

Doktori (PhD) értekezés tézisei

NÖVÉNYI EXTRAKTUMOK BIOAKTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA TRANSZLÁCIÓS MODELLBEN ÉS HALIVADÉK- TAKARMÁNYOZÁSBAN

Mihok Emőke
doktorjelölt

Témavezetők:
Dr. Máthé Endre Ph.D.
egyetemi docens

Dr. György Éva Ph.D.
egyetemi tanár



DEBRECENI EGYETEM
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

DEBRECEN

2025.

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A rügykészítmények hatóanyagai terápiás potenciállal rendelkezhetnek, hozzájárulva egyes betegségek megelőzéséhez és kezeléséhez. Érdeemes vizsgálni ezeket a készítményeket, mivel a hatásmechanizmusuk megismerése közelebb vihet bizonyos kóros állapotok megelőzéséhez és terápiás befolyásolásához. A rügykészítményekben található makro- és mikrotápanyagok befolyásolják a sejtes anyagcserét és a stresszválaszokat. Alacsony kalória- és zsírtartalmuk miatt emberi és állati felhasználásra egyaránt alkalmasak, valamint gazdagok fitonutriensekben, amelyek fokozhatják a celluláris folyamatok hatékonyságát. Tekintettel a növényi eredetű bioaktív hatóanyagok (NEBH) előfordulási jellemzőire, ezeket gyakran a mikronutriens kategóriába sorolják (CICERO és COLLETTI, 2016). Egyre több kísérletes bizonyíték utal a NEBH-k kedvező élettani hatásaira, ugyanakkor a sejtszintű (GULDIKEN és mtsai., 2018; RESCIGNO és mtsai., 2018) és antimikrobiális (BANDERIA és mtsai., 2018; JODAA HOLM és mtsai., 2016) hatásmechanizmusok kevésbé ismertek. Mindez indokolja a kutatás szükségességét, hiszen a NEBH-ok vizsgálata előfeltételét jelenti az egészségorientált táplálkozásnak és a minőségi állati takarmányozásnak.

A NEBH-kat lehetőség van egyenként, koncentrációfüggően vizsgálni, illetve komplex extraktumok formájában is, ahol kiegészítő élettani hatások és szinergiák várhatók, melyek gyakran inkább sztochasztikus, mint determinisztikus jellegűek. A NEBH-ok fogyasztókra gyakorolt hatásaihoz gyakran társul dóziszfüggő hormézis jelenség is (CALABRESE és mtsai., 2012). Másfelől, az antimikrobiális hatásokkal ellentétben, viszonylag kevés információ áll rendelkezésre a vizsgált növényfajokban jelenlévő bioaktív anyagokról és ezek *Drosophila melanogaster* w^{m4h} modellben megfigyelhető élettani hatásairól. Annak érdekében, hogy mélyebb ismereteket szerezzek a vizsgált növények hatóanyagainak élettani sajátosságairól és hatásmechanizmusairól, az ecetmuslica és a ponty modellfajokat kapcsoltam össze. A *Drosophila melanogaster* w^{m4h} életszakaszaira jellemző táplálkozási feltételek jól ismertek (PIPER és mtsai., 2014; BASS és mtsai., 2007), hasonlóan a *Cyprinus carpio* esetében is (TAKEUCHI és mtsai., 2002). Kutatásomhoz e két modellt választottam, mivel a kapcsolt rendszer biztosítja a táplálkozás, génexpresszió-szabályozás és fejlődés közötti oksági összefüggések inter- és multidiszciplináris értelmezését. Ez egy újfajta transzlációs megközelítés, amelynek alapját a celluláris mechanizmusok evolúciós konzerváltsága biztosítja.

CÉLKITŰZÉSEK

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 szénhidráttartalmú táptalajon tenyésztett muslica-populációk teljes transzkriptomjának elemzése, különös tekintettel a hemolimfa/hormonok és a citoskeletonális gének expressziójára.
- A GTE-k táplálkozástani hatásainak vizsgálata *Drosophila melanogaster* alapú nutrióos modellben, 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. ANYAG ÉS MÓDSZEREK

2.1. Vizsgált növényi kivonatok előkészítése és extrakciója

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 kivonatok a frissen betakarított növényi rügymintákból készültek el, amelyeket 96%-os (v/v) etanol és glicerin 1:1 arányú keverékben, és 1:2 növény-oldószer arány mellett tartósítottam (EDQM, 2023).

