyhajtásainak biológiai hatásait vizsgáltam. A fekete ribizli gyümölcs magas antioxidáns aktivitású, megköti a szabad gyököket, és pozitívan befolyásolja a vércukorszintet, valamint gyulladáscsökkentő, antimikrobiális és rákellenes hatással bír. A szederből származó fenolos vegyületek nagy fiziológiai tulajdonságokat képviselnek, amelyek számos megelőző vagy kezelhető betegséghez kapcsolódnak, beleértve az anyagcserezavarokat és a krónikus betegségeket, mint a rákot, cukorbetegséget, magas vérnyomást, szív- és érrendszeri és további számos betegséget. Míg a fekete áfonya kémiai összetevőiről és a polifenol tartalmával illetve antioxidáns kapacitásával magyarázott antiinflammatorikus hatásáról ismeretes, a levelei antidiabetikus és antioxidáns vegyületek forrásai.

A gemmoterápiás kivonatok (GTE) a zsenge fekete ribizli (Rn), szeder (Rf) és fekete áfonya (Vm) rügyekből készültek. Ezek elkészítése szigorú minőségellenőrzési eljárások biztosításával történt, hogy kiváló minőségű kivonatokat tudjunk előállítani. A GTE-ket 96%-os etanol és glicerin 1:1 arányú keverékével készítettem el, hogy megőrizze a növényi anyagok természetes tulajdonságait és terápiás hatásait.

A kivonatok kvalitatív elemzést UHPLC Dionex Ultimate 3000RS készülékkel, illetve a kvantitatív elemzést a Shimadzu Nexera I LC-MS-8045 rendszerrel végeztem. A kvalitatív és kvantitatív elemzések rámutattak, hogy a GTE-k egyedi fitotápanyag-profilokkal rendelkeznek, amelyekben számos bioaktív vegyület található. A GTE-ben

rejlő vegyületek lehetséges egészségügyi előnyei azt sugallják, hogy alkalmasak lehetnek az egészségmegőrzés és a betegségek megelőzése terén.

A GTE-k antimikrobiális hatásait 8 baktérium és 6 gomba ellen vizsgáltam, ahol változó mértékű hatékonyságot mutattak. Az agar diffúziós módszerrel kimutattam, hogy a szeder GTE nyolc mikrobafaj növekedését gátolja a vizsgált mikroorganizmusok közül, és figyelemre méltó módon a penész- és élesztőtörzseket is. A szeder GTE eredményesebb antimikrobiális szerként jelenik meg, amely jelentősen gátolja a mikroorganizmus növekedését. Azonban a mikrobiális halált kiváltó hatás inkább a *S. aureus* és *L. monocytogenes* esetében releváns. Az áfonya GTE fokozott bakteriosztatikus, de jelentősebb baktericid tulajdonságokat mutatott, bizonyos specifikussággal az *E. faecalis* és a *L. monocytogenes* ellen. A fekete ribizli GTE csekély hatást mutatott a baktériumok növekedésére vagy elpusztulására, ami azt jelzi, hogy ennek a GTE-nak nincs jelentős antimikrobiális hatása.

A *Drosophila melanogaster* w^{m4h} génpanel vizsgálati eredményekből kiderült, hogy több mint tíz funkcionális klaszterbe lehet a HS étrend alapú és jelentősen megváltozott expressziójú géneket sorolni. Azonban, a NM és HS étrenddel kapcsolatos transzkriptomok összehasonlító elemzése kimutatta, hogy az étrend jelentős hatással van az *ecetmuslica* egyedfejlődésére és génjeinek expressziójára.

A *Drosophila melanogaster* és a *Cyprinus carpio* lárvákon végzett kísérletek alkalmasak a genomiális és táplálkozási függőségek vizsgálatára, amely manapság egyik legkedveltebb modellrendszernek minősül. Az élettani hatások vizsgálata során megállapítottuk, hogy a magas szénhidrát (HS) tartalmú étrend alkalmazásakor a GTE-ok képesek a fejlődés késleltetést javítani vagy akár növelni a túlélési arányt, ezáltal pozitív hatást gyakorolva az egészségre. Az *ecetmuslica* életképességét a Rf-GTE támogatta számottevően, de említést érdemel a Rn-GTE is. Azonban, az ATP-hozamokban jelentős különbségek mutatkoztak a táplálkozó lárva szakaszokban, ahol Vm-GTE és a Rn-GTE hatására nőtt az ATP-koncentráció a lárvákban, míg az Rf-GTE-vel szemben nagyon változatos ATP-koncentrációk mutatkoztak meg. Az új módszer, amely az ATP-tartalom mérésére alkalmazható a lárvafejlődésben, valóban egyedülálló és innovatív megközelítést jelent a világon. A kapcsolt transzlációs modellrendszer által kapott eredmények alapján megfogalmazható, hogy a predikciók jelentősen növelhetik a haszon halfajok kiegészítőtáp-fejlesztésének költséghatékonyságát.

9. SUMMARY

Nowadays, the knowledge and application of natural plant materials are becoming increasingly important due to their antimicrobial and, above all, physiological effects. Plants are rich in phytonutrients, which can enhance the efficiency of cellular life processes and are essential for a healthy diet. They provide numerous essential nutrients, such as dietary fibers, minerals, vitamins, and phytochemicals, particularly polyphenols, which possess antioxidant and anti-inflammatory properties. However, many plant parts, such as buds, are lesser-known sources of these compounds.

For this reason, this study examines the medicinal properties of extracts derived from plant bud shoots using botanical, chemical, pharmacological, and clinical approaches, employing analytical techniques to reveal the active compounds they contain. In my research, I investigated the biological effects of young bud shoots of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.), blackberry (*Rubus fruticosus* L.), and bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Blackcurrant fruit exhibits high antioxidant activity, neutralizes free radicals, and positively influences blood sugar levels, in addition to its anti-inflammatory, antimicrobial, and anticancer effects. The phenolic compounds derived from blackberries possess significant physiological properties linked to the prevention or treatment of various diseases, including metabolic disorders and chronic conditions such as cancer, diabetes, hypertension, cardiovascular diseases, and many others. Meanwhile, bilberry is well known for its chemical composition and polyphenol content, which explain its antioxidant capacity and anti-inflammatory effects. Moreover, its leaves serve as sources of antidiabetic and antioxidant compounds.

Gemmotherapy extracts (GTEs) were prepared from tender blackcurrant (Rn), blackberry (Rf), and bilberry (Vm) buds, following strict quality control procedures to ensure high-quality extracts. The GTEs were produced using a 1:1 mixture of 96% ethanol and glycerin to preserve the natural properties and therapeutic effects of the plant materials.

The qualitative analysis of the extracts was performed using a UHPLC Dionex Ultimate 3000RS device, and the quantitative analysis was performed using the Shimadzu Nexera I LC-MS-8045 system. Qualitative and quantitative analyses revealed that GTEs have unique phytonutrient profiles containing a variety of bioactive compounds. The potential health benefits of compounds in GTE suggest that they may be useful in health maintenance and disease prevention.

I tested the antimicrobial effects of GTEs against 8 bacteria and 6 fungi, where they showed varying degrees of effectiveness. Using the agar diffusion method, it was shown that blackberry GTE inhibits the growth of eight microbial species among the tested microorganisms, and remarkably, mold and yeast strains as well. Blackberry GTE appears as a more effective antimicrobial agent that significantly inhibits the growth of the microorganism. However, the microbial killing effect is more relevant for *S. aureus* and *L. monocytogenes*. Bilberry GTE showed enhanced bacteriostatic but more significant bactericidal properties, with certain specificity against *E. faecalis* and *L. monocytogenes*. Blackcurrant GTE showed little effect on bacterial growth or killing, indicating that this GTE does not have significant antimicrobial activity.

The test results of the *Drosophila melanogaster* w^{m4h} gene panel revealed that genes with significantly altered expression based on the HS diet can be classified into more than ten functional clusters. However, a comparative analysis of the transcriptomes associated with NM and HS diet showed that the diet has a significant effect on the individual development and gene expression of the fruit fly.

Experiments carried out on fruit fly *Drosophila melanogaster* and *Cyprinus carpio* larvae are suitable for examining genomic and nutritional dependencies, which is considered one of the most popular model systems today. During the examination of the physiological effects, it was established that when using a diet with a high carbohydrate (HS) content, GTEs are able to improve developmental delay or even increase their survival rate, thereby having a positive effect on health. Rf-GTE significantly supported the viability of fruit fly, but Rn-GTE also deserves mention. However, there were significant differences in the ATP yields in the feeding larval stages, where the ATP concentration in the larvae increased under the influence of Vm-GTE and Rn-GTE, while the ATP concentrations were very diverse compared to Rf-GTE.

Based on the results obtained from the coupled translational model system, it can be concluded that predictive approaches can significantly enhance the cost-effectiveness of feed development for commercial fish species.

10. IRODALOMJEGYZÉK

- ADAMS M.D. – CELNIKER S.E. – HOLT R.A. – EVANS C.A. – GOCAYNE J.D. – AMANATIDES P.G – SCHERER S.E. – LI P.W. – HOSKINS R.A. – GALLE R.F. et al. – VENTER J.C. (2000): The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461): 2185–2195
- AGBEBI E.A. – ALABI O.S. – NKRUMAH A.O. – OGBOLE O.O. (2022): Evaluation of the antibacterial and antifungal potentials of peptide-rich extracts from selected Nigerian plants. *European Journal of Integrative Medicine*, 54:102163.
- ALBARRACIN S.L. – STAB B. – CASAS Z. – SUTACHAN J.J. – SAMUDIO I. – GONZALEZ J. – GONZALO L. – CAPANI F. – LUDIS M. – BARRETO G.E. (2012): Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. *Nutritional Neuroscience*, 15(1): 1–9.
- ALFA R.W.– KIM S.K. (2016): Using *Drosophila* to discover mechanisms underlying type 2 diabetes. *Disease Models & Mechanisms*, 9(4): 365–376.
- AL-GBURI N.M. (2020): Detection and pathogenicity of *Listeria monocytogenes* in common carp (*Cyprinus carpio*) fish in Baghdad, *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(2):311–316.
- ALLEN L.H. – MILLER J.W. – DE GROOT L. – ROSENBERG I.H. – SMITH A.D. – REFSUM H. – RAITEN D.J. (2018): Biomarkers of Nutrition for Development (BOND): vitamin B-12 review. *The Journal of nutrition*, 148: 1995S–2027S.
- ANDERSEN B. – SMEDSGAARD J. – FRISVAD J.C. (2004): *Penicillium expansum*: consistent production of patulin, chaetoglobosins, and other secondary metabolites in culture and their natural occurrence in fruit products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8): 2421–2428.
- ANDREJA R. – UYTTENDAELE M. – OMBREGT S.A. – JAASKELAINEN E. – SALKINOJA-SALONEN M. – DEBEVERE J. (2006): Influence of type of food on the kinetics and overall production of *Bacillus cereus* emetic toxin. *Journal of Food Protection*, 69(4): 847–852.
- ANTUS S. – MÁTYUS P. (2014): Szerves kémia III. *Nemzedékek Tudása Tankönyvkiadó*, Budapest, 72.
- APAK R. – GÜÇLÜ K. – DEMIRATA B. – ÖZYÜREK M. – ÇELİK S.E. – BEKTAŞOĞLU B. – BERKER K.I. – ÖZYURT D. (2007): Comparative evaluation

- of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7): 1496–1547.
- ARDURA A. – LINDE A.R. – GARCIA-VAZQUEZ E. (2013): Genetic detection of *Pseudomonas* spp. in commercial amazonian fish. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9): 3954–3966.
- ARGUDÍN M.Á. – MENDOZA M.C. – RODICIO M.R. (2010): Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7): 1751–1773.
- ARNOLD P.K. – FINLEY L.W.S. (2023): Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle. *Journal of Biological Chemistry*, 299(2): 102838.
- ASBAGHI O. – SADEGHIAN M. – NAZARIAN B. – SARRESHTEDARI M. – MOZAFFARI-KHOSRAVI H. – MALEKI V. – ALIZADEH M. – SHOKRI A. – SADEGHI O. (2020): The effect of vitamin E supplementation on selected inflammatory biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Scientific Reports*, 10(1): 17234.
- AWUCHI C.G. – ONDARI E.N. – NWOZO S. – ODONGO G.A. – ESEOGHENE I.J. – TWINOMUHWEZI H. – OGBONNA C.U. – UPADHYAY A.K. – ADELEYE A.O. – OKPALA C.O.R. (2022): Mycotoxins' toxicological mechanisms involving humans, livestock and their associated health concerns: A Review. *Toxins*, 14(3): 167.
- BAENAS N. – WAGNER A.E. (2022): *Drosophila melanogaster* as a model organism for obesity and type-2 diabetes mellitus by applying high-sugar and high-fat diets. *Biomolecules*, 12(2): 307.
- BAJIC Z. – SOBOT T. – SKRBIC R. – STOJILJKOVIC M.P. – PONORAC N. – MATAVULJ A. – DJURIC D.M. (2022): Homocysteine, vitamins B6 and folic acid in experimental models of myocardial infarction and heart failure—how strong is that link?. *Biomolecules*, 12(4): 536.
- BAKER C.A. – RUBINELLI P.M. – PARK S.H. – CARBONERO F. – RICKE S.C. (2016): Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food: Incidence, ecology, and detection strategies. *Food Control*, 59: 407–419.
- BAKOS J. (1968): A ponty pikkelyzetének értékelése és bírálata a tenyészkiválasztás során. *Halászat*, 67: 84–85.
- BALOGH E. – HEGEDŰS A. – STEFANOVITS-BÁNYAI É. (2010): Application of and correlation among antioxidant and antiradical assays for characterizing antioxidant capacity of berries. *Scientia Horticulturae*, 125(3): 332–336.

- BALOGH E. (2011): Antioxidáns kapacitás meghatározása és ennek kialakításában szerepet játszó vegyületek vizsgálata bogyós gyümölcsök esetében = Characterization of the antioxidant capacity and determination of some antioxidant compounds in berry fruits. Doktori disszertáció, *Budapesti Corvinus Egyetem*, 54–55.
- BALOUIRI M. – SADIKI M. – IBNSOUDA S.K. (2016): Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71–79.
- BALUCHNEJADMOJARAD T. – RABIEE N. – ZABIHNEJAD S. – ROGHANI M. (2017): Ellagic acid exerts protective effect in intrastriatal 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease: Possible involvement of ER β /Nrf2/HO-1 signaling. *Brain Research*, 1662: 23–30.
- BANDERIA J.G. – SUTILI F.J. – GRESSLER L.T. – ELY V.L. – SILVERIA B.P. – TASCIA C. – REGHELIN M. – MATTER L.B. – VARGAS A.P.C. – BALDISSEROTTO B. (2018): Antibacterial potential of phytochemicals alone or in combination with antimicrobials against fish pathogenic bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 125(3): 655–665.
- BARABOI V.A. – MEDOVAR B.Y. (1963): Anti-radiation and anti-oxidation properties of some polyphenols. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal (Ukrainian SSR) Formerly Ukr. Biokhim. Zh. (1946–1977)*, 35.
- BASS T.M. – GRANDISON R.C. – WONG R. – MARTINEZ P. – PARTRIDGE L. – PIPER M.D. (2007): Optimization of dietary restriction protocols in *Drosophila*. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 62(10): 1071–1081.
- BASSAGANYA-RIERA J – SKONECZKA J. – KINGSTON D.G.J. – KRISHNAN A. – MISYAK S.A. – GURI A.J. – PEREIRA A. – CARTER A.B. – MINORSKY P. – TUMARKIN R. – HONTECILLAS R. (2010): Mechanisms of action and medicinal applications of abscisic acid. *Current Medicinal Chemistry*, 17(5): 467–478.
- BAUER A.W. – KIRBY W.M.M. – SHERRIS J.C. – TURCK M. (1966): Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical pathology*, 45(4): 493–496.
- BAYAR Y. – ONARAN A. – YILAR M. – GUL F. (2018): Determination of the Essential Oil Composition and the Antifungal Activities of Bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) and BayLaurel (*Laurus nobilis L.*). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(2): 548–555.

- BÉLÁDI I. – NÁSZ I. (1997): Orvosi mikrobiológia. *Semmelweis Kiadó*, Budapest, 170–260.
- BELITZ H.D. – GROSCH W. – SCHIEBERLE P. (2004): Amino acids, peptides, proteins. *In Food Chemistry*, 8–91.
- BENNETT J. – KLICH M. (2003): Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3): 497.
- BENNETT J.W. (1987): Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and *Mycopathologia*. *Mycopathologia*, 100: 3–5.
- BENVENUTI S. – PELLATI F. – MELEGARI M.A. – BERTELLI D. (2004): Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*, 69(3): FCT164–FCT169.
- BENZIE I.F. – STRAIN J.J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76.
- BHUIA M.S. – WILAIRATANA P. – FERDOUS J. – CHOWDHURY R. – BAPPI M.H. – RAHMAN M.A. – MUBARAK M.S. – ISLAM M.T. (2023): Hirsutine, an emerging natural product with promising therapeutic benefits: a systematic review. *Molecules*, 28(16): 6141.
- BHUNIA A.K. – BHUNIA A.K. (2018): *Staphylococcus aureus*. In: *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, 181–192.
- BLEVINS H.M. – XU Y. – BIBY S. – ZHANG S. (2022): The NLRP3 Inflammasome Pathway: A Review of Mechanisms and Inhibitors for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14: 879021.
- BOEING T. – DE SOUZA P. – SPECA S. – SOMENSI L.B. – MARIANO L.N.B. – CURY B.J. – FERREIRA DOS ANJOS M. – QUINTÃO N.L.M. – DUBUQOY L. – DESREUMAX P. – DA SILVA L.M. – DE ANDRADE S.F. (2020): Luteolin prevents irinotecan-induced intestinal mucositis in mice through antioxidant and anti-inflammatory properties. *British Journal of Pharmacology*, 177(10): 2393–2408.
- BOIVIN A. – DURA J.M. (1998): In vivo chromatin accessibility correlates with gene silencing in *Drosophila*. *Genetics*, 150(4): 1539–1549.
- BORSODI L. – FÜLÖP Z. (1984): Fructe de pădure /Erdei Gyümölcsök. *Pedagógusok Háza*, 46–61.
- BOUILLON R. – MARCOCCI C. – CARMELIET G. – BIKLE D. – WHITE J.H. – DAWSON-HUGHES B. – LIPS P. – MUNNS C.F. – LAZARETTI-CASTRO M. –

- GIUSTINA A. – BILEZIKIAN J. (2019): Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocrine Reviews*, 40(4): 1109–1151.
- BURDULIS D. – SARKINAS A. – JASUTIENE I. – STACKEVICENE E. – NIKOLAJEVAS L. – JANULIS V. (2009): Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66(4): 399–408.
- CALABRESE V. – CORNELIUS C. – DINKOVA-KOSTOVA A.T. – IAVICOLI I. – DI PAOLA R. – KOVERECH A. – CUZZOCREA S. – RIZZARELLI E. – CALABRESE E.J. (2012): Cellular stress responses, hormetic phytochemicals and vitagenes in ageing and longevity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5): 753–783.
- CAO G. – PRIOR L.R. (1998): Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, 44(6): 1309–1315.
- CAO H. – XU H. – ZHU G. – LIU S. (2017): Isoquercetin ameliorated hypoxia/reoxygenation-induced H9C2 cardiomyocyte apoptosis via a mitochondrial-dependent pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95: 938–943.
- CAO L. – LIU X. – CAO H. – LV Q. – TONG N. (2012): Modified high-sucrose diet-induced abdominally obese and normal-weight rats developed high plasma free fatty acid and insulin resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 374346.
- CAPORALI S. – DE STEFANO A. – CALABRESE C. – GIOVANNELLI A. – PIERI M. – SAVINI I. – TESAURO M. – BERNARDINI S. – MINIERI M. – TERRINONI A. (2022). Anti-inflammatory and active biological properties of the plant-derived bioactive compounds luteolin and luteolin 7-glucoside. *Nutrients*, 14(6): 1155.
- CARAZO A. – MACÁKOVÁ K. – MATOUŠOVÁ K. – KRČMOVÁ L.K. – PROTTI M. MLADĚNKA P. (2021): Vitamin A update: forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity. *Nutrients*, 13(5): 1703.
- CASSIANO L.M.G. – OLIVEIRA M.S. – PIOLINE J. – SALIM A.C.M. – COIMBRA R.S. (2022): Neuroinflammation regulates the balance between hippocampal neuron death and neurogenesis in an *ex vivo* model of thiamine deficiency. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1): 272.
- CASSIDY A. – O'REILLY É.J. – KAY C. – SAMPSON L. – FRANZ M. – FORMAN J.P. – CURHAN G. – RIMM E.B. (2011): Habitual intake of flavonoid subclasses and

- incident hypertension in adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93(2): 338–347.
- CHANG B. – WANG Z. – CHENG H. – XU T. – CHEN J. – WU W. – LI Y. – ZHANG Y. (2024): Acacetin protects against sepsis-induced acute lung injury by facilitating M2 macrophage polarization via TRAF6/NF- κ B/COX2 axis. *Innate Immunity*, 30(1): 11–20.
- CHANG W. – WU Q.Q. – XIAO Y. – JIANG X.H. – TUAN Y. – ZENG X.F. – TANG Q.Z. (2017): Acacetin protects against cardiac remodeling after myocardial infarction by mediating MAPK and PI3K/Akt signal pathway. *Journal of Pharmacological Sciences*, 135(4): 156–163.
- CHANG W.A. – HUNG J.Y. – TSAI Y.M. – HSU Y.L. – CHIANG H.H. – CHOU S.H. – HUANG M.S. – KUO P.L. (2016): Laricitrin suppresses increased benzo(a)pyrene-induced lung tumor-associated monocyte-derived dendritic cell cancer progression. *Oncology Letters*, 11(3): 1783–1790.
- CHAROENNGAM N. – HOLICK M.F. (2020): Immunologic effects of vitamin D on human health and disease. *Nutrients*, 12(7): 2097.
- CHEN J. – CHEN Y. – ZHENG Y. – ZHAO J. – YU H. – ZHU J. (2022): Relationship between neuroprotective effects and structure of procyanidins. *Molecules*, 27(7): 2308.
- CHENG X. – YANG Y.L. – YANG H. – WANG Y.H. – DU G.H. (2018): Kaempferol alleviates LPS-induced neuroinflammation and BBB dysfunction in mice via inhibiting HMGB1 release and down-regulating TLR4/MyD88 pathway. *International Immunopharmacology*, 56: 29–35.
- CHO A.S. – JEON S.M. – KIM M.J. – YEO J. – SEO K.I. – CHOI M.S. – LEE M.K. (2010): Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3): 937–943.
- CHO I.H. – GONG J.H. – KANG M.K. – LEE E.J. – PARK J.H. – PARK S.J. – KANG Y.H. (2014): Astragaloside inhibits airway eotaxin-1 induction and epithelial apoptosis through modulating oxidative stress-responsive MAPK signaling. *BMC Pulmonary Medicine*, 14: 1–11.
- CHOI J.H. – KIM D.W. – PARK S.E. – LEE H.J. – KIM K.M. – KIM K.J. – KIM M.K. – KIM S.J. – KIM S. (2015): Anti-thrombotic effect of rutin isolated from *Dendropanax morbifera* Leveille. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(2): 181–186

- CHOI J.S. – ISLAM M.N. – ALI M.Y. – KIM E.J. – KIM Y.M. – JUNG H.A. (2014): Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin. *Food and Chemical Toxicology*, 64: 27–33.
- CICERO A.T. – COLLETTI A. (2016): Role of phytochemicals in the management of metabolic syndrome. *Phytomedicine*, 23(11): 1134–44.
- CIULCA S. – ROMA G. – ALEXA E. – RADULOV I. – COCAN I. – MADOSA E. – CIULCA A. (2021): Variation of polyphenol content and antioxidant activity in some bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) populations from Romania. *Agronomy*, 11(12): 2557.
- CLSI (1998): Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Standard; CLSI Guideline M26-A; *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 950 West Valley Roadn Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 8–15.
- CLSI (2012): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 19.
- COCOLIN L. – RANTSIOU K. – IACUMIN L. – CANTONI C. – COMI G. (2002): Direct identification in food samples of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* by molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12): 6273–6282.
- COMBS JR G.F. – MCCLUNG J.P. (2016): The Vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. *Academic Press*, London.
- CRESPY V. – WILLIAMSON G. (2004): A review of the health effects of green tea catechins in *in vivo* animal models. *The Journal of Nutrition*, 134(12): 3431S–3440S.
- CUYCKENS F. – CLAEYS M. (2004): Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(1): 1–15.
- DE OLIVEIRA FILHO J.W.G. – ISLAM M.T. – ALI E.S. – UDDIN S.J. – DE OLIVEIRA SANTOS J.V. – DE ALENCAR M.V.O.B. – JÚNIOR A.L.G. – JARDIM PAZ M.F.C. – DOS REMÉDIOS MENDES DE BRITO M. – DE CASTRO E SOUSA J.M. – SHAW S. – DAS GRACAS FREIRE DE DANTAS S. – MENDES DE MOURA DANTAS S.M. – LINS ROLIM H.M. – PINHEIRO FERREIRA P.M. – AMJAD KAMAL M. – PIECZYNSKA M.D. – DAS N. – GUPTA V.K. – MOCAN A. – DECARVALHO MELO-CAVALCANTE A.A. (2017): A comprehensive review on biological properties of citrinin. *Food and Chemical Toxicology*, 110: 130–141.