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

A kivonatok azonosítására ultranagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (UHPLC) Dionex Ultimate 3000RS készüléket használtam. A kiválasztott polifenolok kvantitatív elemzését egy csúcskategóriás Shimadzu Nexera I LC/MS-8045 UHPLC rendszerrel azonosítottam be.

2.3. A rügykivonatok várható élettani hatásainak előjelzése

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.

2.4. A rügykivonatok *in vitro* antioxidáns sajátosságainak vizsgálata

A GTE-k teljes polifenol-tartalmát és a teljes antioxidáns kapacitást (FRAP), valamint a DPPH gyök megkötésére épülő antioxidáns képességét megvizsgáltam a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem Csíkszeredai Élelmiszertudományi Tanszék laboratóriumában.

2.5. A GTE-k antimikrobiális hatásának vizsgálata

A vizsgálatban használt különböző referencia baktérium- és mikroszkopikus gombatörzsek a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM) származnak. A GTE-k antimikrobiális aktivitásának meghatározására nyolc baktériumtörzset és hat mikroszkopikus gombák vizsgáltam meg.

A vizsgált baktériumtörzseket Nutrient tápagon tenyésztettem, az inkulálás 37 °C-on 24 óráig történt, a penészgombákat és az élesztőgombát pedig, komplex táptalajon, az inkulálás 28 °C-on 72 óráig történt.

A növényi GTE antimikrobiális hatásának kimutatása agardiffúziós módszerrel történt. A gátlási zónák átmérőjét (a lyukkal együtt, milliméterben kifejezve) digitális tolómérővel mértem (BAUER és mtsai, 1996).

A mikrohígítási módszer folyékony tápközegben valósult meg. 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.

Az antimikrobiális szerek rezisztenciáját és bakteriosztatikus hatékonyságának kimutatására minimális gátló koncentráció (MIC) vizsgálattal történt, míg az antimikrobiális szer közvetlen halálos hatása kimutatás a minimális baktericid koncentráció (MBC) vizsgálattal valósult meg.

2.6. Transzlációs modellrendszer vizsgálata

2.6.1. *Drosophila melanogaster*: tenyésztése, életképessége és transzkriptomikai vizsgálata

A GTE hatástani vizsgálataiban során a *Drosophila melanogaster* modell rendszert alkalmaztam, amelyet a Bloomington Stock Centertől származott. A *Drosophila melanogaster* életképességi vizsgálatában megtermékenyített petéket gyűjtöttem hím és nőstény egyedek keresztezéséből. A peték többségében 0-2 órás embrióknak feleltek meg, majd ezt követően az embriókat a megfelelő NM és HS tartalmú táptalajt tartalmazó fiolákba helyeztem, amelyek előzőleg kiegészítettem különböző koncentrációjú GTE-al. 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.

Az *ecetmuslica* teljes genomjára vonatkozó génexpressziós vizsgálat során, a 120 órás 3-ik stádiumos lárvális egyedeket összegyűjtöttem. Az *ecetmuslica* lárvák teljes transzkriptomi vizsgálatát, amely magába foglalta a RNS izolálást és szekvenálást megbízási alapon a bécsi székhelyű Tamirna nevű cég végezte.

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

A zsenge ponttyal végzett kísérletek a Debreceni Egyetem Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet Hallaboratóriumában végeztem. A mesterséges szaporítást követően a megtermékenyített petéket recirkulációs rendszerű Zuger edényekbe

helyeztem. Az életképes, de még nem táplálkozó lárvák átkerültek egy önálló recirkulációs rendszerbe, ahol 48 órán belül levegőt vettek és feltöltötték úszóhólyagjukat. Ezt követően egy moduláris akváriumrendszer egységeibe helyeztem őket, amelyek a kísérlet helyszínéül szolgáltak. A kísérlet során az ivadékokat *ad libitum* tápláltam. Négy különböző kezeléssel alapuló kísérletet háromszoros ismétlésben végeztem el, ahol a kontrollcsoportok sórákot (*Artemia salina*) kaptak, míg a többi csoport táplálékát GTE-specifikus összetevővel egészítettem ki. A növényi GTE megkötésére maltodextrin alapú Fibersol-2 vízoldható élelelmi rostot használtam. A kísérlet során megadott időpontokban elemeztem a zsenge pontyok méretének változását és ATP-tartalmát. A kísérlet befejeztével megszámoltam az életképes egyedeket és kiszámítottam a túlélési arányt.