- DE OLIVEIRA G.B. (2019): *Processing of Berries-Effects on Functionality, Stability and Bioactivity of Anthocyanins*. Food and Nutrition Science, Department of Biology and Biological Engineering, Chalmers University of Technology. Gothenburg, Sweden.
- DEÁK T – KISKÓ G. – MARÁZ A. – MOHÁCSNÉ FARKAS CS. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest, 73–107.
- DEMIRBAS A. – YILMAZ V. – ILDIZ N. – BALDEMIR A. – OCSOY I. (2017): Anthocyanins-rich berry extracts directed formation of AgNPs with the investigation of their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Molecular Liquids*, 248: 1044–1049.
- DESRINI S. – GIRARDOT M. – IMBERT C. – MUSTOFA M. – NURYASTUTI T. (2023): Screening antibiofilm activity of invasive plants growing at the Slope Merapi Mountain, Central Java, against *Candida albicans*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1): 232.
- DOS SANTOS R.R. – XAVIER R.G.C. – DE OLIVEIRA T.F. – LEITE R.C. – FIGUEIREDO H.C.P. – LEAL C.A. G. (2019): Occurrence, genetic diversity, and control of *Salmonella enterica* in native Brazilian farmed fish. *Aquaculture*, 501: 304–312.
- DRIOICHE A. – RADİ F.Z. – AILLI A. – BOUZOUBAA A. – BOUTAKIOUT A. – MEKĐAD S. – KAMALY O.A. – SALEH A. – MAOULOUA M. – BOUSTA D. – SAHPAZ S. – MAKHOUKHI F.E. – ZAIR T. (2022): Correlation between the chemical composition and the antimicrobial properties of seven samples of essential oils of endemic *Thymes* spp. in Morocco against multi-resistant bacteria and pathogenic fungi. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 30(8): 1200–1214.
- DRZEWIECKA D. (2016): Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial Ecology*, 72: 741–758.
- EDQM. (2023): *European Pharmacopoeia*, 11th ed. Brussels, Belgium.
- EICKELBERG V. – LÜERSEN K. – STAATS S. – RIMBACH G. (2022): Phenotyping of *Drosophila melanogaster* – A nutritional perspective. *Biomolecules*, 12(2): 221.
- EKICI G. – DÜMEN E. (2019): *Escherichia coli* and food safety. In *The universe of Escherichia coli*. IntechOpen, London.
- EL BAABOUA A. – EL MAADOUDI M. – BOUYAHYA A. – BELMEHDI O. – KOUNNOUN A. – CHEYADMI S. – OUZAKAR S. – SENHAJI N.S. – ABRINI J. (2022): Evaluation of the combined effect of antibiotics and essential oils against

- Campylobacter* multidrug resistant strains and their biofilm formation. *South African Journal of Botany*, 150: 451–465.
- EL-ARABI T.F. – GRIFFITHS M.W. (2021): *Bacillus cereus*. In Foodborne infections and intoxications. *Academic Press*, 431–437.
- ELKIRAN O. – AVSAR C. (2020): Chemical composition and biological activities of the essential oil from the leaves of *Vaccinium myrtillus* L. *Bangladesh Journal Botany*, 49(1): 91–96.
- ESTEBAN A. – ABARCA M.L. – BRAGULAT M.R. – CABAÑES F.J. (2005): Influence of pH and incubation time on ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in culture media. *Journal of food Protection*, 68(7): 1435–1440.
- EYDURAN S.P. – EYDURAN E. – KHAWAR K.M. – AGAOGLU Y.S. (2008): Adaptation of eight American blackberry (*Rubus fruticosus* L.) cultivars for Central Anatolia. *African Journal of Biotechnology*, 7(15).
- FAGUNDES F.L. – PEREIRA Q.C. – ZARRICUETA M.L. – DOS SANTOS R.C. (2021): Malvidin protects against and repairs peptic ulcers in mice by alleviating oxidative stress and inflammation. *Nutrients*, 13(10): 3312.
- FAN X. – DU K. – LI N. – ZHENG Z. – QIN Y. – LIU J. – SUN R. – SU Y. (2018): Evaluation of anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of luteolin in mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(4): 1–10.
- FAO (2004): Species fact sheets: *Cyprinus carpio* – Nutritional requirements. *Fisheries and Aquaculture Department*. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. C1017, 12–14.
- FAO (2023): Fishery and Aquaculture Statistics – Yearbook 2020. *FAO Yearbook of Fishery and Aquaculture Statistics*. Rome, Italy, 113.
- FLYBASE (2025): FlyBase gene reports. FlyBase Consortium.
- FRANZ C.M. – STILES M.E. – SCHLEIFER K.H. – HOLZAPFEL W. H. (2003): *Enterococci* in foods-a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2–3): 105–122.
- FUNK C. (1912): The etiology of the deficiency diseases. *The Journal of State Medicine* (1912–1937): 20(6): 341–368.
- GAJIC I. – KABIC J. – KEKIC D. – JOVICEVIC M. – MILENKOVIC M. – MITIC CULAFIC D. – TRUDIC A. – LAZAR R. – OPAVSKI N. (2022): Antimicrobial susceptibility testing: a comprehensive review of currently used methods. *Antibiotics*, 11(4): 427.

- GALKÓ E. – HANCZ C. – PAPP ZS. – SZABÓ A. – MOLNÁR T. – CSENGERI I. (2023): Effects of dietary protein levels on growth performance and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 29(2): 123–134.
- GAO F. – JIAN L. – ZAFAR M.I. – DU W. – CAI Q. – SHAFQAT R.A. – LU F. (2015): 4-Hydroxyisoleucine improves insulin resistance in HepG2 cells by decreasing TNF- α and regulating the expression of insulin signal transduction proteins. *Molecular Medicine reports*, 12(5): 6555–6560.
- GARCIA E.J. – OLDONI T.L.C. – DE ALENCAR S.M. – REIS A. – LOGUERCIO A.D. – GRANDE R.H.M. (2012): Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Brazilian Dental Journal*, 23(1): 22–27.
- GAUTAM R. – SINGH M. – GAUTAM S. – RAWAT J.K. – SARAF S.A. – KAITHWAS G. (2016): Rutin attenuates intestinal toxicity induced by Methotrexate linked with anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *BMC complementary and alternative medicine*, 16: 1–6.
- GEĞOTEK A. – SKRZYDLEWSKA E. (2022): Antioxidative and anti-inflammatory activity of ascorbic acid. *Antioxidants*, 11(10): 1993.
- GEORGESCU C. – FRUM A. – VIRCHEA L.I. – SUMACHEVA A. – SHAMTSYAN M. – GLIGOR F.G. – OLÁH N.K. – MÁTHÉ E. – MIRONESCU M. (2022): Geographic variability of berry phytochemicals with antioxidant and antimicrobial properties. *Molecules*, 27(15): 4986.
- GHORBANI A. (2017): Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96: 305–312.
- GHOSH J.S. – BARALE S.S. (2015): Production, Isolation and Characterization of Exotoxins Produced by *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Proteus vulgaris* and its Significance in Food Poisoning. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 35(2): 245–249.
- GIACOPPO S. – SOUNDARA RAJAN T. – BRAMANTI O. – MAZZON E. (2016): Natural phytochemicals in the treatment and prevention of dementia: An overview. *Molecules*, 21(4): 518.
- GIL-MARTÍNEZ L. – MUT-SALUD N. – RUIZ-GARCÍA J.A. – FALCÓN-PIÑEIRO A. – MAIJÓ-FERRL M. – BAÑOS A. – DE LA TORRE-RAMÍREZ J.M. – GUILLANÓN E. – VERARDO V. – GÓMEZ-CARAVACA A.M. (2023): Phytochemicals determination, and antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and anticancer activities of blackberry fruits. *Foods*, 12(7): 1505.

- GIL-SERNA J. – VÁZQUEZ C. – GONZÁLEZ-JAÉN M.T. – PATIÑO B. (2014): Mycotoxins. Toxicology. In *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, Cambridge, MA, USA, 887–892.
- GINWALA R. – BHAVSAR R. – CHIGBU D.G.I. – JAIN P. – KHAN Z.K. (2019): Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. *Antioxidants*, 8(2): 35.
- GONG L.J. – WANG X.Y. – GU W.Y. – WU X. (2020): Pinocembrin ameliorates intermittent hypoxia-induced neuroinflammation through BNIP3-dependent mitophagy in a murine model of sleep apnea. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1): 337.
- GONG Y.Y. – WATSON S. – ROUTLEDGE M.N. (2016): Aflatoxin exposure and associated human health effects, a review of epidemiological studies. *Food Safety*, 4(1): 14–27.
- GOPALAN A. – REUBEN S.C. – AHMED S. – DARVESH A.S. – HOHMANN J. – BISHAYEE A. (2012): The health benefits of blackcurrants. *Food & Function*, 3(8): 795–809.
- GÓRNIAK I. – BARTOSZEWSKI R. – KRÓLICZEWSKI J. (2019): Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18: 241–272.
- GOSWAMI R.K. – SHARMA J. – SHRIVASTAV A.K. – KUMAR G. – GLENCROSS B.D. – TOCHER D.R. – CHAKRABARTI R. (2022): Effect of *Lemna minor* supplemented diets on growth, digestive physiology and expression of fatty acids biosynthesis genes of *Cyprinus carpio*. *Scientific Reports*, 12(1): 3711.
- GRAM L. – HUSS H.H. (2000): The microbiological safety and quality of food. *Aspen Publishers*, 472–506.
- GRAM L. – RAVN L. – RASCH M. – BRUHN J.B. – CHRISTENSEN A.B. – GIVSKOV M. (2002): Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2): 79–97.
- GRIFFITHS M.W. – SCHRAFT H. (2017): *Bacillus cereus* food poisoning. In *Foodborne Diseases*, Academic Press, 395–405.
- GROSSO G. – MICEK A. – GODOS J. – PAJAK A. – SCIACCA S. – GALVANO F. – GIOVANNUCCI E.L. (2017): Dietary flavonoid and lignan intake and mortality in prospective cohort studies: Systematic review and dose-response meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 185(12). 1304–1316.

- GUDEJ J. – TOMCZYK M. (2004): Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus* L. species. *Archives of Pharmacal Research*, 27: 1114–1119.
- GÜDER A. – GÜR M. – ENGIN, M.S. (2015): Antidiabetic and antioxidant properties of bilberry (*Vaccinium myrtillus* Linn.) fruit and their chemical composition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(2): 401–414.
- GULDIKEN B. – OZKAN G. – CATALKAYA G. – CEYLAND F.D. – ERIN YALCINKAYA I. – CAPANOGLU E. (2018): Phytochemicals of herbs and spices: Health versus toxicological effects. *Food and Chemistry Toxicology*, 119: 37–49.
- GUO H. – XIA M. – ZOU T. – LING W. – ZHONG R. – ZHANG W. (2012). Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23, 349–360.
- GUO X.F. – LIU J.P. – MA S.Q. – ZHANG P. – SUN W.D. (2018): Avicularin reversed multidrug-resistance in human gastric cancer through enhancing Bax and BOK expressions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103: 67–74.
- GYÖRGY É. (2021): Általános mikrobiológia, *Scientia kiadó*, Kolozsvár, 105-109.
- HAN K. – LANG T. – ZHANG Z. – ZHANG Y. – SUN Y. – SHEN Z. – BEUERMAN R.W. – ZHOU L. – MIN D. (2018): Luteolin attenuates Wnt signaling via upregulation of FZD6 to suppress prostate cancer stemness revealed by comparative proteomics. *Scientific Reports*, 8(1): 8537.
- HAN X. – GAO S. – CHENG Y. – SUN Y. – LIU W. – TANG L. – REN D. (2012): Protective effect of naringenin-7-O-glucoside against oxidative stress induced by doxorubicin in H9c2 cardiomyocytes. *BioScience Trends*, 6(1): 19–25.
- HANCZ CS. (2007): Haltenyésztés. *Egyetemi jegyzet*, Kaposvár, 74–79.
- HAO R. – SHAN S. – YANG D. – ZHANG H. – SUN Y. – LI Z. (2023): Peonidin-3-O-glucoside from purple corn cob ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by regulating mitochondrial and lysosome functions to reduce oxidative stress and inflammation. *Nutrients*, 15(2): 372.
- HARRIS C.S. – BURT A.J. SALEEM A. – LE P.M. – MARTINEAU L.C. – HADDAD P.S. – BENNETT S.A.L. – ARNASON J.T. (2007): A single HPLC-PAD-APCI/MS method for the quantitative comparison of phenolic compounds found in leaf, stem, root and fruit extracts of *Vaccinium angustifolium*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(2): 161–169.