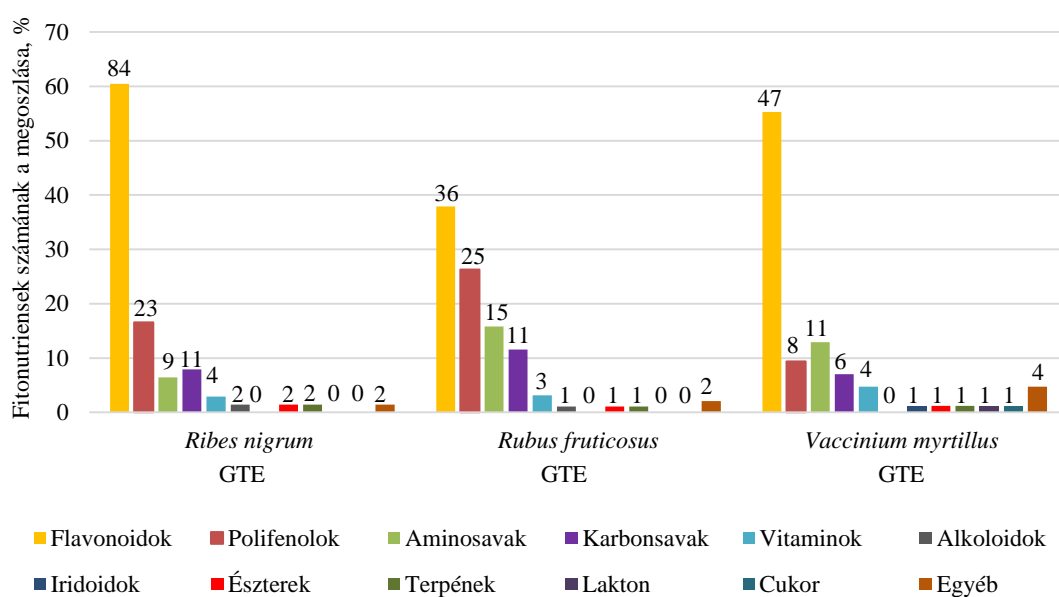
2.7. Statisztikai elemzés

Minden vizsgálatot háromszoros ismétlésben végeztem, az adatokat átlagértékben és \pm szórásban (SD) fejeztem ki. A statisztikai elemzésekhez az IBM SPSS Statistics 26 programot 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 szórások homogenitását 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.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Fitonutriens profil meghatározása a fekete ribizli, szeder és fekete áfonya rügykivonatok estében

Kutatásom során UHPLC-ESI-MS módszerrel vizsgáltam az előállított háromféle alkoholos rügykivonat fitonutriens összetételét. A fekete ribizli (*Ribes nigrum*) gemmoterápiás extraktumból (Rn-GTE) 139, a szeder (*Rubus fruticosus*) gemmoterápiás extraktumból (Rf-GTE) 95, míg a fekete áfonya (*Vaccinium myrtillus*) gemmoterápiás extraktumból (Vm-GTE) 85 fitokémiai összetevőt (1. ábra) sikerült beazonosítanom, amelyek polifenolok, flavonoidok, iridoidok, alkaloidok, aminosavak, karbonsavak, karbonsavak, észterek, terpének, vitaminok és egyéb származékok.



1. ábra: A GTE-kban lévő fitotápanyagok megoszlása

A vizsgált GTE-k közül mennyiségileg a Rn-GTE bizonyult a leggazdagabbnak, mivel 84 különböző flavonoidot és 23 polifenolt tartalmazott. Ezzel szemben a Rf-GTE összetétele szerényebb volt: 36 flavonoidot és 24 polifenolt sikerült azonosítanom. A Vm-GTE-ban a flavonoid komponensek száma kiemelkedő volt (47), míg a polifenolok alacsonyabb arányban (8) voltak jelen, mint a Rf-GTE-ban vagy a Rn-GTE-ban.

3.1.1. A GTE-ok bioaktív hatóanyag összetételének azonosítása

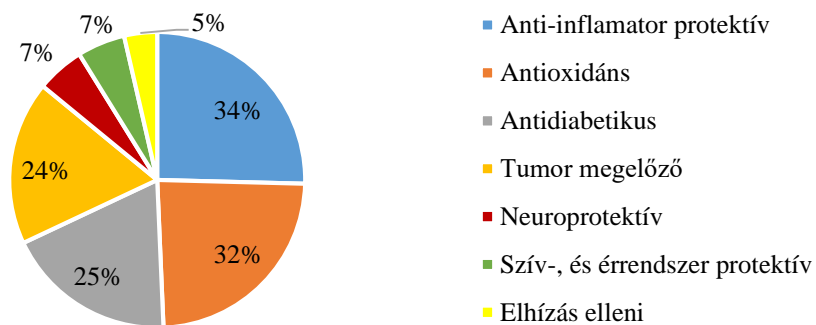
Az UHPLC-ESI-MS elemzés során a fekete ribizli rügykivonatában (Rn-GTE) elsőként sikerült beazonosítanom olyan, a szakirodalomban bioaktívként számon tartott flavonoidokat és polifenolokat, mint az ampelopsin, a dihidroxi-dimetoxi-izoflaván, a myricetin-O-xilozid, a naringenin-6,8-di-C-glükózid és a pentahidroxi-flavon. Az összetevők 73%-a eddig nem volt

ismert a *Ribes* fajban, jelentősen bővítve e faj bioaktív spektrumát. A szeder rügykivonatban (Rf-GTE) elsőként sikerült azonosítanom pinocembrint, pentahidroxi flavont, ducheside A-t, kaempferol-3-O-rutinozidot (nikotiflorin) és naringenin-6,8-di-C-glükozidot is. A komponensek mintegy 60%-a új *Rubus* fajban; 18 polifenolt, 22 flavonoidot és 17 további új vegyületet sikerült kimutatnom. A fekete áfonya kivonatában (Vm-GTE) az azonosított vegyületek 40%-a korábban nem szerepelt szakirodalomban, illetve három jellemző fitokemikália (cinnamtannin B1, cinnamtannin D1, kvercetin-3-O-galaktozid) eddig csak más fajokból volt ismert. A rügyhajtásból 17 flavonoidot, 6 polifenolt és 11 egyéb új vegyületet azonosítottam, amelyek most először kerültek leírásra *Vaccinium* fajban.

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).

3.1.2. Azonosított fitonutriensek élettani hatásainak szakirodalmi áttekintése

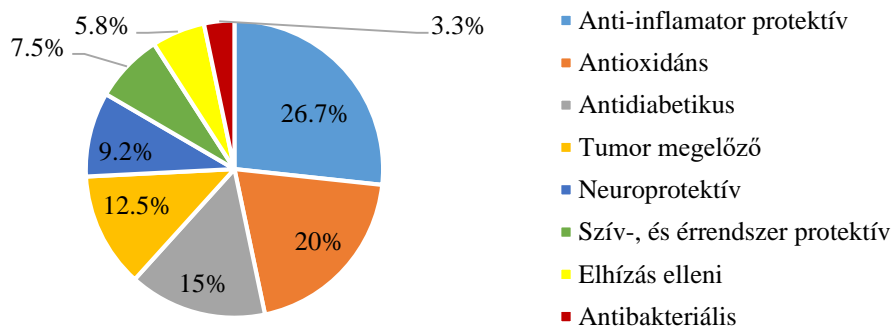
A kvalitatív elemzés során beazonosított fitonutriensek közül az alábbiakban ismertetem a legjelentősebbeket, amelyek az élettani hatásaik alapján a legnagyobb százalékban szerepelnek. A kördiagramok szeletei egy bizonyos élettani hatással bíró fitonutrienseket jelöli és ezen részesedések alapján lehet következtetni az adott GTE feltételezett élettani hatásaira.