- HATANO T. – KAGAWA H. – YASUHARA T. – OKUDA T. (1988): Two new flavonoids and other constituents in licorice root-their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 36(6): 2090–2097.
- HAWKEY P.M. – PENNER J.L. – LINTON A.H. – HAWKEY C.A. – CRISP L.J. – HINTON M. (1986): Speciation, serotyping, antimicrobial sensitivity and plasmid content of *Proteaeae* from the environment of calf-rearing units in South West England. *Epidemiology & Infection*, 97(3): 405–417.
- HEATLEY N.G. (1944): A method for the assay of penicillin. *Biochemical Journal*, 38(1): 61.
- HEGEDŰS A. – BALOGH E. – ENGEL R. – SIPOS B.Z. – PAPP J. – BLÁZOVICS A. – STEFANOVITS-BÁNYAI E. (2008): Comparative nutrient element and antioxidant characterization of berry fruit species and cultivars grown in Hungary. *HortScience*, 43(6): 1711–1715.
- HEGEDŰS A. – STEFANOVITSNÉ B.É. (2012): Természetes antioxidáns-forrásunk: A gyümölcs. *Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum*, Debrecen, 127–155.
- HEGEDŰS A. (2013): A csonthéjas gyümölcsök antioxidáns hatásában megnyilvánuló genetikai variabilitás jellemzése. *MTA doktori értekezés, Genetika és Növénynevelés Tanszék, Budapesti Corvinus Egyetem*, Budapest.
- HEINITZ M.C. – FIGUEIREDO SILVA C. – SCHULZ C. – LEMME A. (2018): The effect of varying dietary digestible protein and digestible non-protein energy sources on growth, nutrient utilization efficiencies and body composition of carp (*Cyprinus carpio*) evaluated with a two-factorial central composite study design. *Aquaculture Nutrition*, 24(2): 723–740.
- HENNEKINNE J.A. – DE BUYSER M.L. – DRAGACCI S. (2012): *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4): 815–836.
- HENNING W. (1981): Flavonol Glycosides of Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.): Raspberries (*Rebus idaeus* L.) and Blackberries (*Rebus fruticosus* L.) 14. Phenolics of Fruits. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 173: 180–187.
- HOU X. – ZHANG J. – AHMAD H. – ZHANG H. – XU Z. – WANG T. (2014): Evaluation of antioxidant activities of ampelopsin and its protective effect in lipopolysaccharide-induced oxidative stress piglets. *PLoS One*, 9(9): e108314.

- HOWES M.J. – SIMMONDS M.S. (2014): The role of phytochemicals as micronutrients in health and disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 17(6): 558–66.
- HRUBŠA M. – SIATKA T. – NEJMANOVÁ I. –, VOPRŠALOVÁ M. – KUJOVSKÁ KRČMOVÁ L. –, MATOUŠOVÁ K. – JAVORSKÁ L. – MACÁKOVÁ K. – MERCOLINI L. – REMIÃO F. – MÁTUŠ M. – MLADĚNKA P. – ON BEHALF OF THE OEMONOM. (2022): Biological Properties of Vitamins of the B-Complex, Part 1: Vitamins B1, B2, B3, and B5. *Nutrients*, 14(3): 484.
- HUANG D.J. – OU B.X. – PRIOR R.L. (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6): 1841–1856.
- HUANG W.Y. – ZHANG H.C. – LIU W.X. – LI C.Y. (2012): Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University Science B*, 13: 94–102.
- HUKKANEN A.T. – MIKKONEN T.P. – MÄÄTTÄ K.R. – TÖRRÖNEN A.R. – KÄRENLAMPI S.O. – KOKKO H.I. – KARJALAINEN R.O. (2001): Variation in flavonol content among blackcurrant cultivars. In *VIII International Rubus and Ribes Symposium*, 585: 121–124.
- HUMMER K.E. – JANICK J. (2006): *Rubus iconography*: antiquity to the Renaissance. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: Global Horticulture: Diversity and Harmony, an Introduction to IHC2006 759*, 89–106.
- HUR J. – HYUN M.S. – LIM S.Y. – LEE W.Y. – KIM D. (2009): The combination of berberine and irradiation enhances anti-cancer effects via activation of p38 MAPK pathway and ROS generation in human hepatoma cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107(5): 955–964.
- HYGIENA (2020): UltraSnap Surface ATP Test & EnSURE Touch Luminometer – User Manual. *Hygiene LLC*, Camarillo, California, USA, 1–32.
- IERI F. – INNOCENTI M. – POSSIERI L. – GALLORI S. – MULINACCI N. (2015): Phenolic Composition of “Bud Extracts” of *Ribes nigrum* L., *Rosa canina* L. and *Tilia tomentosa*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115: 1–9.
- IERI F. – MARTINI S. – INNOCENTI M. – MULINACCI N. (2013): Phenolic distribution in liquid preparations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis idaea* L. *Phytochemical Analysis*, 24(5): 467–475.

ILLUMINA INC. (2013): NextSeq™ 550 RNA sequencing solution – RNA to results workflow for gene expression profiling to whole transcriptome analysis. *Illumina Inc.* San Diego, California, USA. Application Note 770–2013–051 C.

Internetes hivatkozások:

JAAKOLA L. – MÄÄTTÄ–RIIHINEN K. – KÄRENLAMPI S. – HOHTOLA A. (2004): Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta*, 218: 721–728.

JAJERE S.M. (2019): A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12(4): 504.

JELKIĆ D. – OPAČAK A. – STEVIĆ I. – OZIMEC S. – JUG DUJAKOVIĆ J. – SAFNER R. (2012): Rearing carp larvae (*Cyprinus carpio*) in closed recirculatory system (RAS). *Croatian Journal of Fisheries: Ribarstvo*, 70(1): 9–17.

JIANG H. – YAMASHITA Y. – NAKAMURA A. – CROFT K. – ASHIDA H. (2019): Quercetin and its metabolite isorhamnetin promote glucose uptake through different signalling pathways in myotubes. *Scientific Reports*, 9(1): 2690.

JODAA HOLM H. – WADSWORTH S. – BJELLAND A.K. – KRASNOV A. – EVENSENS Ø. – SKUGOR S. (2016): Dietary phytochemicals modulate skin gene expression profiles and result in reduced lice counts after experimental infection in Atlantic salmon. *Parasites and Vectors*, 9(1): 271.

JORDAN W.H. – CARLTON W.W. – SANSING G.A. (1977): Citrinin mycotoxicosis in the mouse. *Food and Cosmetics Toxicology*, 15(1): 29–34.

JOVANOVIĆ J. – ORNELIS V.F. – MADDER A. – RAJKOVIĆ A. (2021): *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4): 3719–3761.

KADARIYA J. – SMITH T.C. – THAPALIYA D. (2014): *Staphylococcus aureus* and *staphylococcal* food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Research International*, 827965.

KAFKAS E. – KOŞAR M. – TÜREMIŞ N. – BAŞER K.H.C. (2006): Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. *Food chemistry*, 97(4): 732–736.

KAMLE M. – MAHATO D.K. GUPTA A. – PANDHI S. – SHARMA N. – SHARMA B. – KARJALAINEN R. – ANTONEN M. – SAVIRANTA N. – STEWART D. – MCDUGALL G.J. – HILZ H. – MATTILA P. – TÖRRÖNEN R. (2008): A review

on bioactive compounds in black currants (*Ribes nigrum* L.) and their potential health-promoting properties. In *I International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: BIOTECHFRUIT2008* 839, 301–307.

KARNA K.K. – CHOI B.R. – YOU J.H. – SHIN Y.S. – CUI W.S. – LEE S.W. – KIM J.H. – KIM C.Y. – KIM H.K. – PARK J.K. (2019): The ameliorative effect of monotropein, astragalín, and spiraeoside on oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial signaling pathway in varicocelized rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19: 1–13.

KAUFMAN T.C. (2017): A short history and description of *Drosophila melanogaster* classical genetics: chromosome aberrations, forward genetic screens, and the nature of mutations. *Genetics*. 206(2): 665–689.

KELEMEN J. (2014): Vitaminok. *Medicina Könyvkiadó*, Budapest, 28–35.

KENDIR G. – SÜNTAR I. – ÇERİBAŞI A.O. – KÖROĞLU A. (2019): Activity Evaluation on *Ribes* Species, Traditionally Used to Speed up Healing of Wounds: With Special Focus on *Ribes Nigrum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 237: 141–148.

KENNEDY D.O. (2016): B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy-a review. *Nutrients*, 8(2): 68.

KHADEMI F. – SAHEBKAR A. (2019): A systematic review and meta-analysis on the prevalence of antibiotic-resistant *Listeria* species in food, animal and human specimens in Iran. *Journal of Food Science and Technology*, 56: 5167–5183.

KIM M. – JUNG J. – JEONG N. Y. – CHUNG H.J. (2019): The natural plant flavonoid apigenin is a strong antioxidant that effectively delays peripheral neurodegenerative processes. *Anatomical Science International*, 94(4): 285–294.

KIRMIZİBEKMEZ H. – İNAN Y. – REİS R. – SİPAHI H. – GÖREN A.C. – YEŞİLADA E. (2019): Phenolic compounds from the aerial parts of *Clematis viticella* L. and their in vitro anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*, 33(17): 2541–2544.

KITAMİKADO M. – LEE Y.Z. (1975): Chondroitinase-producing bacteria in natural habitats. *Applied Microbiology*, 29(3): 414–421.

KLAVINS L. MEZULIS M. – NİKOLAJEVA V. – KLAVINS M. (2021): Composition, sun protective and antimicrobial activity of lipophilic bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) extract fractions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 138: 110784.

KOCH W. (2019): Dietary polyphenols-Important non-nutrients in the prevention of chronic noncommunicable diseases. A systematic review. *Nutrients*, 11(5): 1039.

- KOKOSKA L. – POLESNY Z. – RADA V. – NEPOVIM A. – VANEK T. (2002): Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(1): 51–53.
- KOOPMANS M.M. – BROUWER M.C. – VÁZQUEZ-BOLAND J.A. – VAN DE BEEK D. (2023): Human listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 36(1): e00060–19.
- KRANL K. – SCHLESIER K. – BITSCH R. – HERMANN H. – ROHE M. – BOHM V. (2005): Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. *Food Chemistry*, 93(1): 171–175.
- KRISCH J. – ÖRDÖGH L. GALGÓCZY L. – PAPP T. – VÁGVÖLGYI C. (2009): Anticandidal effect of berry juices and extracts from *Ribes*- species. *Central European Journal of Biology*, 4(1): 86–89.
- KRZEPIŁKO A. – PRAŽAK R. – ŚWIĘCIŁO A. (2021): Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of raspberry, blackberry and raspberry-blackberry hybrid leaf buds. *Molecules*, 26(2): 327.
- KUMAR A. – GARG V. – CHAUDHARY A. – JAIN P.K. – TOMAR P.K. (2014): Isolation, characterisation and antibacterial activity of new compounds from methanolic extract of seeds of *Caesalpinia crista* L.(*Caesalpinaceae*). *Natural Product Research*, 28(4): 230–238.
- LAAKSONEN O. – SANDELL M. – KALLIO H. (2010): Chemical factors contributing to orosensory profiles of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) fractions. *European Food Research and Technology*, 231(2): 271–285.
- LASLO É. – KÖBÖLKUTI Z.A. (2017): Total phenol content and antimicrobial activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) from several areas in the eastern Carpathians. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(1): 77–83.
- LE LOIR Y. – BARON F. – GAUTIER M. (2003): *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2(1): 63–76.
- LEADER D.P. – BROADIE K. – KEFELI M. – MADDEN S. – MATHIESEN R. – MURPHY K. – SAVAGE M. – TATE R. – TWEEDIE S. – VELTMAN D. – RUSSELL S. (2018): FlyAtlas 2: A new version of the *Drosophila melanogaster* expression atlas with RNA-Seq, miRNA-Seq and sex-specific data. *Nucleic Acids Research*, 46(D1): D809–D815.