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

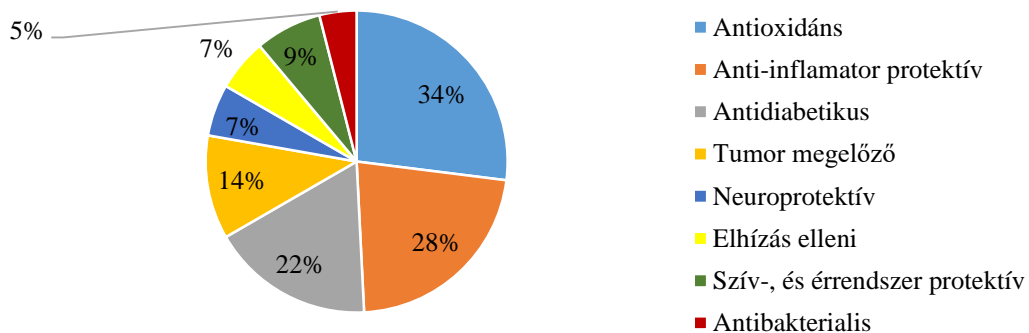
A Rn-GTE-ben az anti-inflammatorikus fitonutriensek aránya mintegy 34%, míg az antioxidánsoké 32%. E vegyületek fő élettani hatásai közé tartozik a szervezetben kialakuló oxidatív folyamatok gátlása (2. ábra), amit közvetlenül és/vagy közvetve is kifejthetnek. Az antidiabetikus komponensek aránya 25%, míg a tumorpreferenciót támogató fitonutriensek a Rn-GTE 24%-át teszik ki.

A szeder specifikus Rf-GTE esetében is érdekes fitonutriens-profil rajzolódik ki (3. ábra): az anti-inflammatorikus hatóanyagok részaránya 26,7%-kal dominál. Az antioxidáns élettani hatású fitonutriensek aránya 20%, míg az antidiabetikus tulajdonságúaké 15%.



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

A Vm-GTE legjelentősebb fitonutriensei az antioxidánsok, amelyek mintegy 34%-os részarányt képviselnek (4. ábra). A kivonat összetételének 28%-át az anti-inflammatorikus fitonutriensek alkotják. A Vm-GTE hatóanyagainak 22%-a antidiabetikus tulajdonságokkal rendelkezik.



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

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

A vizsgálataim során meghatároztam a GTE-k összpolicifenol-tartalmát TPC módszerrel, és az eredményeket galluszsav (GAE) egyenértékben fejeztem ki. A három GTE közül a Vm-GTE esetében mértem a legnagyobb összpolicifenol-tartalmat, (1. táblázat), 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 összpolicifenol-tartalmat pedig a Rn-GTE esetében mértem, amelynek értéke $83,8 \pm 1,2$ mg GAE/100 ml volt.

A FRAP módszerrel meghatároztam a vas redukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitást a vizsgált GTE-k esetében. 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.

1. táblázat: A GTE-k jellegzetes antioxidáns kapacitásának értékelése

GTE minta	Összes polifenol-TPC (mg GAE/ 100 ml)	Összes flavonoid - FRAP (mg ASA/100 ml)	DPPH antioxidáns aktivitás, %
<i>Ribes nigrum</i>	83,8 ± 1,2	40,11 ± 4,36	80,29 ± 0,81
<i>Rubus fruticosus</i>	237,56 ± 5,57	133,73 ± 0,92	88,83 ± 0,47
<i>Vaccinium myrtillus</i>	300,35 ± 3,5	162,61 ± 3,13	87,91 ± 0,24

Az eredmények az átlag ± SD.

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 (1. táblázat). 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 úgy a TPC, mint a FRAP és a DPPH antioxidáns képesség felmérésére során a Rf-, és Vm-GTE értékek voltak a kimagaslók.

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

Az analitikai vizsgálatok során számos polifenol jelenléte volt megfigyelhető úgy a fenolsavosztályból, mint a flavonoidokból. 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 (2. 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-glükozid, naringenin, kvercetin és rutin) kategóriába sorolható.

2. táblázat: A GTE-k szelektált polifenol tartalma

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

A koncentrációkat mg/ml-ben fejeztem ki, átlag ± SD.

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 kávéssavat ($1,693 \pm 0,0101$ 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. A Rf-GTE-ban a fenolsavak közül jelentősebb mennyiségben a szalicilsav volt jelen ($0,895 \pm 0,0202$ mg/ml), a flavonoidok közül pedig az apigenin ($0,330 \pm 0,0108$ mg/ml) és a rutin ($0,278 \pm 0,0047$ mg/ml). 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 kávéssav ($1,693 \pm 0,0101$ mg/ml) mellett jelen volt a klorogénsav, valamint egyedüli azonosított vegyületként a ferulinsav is, bár alacsonyabb mennyiségben.