- LEE S. – CHOI Y.J. – HUO C. – ALISHIR A. – KANG K.S. – PARK I.H. – JANG T. – KIM K.H. (2023): Laricitrin 3-rutinoside from Ginkgo biloba fruits prevents damage in TNF- α -stimulated normal human dermal fibroblasts. *Antioxidants*, 12(7): 1432.
- LEE S.J. – SON K.H. – CHANG H.W. – DO J.C. – JUNG K.Y. KANG S.S. – KIM H.P. (1993): Antiinflammatory activity of naturally occurring flavone and flavonol glycosides. *Archives of Pharmacal Research*, 16(1): 25–28.
- LEE Y.J. – CHOI H.S. – SEO M.J. – JEON H.J. – KIM K.J. – LEE B.Y. (2015): Kaempferol suppresses lipid accumulation by inhibiting early adipogenesis in 3T3–L1 cells and zebrafish. *Food & function*, 6(8): 2824–2833.
- LEI Z. – JERVIS J. – HELM R.F. (2001): Use of methanolysis for the determination of total ellagic and gallic acid contents of wood and food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3): 1165–1168.
- LI L. – MENDIS N. – TRIGUI H. – OLIVER J.D. – FAUCHER S.P. (2014): The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5: 258.
- LI W. – LIU M. – XU Y.F. – FENG Y. – CHE J.P. – WANG G.C. – ZHENG J.H. (2014): Combination of quercetin and hyperoside has anticancer effects on renal cancer cells through inhibition of oncogenic microRNA-27a. *Oncology Reports*, 31(1): 117–124.
- LI Y. – ZHENG X. – YI X. – LIU C. – KONG D. – ZHANG J. – GONG M. (2017): Myricetin: a potent approach for the treatment of type 2 diabetes as a natural class B GPCR agonist. *The FASEB Journal*, 31(6): 2603.
- LIGUORI F. – MASCOLO E. – VERNÌ F. (2021): The genetics of diabetes: What we can learn from *Drosophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20): 11295.
- LIU C.J. – WU S.J. – SHEN S.C. – CHEN L.C. – CHEN Y.L. – HUANG W.C. (2022): Acacetin protects against non-alcoholic fatty liver disease by regulating lipid accumulation and inflammation in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9): 4687.
- LOWE B.A. – MARSH T.L. – ISAACS-COSGROVE N. – KIRKWOOD R.N. – KIUPEL M. – MULKS M.H. (2011): Microbial communities in the tonsils of healthy pigs. *Veterinary Microbiology*, 147(3-4): 346–357.
- LUCERI C. – GUGLIELMI F. – LODOVICI M. – GIANNINI L. – MESSERINI L. – DOLARA P. (2004): Plant phenolic 4-coumaric acid protects against intestinal inflammation in rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 39(11): 1128–1133.

- LUCIANO-ROSARIO D. – KELLER N.P. – JURICK W.M. (2020): *Penicillium expansum*: Biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. *Molecular Plant Pathology*, 21(11): 1391–1404.
- LUGASI A. – HÓVÁRI J. – SÁGI K.V. – BÍRÓ L. (2003): The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica hungarica*, 54(2): 119–125.
- MAGALDI S. – MATA-ESSAYAG S. – DE CAPRILES C.H. – PÉREZ C. – COLELLA M.T. – OLAIZOLA C. – ONTIVEROS Y. (2004): Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1): 39–45.
- MANIÈRE G. – ALVES G. – BERTHELOT-GROSJEAN M. – GROSJEAN Y. (2020): Growth regulation by amino acid transporters in *Drosophila* larvae. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77: 4289–4297.
- MANU K.A. – SHANMUGAM M.K. – RAMACHANDRAN L. – LI F. – SIVEEN K.S. – CHINNATHAMBI A. – ZAYED M.E. – ALHARBI S.A. – ARFUSO F. – KUMAR A.P. – AHN K.S. – SETHI G. (2015): Isorhamnetin augments the anti-tumor effect of capecitabine through the negative regulation of NF- κ B signaling cascade in gastric cancer. *Cancer Letters*, 363(1): 28–36.
- MARINO A. – FIORENTINO C. – SPATARO F. – NOSTRO A. (2014): Effect of temperature on production of Ochratoxin A by *Aspergillus niger* in orange juice. *Journal of Toxins*, 947806.
- MASUDA Y. – MAEDA S. – WATANABE A. – SANO Y. – AIUCHI T. – NAKAJO S. – ITABE H. – NAKAYA K. (2006): A novel 21-kDa cytochrome c-releasing factor is generated upon treatment of human leukemia U937 cells with geranylgeraniol. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346: 454–460
- MCINTYRE K.L. – HARRIS C.S. – SALEEM A. – BEAULIEU L.P. – TA C.A. – HADDAD P.S. – ARNASON J.T. (2009): Seasonal phytochemical variation of anti-glycation principles in lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*). *Planta Medica*, 75(3): 286–292.
- MEMBREZ M. – MIGLIAVACCA E. – CHRISTEN S. – YAKU K. – TRIEU J. – LEE A.K. – MORANDINI F. – GINER M.P. – STINER J. – MAKAROV M.V. – GARRATT E.S. – VASILOGLOU M.F. – CHANVILLARD L. – DALBRAM E. – EHRLICH A.M. – SANCHEZ-GARCIA J.L. – CANTO C. – KARAGOUNIS L.G. – TREEBAK J.T. – MIGAUD M.E. – HESHMAT R. – RAZI F. – KARNANI N. – OSTOVAR A. – FARZADFAR F. – TAY S.K.H. – SANDERS M.J. – LILLYCROP

- K.A. – GODFREY K.M. – NAKAGAWA T. – MOCO S. – KOOPMAN R. – LYNCH G.S. – SORRENTINO V. – FEIGE J.N. (2024): Trigonelline is an NAD⁺ precursor that improves muscle function during ageing and is reduced in human sarcopenia. *Nature Metabolism*, 6(3): 433–447.
- MEMETE A.R. – SĂRAC I. – TEUSDEA A.C. – BUDĂU R. – BEI M. – VICAS S.I. (2023): Bioactive compounds and antioxidant capacity of several blackberry (*Rubus* spp.) fruits cultivars grown in Romania. *Horticulturae*, 9(5): 556.
- MENDONÇA J.D.S. – GUIMARÃES R.C.A. – ZORGETTO-PINHEIRO V.A. – FERNANDES C.D.P. – MARCELINO G. – BOGO D. – FREITAS K.C. – HIANE P.A. – DE PÁDUA MELO E.S. – VILELA M.L.B. – NASCIMENTO V.A.D. (2022): Natural antioxidant evaluation: A review of detection methods. *Molecules*, 27(11): 3563.
- MIKLÓS D. (2004): Kertészek könyve. *Napi Kiadó*, 70–71.
- MILIVOJEVIĆ J. – MAKSIMOVIĆ V. – NIKOLIĆ M. – BOGDANOVIĆ J. – MALETIĆ R. – MILATOVIĆ D. (2011): Chemical and antioxidant properties of cultivated and wild *Fragaria* and *Rubus* berries. *Journal of Food Quality*, 34(1): 1–9.
- MILJKOVIĆ V.M. – NIKOLIĆ G.S. – ZVEZDANOVIĆ J. – MIHAJOV-KRSTEV T. – ARSIĆ B.B. – MILJKOVIĆ M.M. (2018): Phenolic profile, mineral content and antibacterial activity of the methanol extract of *Vaccinium myrtillus* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1): 122–127.
- MILLER K. – FEUCHT W. – SCHMID M. (2019): Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients*, 11(7): 1510.
- MISHRA S. – ARORA S. – SELVAKUMAR R. – SAURABH V. – DHAKANE-LAD J. – KUMAR M. – BARUA S. – KUMAR A. – GAMLATH S. – KUMAR P. (2022): Citrinin mycotoxin contamination in food and feed: Impact on agriculture, human health, and detection and management strategies. *Toxins*, 14(2): 85.
- MOHAMMED H.H. – EBRAHIM M. – YOUSSEF M.I. – SALEEM A.S.Y. – ABDELKHALEK A. (2024): Behavior and management of carp fish: A review. *Open Veterinary Journal*, 14(1): 1.
- MUHAMMAD ABDUL KADAR N.N. – AHMAD F. – TEOH S.L. – YAHAYA M.F. (2021): Caffeic acid on metabolic syndrome: a review. *Molecules*, 26(18): 5490.
- MUKHTAR H. – AHMAD N. (2000): Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6): 1698S–1702S.

- MUNTEANU I.G. – APETREI C. (2021): Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7): 3380.
- MUSSELMAN P.L. – FINK J.L. – NARZINSKI K. – RAMACHANDRAN P.V. – HATHIRAMANI S.S. – CAGAN R.L. – BARANSKI T.J. (2011): A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Disease Models and Mechanisms*, 4(6): 842– 849.
- NABAVI S.F. – KHAN H. – D'ONOFRIO G. – ŠAMEC D. – SHIROOIE S. – DEHPOUR A.R. – ARGÜELLES S. – HABTEMARIAM S. – SOBARZI-SANCHEZ E. (2018): Apigenin as neuroprotective agent: Of mice and men. *Pharmacological Research*, 128: 359–365.
- NAGPAL I. – ABRAHAM S.K. (2017): Protective effects of tea polyphenols and β -carotene against γ -radiation induced mutation and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Genes and Environment*, 39: 1–9.
- NEAMTU A.A. – SZOKE-KOVACS R. – MIHOK E. – GEORGESCU C. – TURCUS V. – OLAH N.K. – FRUM A. – TITA O. – NEAMTU C. – SZOKE-KOVÁCS ZS. CZIAKY Z. – MATHE E. (2020): Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extracts comparative analysis regarding their phytonutrient profiles, antioxidant capacity along with the *in vivo* rescue effects tested on a *Drosophila melanogaster* high-sugar diet model. *Antioxidants*, 9(11): 1067.
- NEAMTU A.A. – MAGHIAR T.A. – ALAYA A. – OLAH N.K. – TURCUS V. – PELEA D. – TOTOLICI B.D. – NEAMTU C. – MAGHIAR A.M. – MATHE E. (2022). A comprehensive view on the quercetin impact on colorectal cancer. *Molecules*, 27(6): 1873.
- NEMETH J. – OESCH G. – KUSTER S.P. (2015): Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(2): 382–395.
- NGOUNGOURE V.L.N. – SCHLUESENER J. – MOUNDIPA P.F. – SCHLUESENER H. (2015): Natural polyphenols binding to amyloid: A broad class of compounds to treat different human amyloid diseases. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(1): 8–20.
- NIELSEN K.F. – MOGENSEN J.M. – JOHANSEN M. – LARSEN T.O. – FRISVAD J.C. (2009): Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 395: 1225–1242.

- ODONKOR S.T. – AMPOFO J.K. (2013): *Escherichia coli* as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research*, 4(1): e2.
- OLIVEIRA I.S. – DA SILVA JUNIOR A.G., –DE ANDRADE C.A.S. – OLIVEIRA M.D.L. (2019): Biosensors for early detection of fungi spoilage and toxigenic and mycotoxins in food. *Current Opinion in Food Science*, 29: 64–79.
- OLIVER J.D. (2010): Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4): 415–425.
- ONG K.W. – HSU A. – TAN B.K.H. (2013): Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical pharmacology*, 85(9): 1341–1351.
- ORŠOLIĆ N. – GAJSKI G. – GARAJ-VRHOVAC V. – ĐIKIĆ D. – PRSKALO Z.Š. – SIROVINA D. (2011): DNA-protective effects of quercetin or naringenin in alloxan-induced diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*, 656(1-3): 110–118.
- OSZMIAŃSKI J. – NOWICKA P. – TELESZKO M. – WOJDYŁO A. – CEBULAK T. – OKLEJEWICZ K. (2015): Analysis of phenolic compounds and antioxidant activity in wild blackberry fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7): 14540–14553.
- ÖZÇELİK B. – LEE J.H. – MIN D.B. (2003): Effects of light, oxygen and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68(2): 487–490.
- PANDA S. – KAR A. (2007): Antidiabetic and antioxidative effects of *Annona squamosa* leaves are possibly mediated through quercetin-3-O-glucoside. *Biofactors*, 31(3-4): 201–210.
- PAPP J. – PORPÚCZY A. (1999): Szeder, ribiszke, köszméte, különleges gyümölcsök. Bogyógyümölcsűek II. *Mezőgazda Kiadó*, 7–12; 50–68.
- PAPP J. (2004): A gyümölcsök termesztése. *Mezőgazda kiadó*, 159–223; 394–470.
- PAUNOVIĆ S.M. – MAŠKOVIĆ P. – MILINKOVIĆ M. (2022): Phytochemical and antimicrobial profile of black currant berries and leaves. *Acta Agriculturae Serbica*, 27(53): 25–29.
- PAVLOVIĆ A.V. – PAPETTI A. – ZAGORAC D.Č.D. – GAŠIĆ U.M. – MIŠIĆ D.M. – TEŠIĆ Ž.L. – NATIĆ, M.M. (2016): Phenolics Composition of Leaf Extracts of Raspberry and Blackberry Cultivars Grown in Serbia. *Industrial Crops and Products Journal*, 87: 304–314.

- PERBELLINI A. – PELLOSO F. – GRIGOLATO S. – ZANCHIN A. – GUERRINI L. (2025): Evaluation of fractions obtained through steam distillation and hydroalcoholic maceration of wood chips from *Pinus mugo* for flavouring Italian spirit grappa. *Beverages*, 11(1): 14.
- PEREZ-JIMENEZ J. – ARRANZ S. – TABERNERO M. – DIAZ-RUBIO M.E. – SERRANO J. – GONI I. – SAURA-CALIXTO F. (2008): Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of. *Food Research International*, 41(3): 274–285.
- PERRONE G. – SUSCA A. – COZZI G. – EHRLICH K. – VARGA J. – FRISVAD J.C. – MEIJER M. – NOONIM P. – MAHAKARNCHANAKUL W. SAMSON R.A. (2007): Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Mycology*, 59(1): 53–66.
- PESTI M. (2001): Általános mikrobiológia, *Dialog Campus Kiadó*, Budapest-Pécs, 26–28.
- PETERSON C.T. – RODIONOV D.A. – OSTERMAN A.L. – PETERSON S.N.B. (2020): Vitamins and their role in immune regulation and cancer. *Nutrients*, 12(11): 3380.
- PFALLER M.A. – SHEEHAN D. – REX J.H. (2004): Determination of fungicidal activities against yeasts and molds: lessons learned from bactericidal testing and the need for standardization. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(2): 268–280.
- PHAN L.T.T. – GROOT R. – KONNERT G.D. – MASAGOUNDER K. – FIGUEIREDO-SILVA A.C. – GLENCROSS B.D. – SCHRAMA J.W. (2019): Differences in energy utilisation efficiencies of digestible macronutrients in common carp (*Cyprinus carpio*) and barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 511: 734238.
- PINTÉR K. (2002): Magyarország halai. *Akadémiai Kiadó*, Budapest, 119–126.
- PIPER M.D. – BLANC E. – LEITÃO-GONÇALVES R. – YANG M. – HE X. – LINFORD N. J. – HODDINOTT M. P. – HOPFEN C. – SOULTOUKIS G. A. – NIEMEYER C. – KERR F. – PLETCHER S. D. – RIBEIRO C. – PARTIDGE L. (2014): A holidic medium for *Drosophila melanogaster*. *Nature Methods*, 11(1): 100–105.
- PIRES T.C. – CALEJA C. – SANTOS-BUELGA C. – BARROS L. – FERREIRA I.C. (2020): *Vaccinium myrtillus* L. fruits as a novel source of phenolic compounds with health benefits and industrial applications-a review. *Current Pharmaceutical Design*, 26(16): 1917–1928.

- PISOSCHI A.M. – POP A. – GEORGESCU C. – TURCUȘ V. – OLAH N.K. – MATHE E. (2018): An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143: 922–935.
- PRINCE P.S.M. – KAMALAKKANNAN N. (2006): Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 20(2): 96–102.
- PRIOR L.R. – WU X. – SCHAICH K. (2005): Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290–4302.
- PRIOR R.L. – CAO G.H. (1999): In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12): 1173–1181.
- PROSHKINA E. – LASHMANOVA E. – DOBROVOLSKAYA E. – ZEMSKAYA N. – KUDRYAVTSEVA A. – SHAPOSHNIKOV M. – MOSKALEV A. (2016): Geroprotective and Radioprotective Activity of Quercetin, (-)-Epicatechin, and Ibuprofen in *Drosophila melanogaster*. *Frontiers in Pharmacology*, 7: 505.
- PULIDO R. – BRAVO L. – SAURA-CALIXTO F. (2000): Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8): 3396–3402.
- QINGGING H. – LINBO Y. – YUNQIAN G. – SHUQIANG L. (2012): Toxic effects of citrinin on the male reproductive system in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(5): 465–469.
- QU D. – HAN J. – REN H. – YANG W. – ZHANG X. – ZHENG Q. – WANG D. (2016): Cardioprotective effects of astragalins against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–10.
- RACHTAN-JANICKA J. – PONDER A. – HALLMANN E. (2021): The effect of organic and conventional cultivations on antioxidants content in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) species. *Applied Sciences*, 11(11): 5113.
- RADOVANOVIĆ B.C. – ANĐELKOVIĆ S.M. – RADOVANOVIĆ A.B. – ANĐELKOVIĆ M.Z. (2013): Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5): 813–819.

- RAICIU A. D. – MIHELE D. E. – IONITA C. – NISTORICA V. – MANEA S. (2010): Antimicrobial activity of *Ribes nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Betula pubescens*, *Salix alba*, *Vaccinium myrtillus* gemoderivatives. *Farmacia*, 58(6): 735–748.
- RANDJELOVIĆ P. – VELJKOVIĆ S. – STOJILJKOVIĆ N. – SOKOLOVIĆ D. – ILIĆ I. – LAKETIĆ D. – RARANDELJOVIĆ N. (2015): The beneficial biological properties of salicylic acid. *Acta Facultatis. Medicare Naissensis*, 32(4): 259–65.
- RAŠIĆ D. – STEFANOVIĆ S. – MILIĆEVIĆ D. – MLADINIĆ M. – ŽELJEŽIĆ D. – PIZENT A. – PAŠKO K. – PERAICA M. (2022): Ochratoxin A potentiates citrinin accumulation in kidney and liver of rats. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 73(1): 43–47.
- RASIGADE J.P. – DUMITRESCU O. – LINA G. (2014): New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(7): 587–588.
- RAWAT S. (2015): Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(4): 47–56.
- RAZZAQ S. (2006): Hemolytic uremic syndrome: an emerging health risk. *American Family Physician*, 74(6): 991–996.
- REACTOME (2025): Reactome Pathway Database. Reactome Consortium.
- REGNER-NELKE L. – NELKE C. – SCHROETER C.B. – DZIEWAS R. – WARNECKE T. – RUCK T. – MEUTH S.G. (2021): Enjoy carefully: the multifaceted role of vitamin E in neuro-nutrition. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18): 10087.
- RESCIGNO T. – TECCE M.F. – CAPASSO A. (2018): Protective and restorative effects of nutrients and phytochemicals. *The Open Biochemistry Journal*, 12: 46–64.
- RIAZ M. – AHMAD M. – RAHMAN N. (2011): Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(24): 5920–5924.
- RM K. (2007): Active bacterial core surveillance (ABCs) MRSA investigators. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *Jama*, 298: 1763–1771.
- ROVENKO B.M. – PERKHULYN N.V. – GOSPODARYOV D.V. – SANZ A. – LUSHCHAK V. – LUSHCHAK V.I. (2015): High consumption of fructose rather than glucose promotes a diet-induced obese phenotype in *Drosophila melanogaster*.

Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 180: 75–85.

- RÓZALSKI A. – SIDORCZYK Z. – KOTELKO K. (1997): Potential virulence factors of *Proteus bacilli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(1): 65–89.
- ROZGONYI F. (2006): Klinikai, járóbeteg-szakorvosi és háziorvosi mikrobiológiai gyorsdiagnosztikai I. kötet: Bakteriális fertőzések diagnosztikája, *Alföldi Nyomda Zrt.*, Debrecen, 120–124.
- SALEEM N. – RYCKAERT F. – SNOW T. A. C. – SATTA G. – SINGER M. – ARULKUMARAN N. (2022): Mortality and clinical cure rates for pneumonia: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis of randomized control trials comparing bactericidal and bacteriostatic antibiotic treatments. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(7): 936–945.
- SALEH I. – GOKTEPE I. (2019): The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin. *Food and Chemical Toxicology*, 129: 301–311.
- SÁNDOR E. – PELES F.Á. (2015): Élelmiszer minőség és biztonság mikrobiológiai vonatkozásai. *Debreceni Egyetem Kiadó*, Debrecen, 94.
- SANJUST E. – MOCCI G. – ZUCCA P. – RESCIGNO A. (2008): Mediterranean shrubs as potential antioxidant sources. *Natural Product Research*, 22(8): 689–708.
- SATOH Y. – ISHIHARA K. (2020): Investigation of the antimicrobial activity of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract against periodontopathic bacteria. *Journal of Oral BioSciences*, 62(2): 169–174.
- SCALZO J. – POLITI A. – PELLEGRINI N. – MEZETTI B. – BATTINO M. (2005): Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21(2): 207–213.
- SCHÖNBORN J.W. – JEHRKE, L. – METTLER-ALTMANN T. – BELLER M. (2019): FlySilico: flux balance modeling of *Drosophila* larval growth and resource allocation. *Scientific Reports*, 9(1): 17156.
- SHAHIDI F. – NACZK M. (2003): Phenolics in Food and nutraceuticals. *CRC press*, 4–7.
- SHAKOOR H. – FEEHAN J. – APOSTOLOPOULOS V. – PLATAT C. – AL DHAHERI A.S. – ALI H.I. – ISMAIL L.C. – BOSEVSKI M. – STOJANOVSKA L. (2021): Immunomodulatory effects of dietary polyphenols. *Nutrients*, 13(3): 728.

- SHARMA J.G. – CHAKRABARTI R. (1999): Larval rearing of common carp *Cyprinus carpio*: A comparison between natural and artificial diets under three stocking densities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(4): 490–495.
- SHI P. – ZHU W. – FU J. – LIANG A. – ZHENG T. – WEN Z. – WU X. – PENG Y. – YUAN S. – WU X. (2023): Avicularin alleviates acute liver failure by regulation of the TLR4/MyD88/NF- κ B and Nrf2/HO-1/GPX4 pathways to reduce inflammation and ferroptosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(21): 3326–3338.
- SINGH K.V. – NALLAPAREDDY S.R. – SILLANPÄÄ J. – MURRAY B.E. (2010): Importance of the collagen adhesin ace in pathogenesis and protection against *Enterococcus faecalis* experimental endocarditis. *PLoS Pathogens*, 6(1): e1000716.
- SINGLETON V.L. – ROSSI J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144–158.
- SKROVANKOVA S. – SUMCZYNSKI D. – MLCEK J. – JURIKOVA T. – SOCHOR J. (2015): Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10): 24673–24706.
- SMITH J.J. – THOMAS C. – MARTIN L. – CLARKE D.J. (2012): Rapid assessment of microbial contamination using ATP bioluminescence: comparison of methods and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 113: 146–154.
- SOJKA M. – GUYOT S. – KOŁODZIEJCZYK K. – KRÓL B. – BARON A. (2009): Composition and properties of purified phenolics preparations obtained from an extract of industrial blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) pomace. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6): 100–106.
- SOUTHGATE P. – KOLKOVSKI S. (2000): Development of artificial diets for fish larvae. Hatchery Feeds Research and Development Plan. *Fisheries Research and Development Corporation*, 63–75.
- STAJČIĆ S.M. – TEPIĆ A.N. – ĐILAS S.M. – ŠUMIĆ Z.M. – ČANADANOVIĆ-BRUNET J.M. – ČETKOVIĆ G.S. – VULIĆ J.J. – TUMBAS V.T. (2012): Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. *Acta Periodica Technologica*, (43): 93–105.
- STRATHEARN K.E. – YOUSELF G.G. – GRACE M.H. – ROY S. L. – TAMBE M.A. – FERRUZZI M.G. – WU Q.L. – SIMON J.E. – LILA M.A. – ROCHET J.C. (2014): Neuroprotective effects of anthocyanin- and proanthocyanidin-rich extracts in cellular models of Parkinson's disease. *Brain Research*, 1555: 60–77.

- SU K.Y. – YU C.Y. – CHEN Y.P. – HUA K.F. – CHEN Y.L. (2014): 3,4-Dihydroxytoluene, a metabolite of rutin, inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-activated macrophages by reducing the activation of NF- κ B signaling. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14: 1–9.
- SUN L. – SUN Y. – JIANG M. – LUO L. – YU X. – YAO W. – WU Z. (2020): Isolation, identification and pathogenicity of *Proteus vulgaris* from moribund common carp (*Cyprinus carpio*) farmed in China. *Aquaculture*, 525: 735294.
- SYMES A. – SHAVANDI A. – ZHANG H. – MOHAMED AHMED I. A. – AL-JUHAIMI F. Y. – BEKHIT A. E. D. A. (2018): Antioxidant activities and caffeic acid content in New Zealand Asparagus (*Asparagus officinalis*) roots extracts. *Antioxidants*, 7(4): 52.
- SZABAD J. (2016): Gének és az egyedfejlődés elkezdődése. *Semmelweis Kiadó*, Budapest.
- SZŐKE É. – BLÁZOVICS A. – BALÁZS A. – KÉRY Á. – KURSINSZKI L. – LEMBERKOVICS É. – THEN M. – ALBERT-DÉR Á. – BALOGH GY. – BÁNYI P. – BLAZICS B. – BÖSZÖRMÉNYI A. – KALÁSZ H. – KÖNCZÖL Á. – LUGASI A. – SZARKA SZ. – SZENTMIHÁLYI K. – VASAS G. (2012): Gyógynövény és Drogismeret Farmakognózia-Fitokémia, gyógynövények alkalmazása. *Semmelweis Kiadó*, Budapest, 105–185.
- TABART J. – FRANCK T. – KEVERS C. – PINCEMAIL J. – SERTEYN D. – DEFRAIGNE J.O. – DOMMES J. (2012): Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ribes nigrum* extracts. *Food Chemistry*, 131(4): 1116–1122.
- TABART J. – KEVERS C. – EVERS D. – DOMMES J. (2011): Ascorbic Acid, Phenolic Acid, Flavonoid, and Carotenoid Profiles of Selected Extracts from *Ribes nigrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 4763–4770.
- TABART J. – KEVERS C. – PINCEMAIL J. – DEFRAIGNE J.O. – DOMMES J. (2006): Antioxidant Capacity of Black Currant Varies with Organ, Season, and Cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 6271–6276.
- TAGHIZADIEH M. – MODIRI N. – SALMANINEJAD A. – KHAYAMI R. – TAHERI F. – MOGHOOFEI M. – KHATAMI A. – AZHDARI S. – BAYAT M. – SAMADI-KHOUZANI A. – NAHAND J.S. (2023): Chapter 6 - Neuroprotective effects of flavonoids, In *Phytonutrients and Neurological Disorders*, Academic Press, 133–200.
- TAKEUCHI T. – SATOH S. – KIRON V. (2002): Common carp, *Cyprinus carpio*. *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*, 245–261.