3.2. A rügykivonatok antimikrobiális hatásának eredményei

3.2.1. Az agardiffúziós módszer alkalmazása során kapott eredmények

A rügykivonatok hatására kialakult gátlási zónák mérete változó volt a vizsgált mikroorganizmusok esetében. A Gram-pozitív baktériumok közül a *L. monocytogenes* mutatott nagyobb mértékű érzékenységet a Rf-GTE szemben, majd ezt követte a Rn-GTE, viszont a Vm-GTE esetében nem volt megfigyelhető gátló hatás (3. 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. A vizsgált Gram-negatív baktériumok közül csak a *P. vulgaris* esetében volt kimutatható gátlás a Vm-GTE és a Rf-GTE hatására. (3. 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.

3. 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	$10,45 \pm 0,55$ ^{c,d}
	90	na	na	$10,70 \pm 0,85$ ^{c,d,e,f}
	80	na	na	$10,56 \pm 0,65$ ^{c,d,e}
	70	na	na	$9,91 \pm 0,57$ ^{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
<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 ^{ij}
	80	na	10,99 ± 0,30 ^{a,b,c}	15,04 ± 1,03 ^k
	70	na	na	14,24 ± 0,86 ^{j,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	na
	90	na	10,13 ± 0,25	na
	80	na	9,76 ± 0,54	na
	70	na	9,42 ± 0,25	na
	60	na	na	na
<i>A. ochraceus</i>	100	na	10,47 ± 0,7	na

	90	na	10,07 ± 0,26	na
	80	na	9,96 ± 0,22	na
	70	na	9,56 ± 0,19	na
	60	na	na	na
<i>P. citrinum</i>	100	na	14,02 ± 0,64	9,34 ± 0,25
	90	na	13,22 ± 0,32	9,09 ± 0,31
	80	na	12,81 ± 0,36	8,83 ± 0,35
	70	na	11,91 ± 0,24	9,00 ± 0,18
	60	na	na	na
<i>P. expansum</i>	100	na	9,09 ± 0,07	na
	90	na	8,87 ± 0,19	na
	80	na	8,90 ± 0,22	na
	70	na	8,83 ± 0,14	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 *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 vörös áfonya rügykivonat a *P. citrinum* penészgombát gátolta 100-70% koncentrációban. A fekete ribizli rügykivonat nem fejtett ki gátlást a vizsgált penészgombákra.

4. 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
Penészgomba			
<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.

A vizsgált rügykivonatok különböző antimikrobiális aktivitással rendelkeznek a vizsgált törzsekkel szemben. A szeder rügykivonat három baktériumfaj és 5 mikroszkopikus gomba esetében fejtett ki antimikrobiális hatást. A vörös áfonya kivonat 3 vizsgált baktérium és 2

mikroszkopikus gombára fejtett ki gátló hatást, míg a fekete ribizli kivonat a *Listeria monocytogenes* és a *Saccharomyces cerevisiae* mikrobák növekedését gátolta (4. táblázat).

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

A MIC vizsgálat során kapott eredmények alapján a rügykivonatok többsége gátló hatással rendelkezik az összes tesztelt mikroorganizmusra különböző koncentrációkban (5. táblázat). 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.

5. táblázat: A vizsgált rügykivonatok minimális gátló koncentrációi és minimális baktericid koncentrációi

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

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 kivonatkonzentrációra volt szükség. A többi Gram-negatív baktérium gátlására magasabb koncentrációra volt szükség, ezek az értékek 40-60%

között vannak. A *S. cerevisiae* élesztőgomba esetében a MIC értéke 60%-os szeder rügykivonat koncentrációnak felelt.

A Rn-GTE hatására különböző eredményeket kaptunk a vizsgált mikroorganizmusok esetében (5. 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 Rn-GTE szemben, a minimális gátló koncentráció ez esetben 80%.

Megállapítást nyert, hogy 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.