- TAMARAPU S. – MCKILLIP J.L. – DRAKE M. (2001): Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *Journal of Food Protection*, 64(5): 664–668.
- TANNOUS J. – KELLER N.P. – ATOUI A. – EL KHOURY A. – LTEIF R. – OSWALD I.P. – PUEL O. (2018): Secondary metabolism in *Penicillium expansum*: Emphasis on recent advances in patulin research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(12): 2082–2098.
- TÉGLÁS T. – MIHOK E. – CZIÁKY Z. – OLÁH N.K. – NYAKAS C. – MÁTHÉ E. (2023): The flavonoid-rich black currant (*Ribes nigrum*) ethanolic gemmotherapy extract elicits neuroprotective effect by preventing microglial body swelling in hippocampus and reduces serum TNF- α level: pilot study. *Molecules*, 28: 3571.
- TERECH-MAJEWSKA E. – PAJDAK J. – SIWICKI A.K. (2016): Water as a source of macronutrients and micronutrients for fish with special emphasis on the nutritional requirements of two fish species: the common carp (*Cyprinus carpio*) and the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Elementology*, 21(3).
- THACKER H.L. – CARLTON W.W. – SANSING G.A. (1977): Citrinin mycotoxicosis in the guinea-pig. *Food and Cosmetics Toxicology*, 15(6): 553–561.
- THWAITES M. – HALL D. – SHINABARGER D. – SERIO A.W. – KRAUSE K.M. – MARRA A. – PILLAR C. (2018): Evaluation of the bactericidal activity of plazomicin and comparators against multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(8): e010–1128.
- TOFIGHI Z. – ALIPOUR F. – HADAVINIA H. – ABDOLLAHI M. – HADJIAKHOONDI A. – YASSA N. (2014): Effective antidiabetic and antioxidant fractions of *Otostegia persica* extract and their constituents. *Pharmaceutical Biology*, 52(8): 961–966.
- TÖLGY I. – TASNÁDI R. (1996): Halgazdálkodás I-II. *Mohosz*, Budapest, 9–34; 42–66.
- TRAJKOVIĆ M. – KITIĆ D. – MIHAJLOV K. T. – ŠAVIKIN K. – RANĐELOVIĆ M. – MILUTINOVIĆ M. – BRANKOVIĆ S. – KITIĆ N. – MILADENOVIĆ B. (2023): Antimicrobial activity evaluation of black currant (*Ribes nigrum* L.) variety Čačanska crna juice and extract. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 40(2): 208–216.
- TSAO R. (2010): Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12): 1231–1246.
- TULI H.S. – SAK K. – GARG V.K. – KUMAR A. – ADHIKARY S. – KAUR G. – PARASHAR N.C. – PARASHAR G. – MUKHERJEE T.K. – SHARMA U. – JAIN

- A. – MOHAPATRA R.K. – DHAMA K. – KUMAR M. – SINGH T. (2022): Ampelopsin targets in cellular processes of cancer: Recent trends and advances. *Toxicology Reports*, 9: 1614–1623.
- TUORKEY M.J. (2016): Molecular targets of luteolin in cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 25(1): 65–76.
- ULLAH R. – KHAN M. – SHAH S.A. – SAEED K. – KIM M.O. (2019): Natural antioxidant anthocyanins-A hidden therapeutic candidate in metabolic disorders with major focus in neurodegeneration. *Nutrients*, 11(6): 1195.
- UNIPROT (2025): UniProt protein knowledgebase. The UniProt Consortium.
- VALGAS C. – SOUZA S.M.D. – SMÂNIA E.F. – SMÂNIA JR, A. (2007): Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of microbiology*, 38: 369–380.
- VAN DIJK A.E. – OLTHOF M.R. – MEEUSE J.C. – SEEBUS E. – HEINE R.J. – VAN DAM R.M. (2009): Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care*, 32(6): 1023–1025.
- VAN TYNE D. – GILMORE M.S. (2014): Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. *Annual Review of Microbiology*, 68: 337–356.
- VANDERWAEREN L. – DOK R. – VOORDECKERS K. – NUYTS S. – VERSTREPEN K.J. (2022): *Saccharomyces cerevisiae* as a model system for eukaryotic cell biology, from cell cycle control to DNA damage response. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19): 11665.
- VATASHCHUK M.V. – BAYLIAK M.M. – HURZA V.V. – STOREY K.B. – LUSHCHAK V.I. (2022): Metabolic synarome: lessons from rodent and *drosophila* models. *BioMed Research International*, 5850507.
- VERMA N. – AMRESH G. – SAHU P.K. – MISHRA N. – RAO C.V. – SINGH A.P. (2013): Pharmacological evaluation of hyperin for antihyperglycemic activity and effect on lipid profile in diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 51: 65–72.
- VERMA R. – GANGRADE T. – PUNISIYA R. – GHULAXE C. (2014): *Rubus fruticosus* (blackberry) use as an herbal medicine. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16): 101–106.
- VÍGH S.^a – CZIÁKY Z. – SINKA L.T. – PRIBAC C. – MOŞ L. – TURCUŞ V. – GÁLNE REMENYIK J. – MÁTHÉ E. (2017): Comparative chemomapping of

- phytoconstituents from different extracts of globe artichoke - *Cynara scolymus* L. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Chemia*, 62: 125–143.
- VÍGH S.^a – ZSVÉR-VADAS ZS. – PRIBAC C. – MOŞ L. – CZIÁKY Z. – CZAPÁR M. – MIHALI C. V. – TURCUŞ V. – REMENYIK J. – MÁTHÉ E. (2016): Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) extracts are inducing dose-dependent hormetic response and cytotoxic effects in case of human breast cancer cell lines. *Studia Universitatis „Vasile Goldiş” Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Science Series)*: 26(4): 435–448.
- VÍGH S.^b – CZIÁKY Z. – SINKA L. T. – PRIBAC C., MOŞ, L. – TURCUŞ V. – GÁLNÉ REMENYIK J. – MÁTHÉ E. (2017): Analysis of phytoconstituent profile of fenugreek - *Trigonella foenum-graecum* L. - seed extracts. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Chemia*, 62: 145–166.
- VÍGH S.^b – ZSVÉR-VADAS ZS. – PRIBAC C. – MOŞ L. – CZIÁKY Z. – CZAPÁR M. – MIHALI C. V. – TURCUŞ V. – MÁTHÉ E. (2016): Artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts are showing concentration-dependent hormetic and cytotoxic effects on breast cancer cell lines. *Studia Universitatis „Vasile Goldiş” Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Science Series)*: 26(4): 423–433.
- VITA J.A. (2005): Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 292S–297S.
- VU J. – CARVALHO J. (2011): Enterococcus: review of its physiology, pathogenesis, diseases and the challenges it poses for clinical microbiology. *Frontiers in Biology*, 6: 357–366.
- VUČIĆ D.M. – PETKOVIĆ M.R. – RODIĆ-GRABOVAC B.B. – STEFANOVIĆ O.D. – VASIĆ S.M. – ČOMIĆ L.R. (2013): Antibacterial and antioxidant activities of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in vitro. *African Journal of Microbiology Research*, 7(45): 5130–5136.
- WANG S. – TIAN J. – JIANG X. – LI C. – GE Y. – HU X. – CHENG L. – SHI X. – SHI L. – JIA Z. (2023): Effects of different dietary levels on the growth performance, physicochemical indexes, quality, and molecular expression of Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*). *Animals*, 13(7): 1237.
- WELI A.M. – AL-SAADY H.S. – AL-FUDHAILI R.S. – HOSSAIN A. – PUTIT Z.B. – JASMIN M.K. (2020): Cytotoxic and antimicrobial potential of different leaves extracts of *R. fruticosus* used traditionally to treat diabetes. *Toxicology Reports*, 7: 183–187.

- WIENHAUSEN G. – BRUNS S. – SULTANA S. – DLUGOSCH L. – GROON L.A. – WILKES H. – SIMON M. (2022): The overlooked role of a biotin precursor for marine bacteria - desthiobiotin as an escape route for biotin auxotrophy. *The ISME Journal*, 16(11): 2599–2609.
- WU J.W. – HSIEH C.L. – WANG H.Y. – CHEN H.Y. (2009): Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein. *Food Chemistry*, 113(1): 78–84.
- XING H.Y. – LIU Y. – CHEN J.H. – SUN F.J. – SHI H.Q. – XIA P.Y. (2011): Hyperoside attenuates hydrogen peroxide-induced L02 cell damage via MAPK-dependent Keap1–Nrf2–ARE signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 410(4): 759–765.
- XU D. – HU M.J. – WANG Y.Q. – CUI Y.L. (2019): Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6): 1123.
- XUE L. – LUO X. – XING J.H. – WANG D. – ZHANG D.X. (2023): Isolation and pathogenicity evaluation of *Escherichia coli* O157:H7 from common carp, *Cyprinus carpio*. *Microbial Pathogenesis*, 182: 106250.
- YAGIHASHI S. (2023): Contribution of animal models to diabetes research: Its history, significance, and translation to humans. *Journal of Diabetes Investigation*, 14(9): 1015–1037.
- YAN J. – KOTHUR K. – MOHAMMAD S. – CHUNG J. – PATEL S. – JONES H.F. – KEATING B.A. – HAN V.X. – WEBSTER R. – ARDERN-HOLMES S. – ANTONY J. – MENEZES M.P. – TANTSIS E. – GILL D. – GUPTA S. – KANDULA T. – SAMPAIO H. – FARRAR M.A. – TROEDSON C. – ANDREWS P.I. – PILLAI S.C. – HENG B. – GUILLEMIN G.J. – GULLER A. – BANDODKAR S. – DALE R.C. (2023): CSF neopterin, quinolinic acid and kynurenine/tryptophan ratio are biomarkers of active neuroinflammation. *EBioMedicine*, 91: 104589.
- YAN X. – QI M. – LI P. – ZHAN Y. – SHAO H. (2017): Apigenin in cancer therapy: anti-cancer effects and mechanisms of action. *Cell & Bioscience*, 7: 1–16.
- YANG H. – HEWES D. – SALAHEEN S. – FEDERMAN C. – BISWAS D. (2014): Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth promotion of *Lactobacillus*. *Food Control*, 37: 15–20.
- YANG J. – RAN Y. – YANG Y. – SONG S. – WU Y. – QI Y. – GAO Y. – LI G. (2021): 4-Hydroxyisoleucine alleviates macrophage-related chronic inflammation and

- metabolic syndrome in mice fed a high-fat diet. *Frontiers in Pharmacology*, 11: 606514.
- YANG W.S. – JEONG D. – YI Y.S. – PARK J.G. – SEO H. – MOH S.H. – HONG S. – CHO J.Y. (2013): IRAK1/4-targeted anti-inflammatory action of caffeic acid. *Mediators of Inflammation*, 2013: 51883.
- YATOO M. – GOPALAKRISHNAN A. – SAXENA A. – PARRAY O.R. – TUFANI N.A. – CHAKRABORTY S. – TIWARI R. – DHAMA K. – IQBAL H.M.N. (2018): Anti-inflammatory drugs and herbs with special emphasis on herbal medicines for countering inflammatory diseases and disorders-a review. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 12(1): 39–58.
- YONEKURA-SAKAKIBARA K. – SAITO K. (2009): Functional genomics for plant natural product biosynthesis. *Natural Product Reports*. 26(11): 1466–1487.
- ZEITLER M.H. – KIRCHGESSNER M. – SCHWARZ F.J. (1984): Effects of different protein and energy supplies on carcass composition of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 36(1-2): 37–48.
- ZHANG F. – CHENG W. (2022): The mechanism of bacterial resistance and potential bacteriostatic strategies. *Antibiotics*, 11(9): 1215.
- ZHANG L. – CHENG X.R. – JUAN-HUAN H.U. – LAN S.U.N. – GUAN-HUA D.U. (2011): Neuroprotective effects of hyperoside on sodium azide- induced apoptosis in pc12 cells. *Chinese Journal of Natural Medicine*, 9(4): 450–455.
- ZHANG S. – MILLER D.D. – LI W. (2021): Non-musculoskeletal benefits of vitamin D beyond the musculoskeletal system. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4): 2128.
- ZHANG S. – XU D. – KONG J. – YE C. – LIN J. (2013): Proteomic analysis of larval hemolymph in *Drosophila melanogaster* under high sugar diet. *PLoS ONE*, 8(11): e79785.
- ZHANG X. – LERMAN LO. (2016): Investigating the metabolic syndrome: contributions of swine models. *Toxicologic Pathology*, 44(3): 358–366.
- ZHANG Z. – LV G. – DU L. (2020): Avicularin reduces the expression of mediators of inflammation and oxidative stress in bradykinin-treated MG-63 human osteoblastic osteosarcoma cells. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical*, 26, e921957–1.
- ZHAO M. – BAI J. – BU X. – TANG Y. – HAN W. – LI D. – WANG L. – YANG Y. – XU Y. (2021): Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of phenolic

compounds from *Ribes nigrum* L. and its antibacterial effect on foodborne pathogens. *Food Control*, 119: 107449.