3.2.3. A rügykivonatok minimális baktericid koncentrációjának vizsgálati eredményei

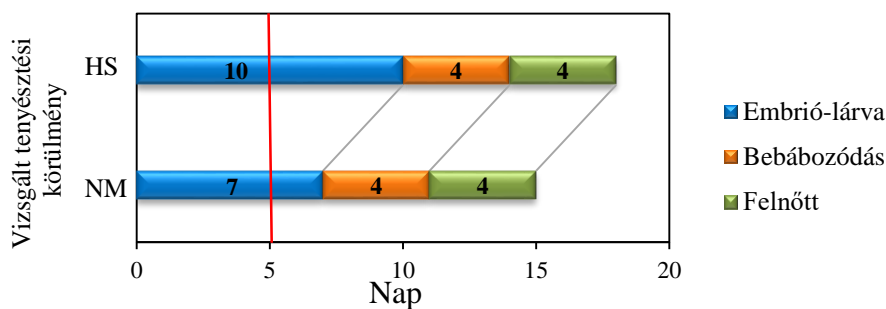
Az MBC vizsgálat során a GTE-k közül, leginkább hatékony kivonatnak bizonyult a Vm-GTE, amely jelentős hatékonyságot mutatott hat baktériummal szemben (5 táblázat). Úgy a Rf-GTE, mint a Vm-GTE baktericid hatást mutatott ugyanazokkal a Gram-pozitív baktériumokkal szemben, kivétel a *B. cereus*. A Vm-GTE 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 70%-os MBC-t mutatott a *P. aeruginosa* és 80%-os MBC-t a *S. enterica* szemben. 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 hatékonyak a *S. cerevisiae* ellen. Ezzel szemben, a Rn-GTE nem mutatott baktericid hatást a vizsgált mikroorganizmusokra.

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

3.3.1. 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 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 (5. ábra). A bebábozódás és a felnőtté válás időtartama megegyező (4-4 nap) volt.



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

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. Tehát, a lárvális állapot kitolódása összefüggésbe hozható hiperglikémiával, inzulin rezisztenciával, inflammációval és obezitással.

3.3.2. 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 HS étrendű ecetmuslica lárvák génexpressziós mintázatát és identifikáljam azokat a géneket, amelyeknek jelentősen

megváltozik az expressziója az alkalmazott étrend következtében. A szignifikáns transzkripciók 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* génre vonatkozó tudományos eredmény rögzítve van, ami azt jelenti, hogy a genomiális pozíciótól, a gén – transzkriptom – fehérje szerkezeteken és funkciókon át, a szövet – szerv és élelciklus specifikus expressziós mintázatokon keresztül, valamint az adott génre vonatkozó interaktom elemzésekig 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 (6. táblázat) és citoszkeleton (7. táblázat) funkciójú génekre fókuszáltam. 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.

HEMOLIMFA génklaszter

Az alábbi 6. táblázatban feltüntetett gének funkciója a hemolimfával kapcsolatos és az NM és HS étrenddel összefüggő 3-ik lárva stádiumú (120 órás) transzkriptomok vizsgálata során a hemolimfa/hormonok klaszterbe 25 gén került bele, amelyek közül 5 gén funkcióját ismertetném részletesebben az alábbiakban.

6. táblázat: Az ecetmuslica hemolimfa funkciójú génklaszter néhány releváns képviselője

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 HS étrend hatására a vas-homeosztázisban kulcsszerepet játszó *Fer1HCH* (–37%) és *Fer2LCH* (–38%) gének expressziója szignifikánsan csökkent a kontroll (NM) tenyészethez képest, ami a ferritin komplex működésének gátlására és a celluláris vasraktározás zavarára utal. Ez a magas szénhidrátbevitel következtében fokozott oxidatív stressz kockázatát jelzi a fejlődő lárvákban. Ezzel szemben a hemolimfatikus funkciójú *Lsp* géncsalád tagjainak (*Lsp1α*: +107%, *Lsp1β*: +184%, *Lsp2*: +112%) expressziója a HS étrend hatására emelkedett. A legmarkánsabb változás az *Lsp1β* esetében mutatkozott (közel kétszeres növekedés az NM-hez képest), ami a gén kulcsszerepére utal a szénhidrátbevitelhez kapcsolódó anyagcsere-átalakításban. Az *Lsp2* expressziója viszont stabil maradt, jelezve, hogy a lárvák fejlődési stádiumát a különböző étrendek nem befolyásolták jelentősen. A HS étrend hatására az *Lsp1α* és *Lsp2* expressziója közel azonos szinten maradt, jelezve a hasonló fejlődési stádiumot az NM és HS lárvák között. Ezzel szemben az *Lsp1β* expressziója jelentősen emelkedett, ami a gén potenciális szerepére utal a szénhidrátbevitelhez kapcsolódó anyagcsere-átalakításban, valamint arra, hogy a HS étrend hemolimfatikus gének szélesebb körű szabályozási zavarát idézheti elő.