ZHENG M. – LIU C. – PAN F. – SHI D. –ZHANG Y. (2012): Antidepressant-like effect of hyperoside isolated from Apocynum venetum leaves: possible cellular mechanisms. *Phytomedicine*, 19(2): 145–149.

ZHOU Y. – WU Y. – QIN Y. – LIU L. WAN J. – ZOU L. – ZHANG Q. – ZHU J. – MI M. (2016): Ampelopsin Improves Insulin Resistance by Activating PPAR γ and Subsequently Up-Regulating FGF21-AMPK Signaling Pathway. *PLoS One*, 11(7): e0159191.

ZIA-UL-HAQ M. – RIAZ M. – DE FEO V. – JAAFAR H.Z. – MOGA M. (2014): *Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health-related uses. *Molecules*, 19(8): 10998–11029.

ZORATTI L. – KLEMETILÄ H. – JAAKOLA L. (2016): Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) ecotypes. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, Academic Press, 83–99.

Internetes hivatkozások:

1. Internet forrás: ***Drosophila melanogaster* kifejlett nőtény és hím egyedek.**

https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Biological_Illustration_Animals_Insects_Drosophila_melanogaster.svg Megtekintve: 2024.04.19.

2. Internet forrás: **Az ecetmuslica életciklusa és fejlődési stádiumai.**

<https://drosi.wordpress.com/drosophila-melanogaster/> Megtekintve: 2024.04.19.

3. Internet forrás: ***Cyprinus carpio*.** https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species/cyprinus-carpio_hu Megtekintve: 2024.04.19.

4. Internet forrás: **A ponty hal életciklusa és fejlődési szakaszai.**

<https://www.istockphoto.com/ro/vector/ciclul-de-via%C8%9B%C4%83-al-pe%C8%99tilor-sucesiunea-etapelor-de-dezvoltare-a-pe%C8%99tilor-de-la-ou-gm1130099678-298778914> Megtekintve: 2024.04.19.

11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/389/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Mihok Emőke
Doktori Iskola: Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10060909

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

1. **Mihok, E.**, György, É., Máthé, E.: The Carpathian lingonberry, raspberry and blackberry fruit extracts feature variable antimicrobial efficiency.
Agrártud. közl. 1, 27-32, 2019. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/2365>

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (4)

2. Héjja, M., **Mihok, E.**, Alaya, A., Jolji, M., György, É., Mészáros, N., Turcuş, V., Oláh, N. K., Máthé, E.: Specific Antimicrobial Activities Revealed by Comparative Evaluation of Selected Gemmotherapy Extracts.
Antibiotics-Basel. 13 (2), 1-31, 2024. EISSN: 2079-6382.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics13020181>
IF: 4.3 (2023)
3. Alaya, A., **Mihok, E.**, Pecsénye, B., Jolji, M., Kertész, A., Bársony, P., Vigh, S., Cziáky, Z., Máthé, A. B., Burtescu, R. F., Oláh, N. K., Neamtu, A. A., Turcuş, V., Máthé, E.: Phytoconstituent Profiles Associated with Relevant Antioxidant Potential and Variable Nutritive Effects of the Olive, Sweet Almond, and Black Mulberry Gemmotherapy Extracts.
Antioxidants. 12 (9), 1-36, 2023. EISSN: 2076-3921.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12091717>
IF: 6
4. Téglás Tímea, **Mihok, E.**, Cziáky, Z., Oláh, N. K., Nyakas, C., Máthé, E.: The Flavonoid Rich Black Currant (*Ribes nigrum*) Ethanolic Gemmotherapy Extract Elicits Neuroprotective Effect by Preventing Microglial Body Swelling in Hippocampus and Reduces Serum TNF-alfa Level: Pilot Study.
Molecules. 28 (8), 1-17, 2023. ISSN: 1420-3049.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28083571>
IF: 4.2





5. Neamtu, A. A., Szőke-Kovács, R., **Mihok, E.**, Georgescu, C., Turcuş, V., Oláh, N. K., Frum, A., Tita, O., Neamtu, C., Szőke-Kovács, Z., Cziáky, Z., Máthé, E.: Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Extracts Comparative Analysis Regarding Their Phytonutrient Profiles, Antioxidant Capacity along with the In Vivo Rescue Effects Tested on a *Drosophila melanogaster* High-Sugar Diet Model.
Antioxidants. 9, 1-33, 2020. EISSN: 2076-3921.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9111067>
IF: 6.312

Magyar nyelvű konferencia közlemények (1)

6. **Mihok, E.**, Máthé, E., Molnos, É., György, É.: Székelyföldön termő erdei bogyós gyümölcsök antimikrobiális hatásának vizsgálata.
In: Őshonos- és Tájfajták - Ökotermékek : Egészséges táplálkozás : Vidékfejlesztés Minőségi élelmiszerek : Egészséges környezet: Az agrártudományok és a vidékfejlesztés kihívásai a XXI. században. Szerk.: Tóth Csilla, Nyíregyházi Egyetem Műszaki és Agrártudományi Intézet, Nyíregyháza, 379-386, 2018. ISBN: 9786155545900

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (3)

7. Téglás Tímea, Cziáky, Z., **Mihok, E.**, Oláh, N. K., Máthé, E., Nyakas, C.: A funkcionális táplálkozás nyomában: a fekete ribizli (*Ribes nigrum*) kivonat analitikai elemzése és hatása az LPS indukálta gyulladási folyamatokra felnőtt patkányokban.
In: IV. Sporttudományi Phd Szimpózium Program és absztraktfüzet, Testnevelési Egyetem, Budapest, 15-16, 2019.
8. **Mihok, E.**, Albert, C., György, É., Máthé, E.: Bogyóstermékek és rügykivonatok antioxidáns tartalmának vizsgálata = Studies of antioxidant contents of berries and plant buds extracts.
In: XXV. Nemzetközi Vegyészkonferencia = 25th International Conference on Chemistry.
Szerk.: Majdik Kornélia, Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság, Kolozsvár, 44, 2019, (ISSN 1843-6293)
9. **Mihok, E.**, Máthé, E., Molnos, É., György, É.: Székelyföldön termő erdei bogyós gyümölcsök antimikrobiális hatásának vizsgálata.
In: Őshonos- és Tájfajták - Ökotermékek : Egészséges táplálkozás : Vidékfejlesztés Minőségi élelmiszerek : Egészséges környezet: Az agrártudományok és a vidékfejlesztés kihívásai a XXI. században. Szerk.: Irinyiné Oláh Katalin, Tóth Csilla, Nyíregyházi Egyetem Műszaki és Agrártudományi Intézet, Nyíregyháza, 108, 2018. ISBN: 9786155545818





Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

10. Héjja, M., **Mihok, E.**, Alaya, A., Oláh, N. K., György, É., Máthé, E.: Analytical and microbiological examination of gemmotherapy extracts = Gemmotherápiás extraktumok analitikai és mikrobiológiai vizsgálata.
In: XXIX. Nemzetközi Vegyészkonferencia = 29th International Conference on Chemistry.
Ed.: Majdik Kornélia, Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság, Kolozsvár, 1, 2023, (ISSN 2734-7109)

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

11. András, C. D., Salamon, B., György, É., **Mihok, E.**, Szép, A.: Essential oil extraction from herbs and their use in the food industry.
Agrártud. közl. Kisz., 59-74, 2018. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/150/1702>

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

12. Laslo, É., György, É., **Mihok, E.**, Antal, M.: Evaluation of the microbiological quality of some fresh dairy products with Soleris® Automated System.
Acta Univ. Sapientiae, Alim. 12 (1), 80-93, 2019. ISSN: 1844-7449.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2478/ausal-2019-0006>
13. Laslo, É., Mara, G., Funkenhauzer, B., **Mihok, E.**, Salamon, R. V., Lányi, S., Ábrahám, B.: Isolation and screening of lactic acid bacteria from naturally fermented sources with high biotechnological potential.
Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem. 60 (4), 95-106, 2015. ISSN: 1224-7154.
DOI: <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.22125.46563>
IF: 0.148

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (3)

14. **Mihok, E.**: Magas antioxidáns tartalmú joghurtok.
In: Kutassunk együtt! Szerk.: Kósa István, Tódor Imre, Presa Universitara Clujeana, Kolozsvár, 17, 2019.
15. **Mihok, E.**, Albert, C., Molnos, É., Gyenge, S., András, C. D.: A fekete ribiszkében (*Ribes nigrum* L.) található antociánok Soxhlet-extraktációs kinetikájának vizsgálata = Kinetic Study of Soxhlet Extraction of Anthocyanins from Blackcurrant (*Ribes nigrum* L.).
In: 24th International Conference on Chemistry = XXIV. Nemzetközi Vegyészkonferencia.
Szerk.: Majdik Kornélia, Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság (EMT), Kolozsvár, 107, 2018, (ISSN 1843-6293)





16. András, C. D., Salamon, B., György, É., **Mihok, E.**, Szép, A.: Fűszernövények illóolaj-kinyerése és élelmiszeripari alkalmazása.

In: Tiszántúli Agrártudományi Napok a debreceni agrár-felsőoktatás 150. évfordulójára, Debreceni Egyetem mezőgazdaság, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Debrecen, 1, 2018.

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

17. András, C. D., Molnos, É., **Mihok, E.**, Albert, C., Héjja, M., Mátyás, L.: Effects of solvent and pretreatment on the extraction kinetics of anthocyanins from blackcurrant peel residue.

In: Abstract Book Foodconf Science, Technology and Innovation. Szerk.: István Dalmadi, László Baranyai, Quang D. Nguyen, Faculty of Food Science, Szent István University, Budapest, 40-41, 2018. ISBN: 9789632697949

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 20,96

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
20,812**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.06.28.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, **Prof. Dr. Gyögy Évának** és **Dr. Máthé Endrének**, hogy mindvégig hittek bennem, ugyanakkor köszönöm a doktori tanulmányaimban és a dolgozat elkészítése során nyújtott mérhetetlen támogatásokat. Hálás vagyok a számtalan konzultációért, a doktori témával való kapcsolódó tanulmányok kéziratának véleményezéséért, szerkesztő javaslatokért és a szakmai támogatásért.

Köszönetemet szeretném kifejezni a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskolának, vezetőjének, **Prof. Dr. Komlói Istvánnak**, aki támogatta kutatási témámat.

Köszönettel tartozom a Plant Extrakt cég által biztosított mintákért, valamint Dr. Oláh Nelli-Kingának a kivonatokban nyújtott segítségével.

Köszönöm a Nyíregyházi Egyetem, Agrár és Molekuláris Kutató Intézetének, hogy biztosította a műszeres mérések helyszínéül szolgáló laboratóriumot és munkatársának Dr. Cziáky Zoltánnak a szakmai segítségnyújtást a mérésekben.

Köszönöm a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Kar, Élelmiszertudományi Tanszék munkatársainak a segítséget, valamint a mikrobiológiai vizsgálatok elvégéséhez szükséges laboratóriumot és hálával tartozom Héjja Melinda kolleganőmnek, kitartó és önzetlen segítségével.

Köszönöm a Dr. Bársony Péternek és a DE MÉK Halbiológiai Laboratórium munkatársainak a halas kísérletekben nyújtott segítségével. Hálámat és köszönetemet szeretném kifejezni a DE-MÉK Táplálkozástudományi Intézetének munkatársai Pecsénye Bence és Szepesi Judit iránt, akik támogattak céljaim elérésében.

Külön szeretném megköszönni a doktori dolgozat két opponensének, Dr. Czeglédi Leventének és Dr. Bodor Zsoltnak, amiért elvállalták dolgozatom áttekintését. Bírálatak, szakmai ajánlásainak, észrevételeik nagyban hozzájárultak ahhoz, hogy az értekezésem még magasabb színvonalú legyen.

Végül, hálával és köszönettel tartozom Családomnak: szüleimnek és testvéreimnek a támogatást, megértésüket, amit az évek során nyújtottak, és mert végig bíztak bennem. Ugyanakkor, szeretném megköszönni azt a magától értetődő, állandó támogatást Férjemnek, Szilárdnak, gyerekeimnek Aliznak, Dánielnek és Eszter nagymamának a türelmüket és támogatásukat, hogy munkám előrehaladását biztosították.

12. NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a *Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola* keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2025.....

.....

a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy *Mihok Emőke* doktorjelölt 2025-ben a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2025.....

.....

a témavezető aláírása

.....

a témavezető aláírása