CITOSZKELETON – AKTINOK, MICROTUBULUSOK

A NM és HS tartalmú tápközegen való tenyésztést követően vizsgáltam harmadik stádiumú *ecetmuslica* lárvák génexpressziós változásait, de ez alkalommal a jelentősebb citoszkeletális funkciójú génekre fókuszáltam. A 7. táblázatban szereplő gének olyan fehérjéket kódolnak, amelyek az aktin mikrofilamentumok és mikrotubulusok funkcióját befolyásolják. A teljes genom expressziós vizsgálata során és az erőteljes transzkripciós értékváltozás kritériuma alapján az ún. citoszkeletális klaszterbe 126 gén került bele, és ezek közül is 10 génnek szemléltem a funkcióját az alábbiakban.

A citoszkeletális gének expressziójának vizsgálata során a HS étrend szignifikáns változásokat idézett elő. Több aktin- és tubulingén expressziója csökkent (*Act42A*: –75%, *Act5C*: –60%, *Act87E*: –24%, *αTub84B*: –19%, *βTub60D*: –65%), míg más géneké emelkedett (*Act57B*: +181%, *βTub56D*: +16%, *Mlc2*: +19%, *Mlp60A*: +242%, *Mp20*: +13%). Az eredmények arra utalnak, hogy a magas szénhidrátbevitel egyes aktinfilamentumok stabilitásának csökkenését, ugyanakkor az izomhoz kötődő citoszkeletális gének túlzott aktivációját eredményezi. Ez az egyensúlyeltolódás a sejtdinamika, az izomműködés és a neuromuszkuláris integritás zavarához vezethet. A transzkriptom alapú összehasonlítás megerősíti, hogy a HS étrend komplex módon befolyásolja a fejlődési programokat, ami

túlmutat a klasszikus hiperglikémiás anyagcsere-defektusokon, és új kutatási perspektívákat vet fel a diabéteszhez kapcsolódó komplikációk és az antidiabetikus hatások tanulmányozásában.

7. táblázat: Az *ecetmuslica* citoskeletális funkciójú génklaszter néhány releváns képviselője

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.

3.3.3. Rügykivonatok hatásainak vizsgálata a *Drosophila* egyedfejlődésére

A w^{m4h} *ecetmuslica* élettani hatásainak vizsgálatát *in vivo* körülmények között figyeltem meg. Az alábbi 8. táblázatban a NM és HS tartalmú táptalajú tenyésztés (25 °C-on) eredményei láthatóak különböző koncentrációjú Rn-GTE függvényében.

8. 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.

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

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.

Rn-GTE koncentrációk jelentős hatással vannak a lárva állapotokra, és fontos szerepük van a populációk szabályozásában. A magasabb koncentrációk általában negatív hatással vannak a lárvák fejlődésére, míg az alacsonyabb koncentrációk esetén növekedést lehetett tapasztalni. Ezen kívül, 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^{4h} *ecetmuslica* egyedfejlődés nem érte el a korai bábállapotot, így ennek a kivonat koncentrációnak életképességére gátló hatása van. Mindezek alapján kijelenthető, hogy a Rn-GTE feltehetőleg bifázisos hatással bír a muslica életképességét illetően.

9. táblázat: A Rf-GTE hatása a w^{4h} *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.

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

A második vizsgálatban alkalmazott Rf-GTE koncentrációk jelentős hatással vannak az *ecetmuslica* bebábozódására és a kikelő imágók életképességére (9. táblázat). Számottevő eredményt a NM étrend mellett a 2 és 3 ml, 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.

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 (10. táblázat). 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.

10. 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.

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 növelte a Rf- és Rn-GTE egyes koncentrációi, míg a Vm-GTE esetében e hatás elmaradt mindkét szénhidrát tartalmú tenyészetek eseteiben. A vizsgálati eredmény alátámasztja, 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.

3.4. A rügykivonatok nutritív hatásának vizsgálata a zsenge pontyok kiegészítőtáppal történő etetésében

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 lárvák testi hossz-növekedés értékelése között a harmadik naptól kezdődően. Az adatok elemzése során megállapítást nyert, hogy a megtermékenyített ikrák és a nem táplálkozó lárvákat érintő szakaszokban a testhossz a magas ATP szint mellett megkétszereződik. A kikelés után 3 nappal a táplálkozó lárvák szakaszában jelentős különbségek mutatkoztak az ATP-hozamok tekintetében a csoportok között. Mivel az ATP mérések 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 (11. táblázat). 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.

11. táblázat: A GTE-ok 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			
Lárvák etetése (3. nap)	Testméret (mm)	7,21 ±0,09			
	ATP (pg/10 egyed)	128,02	168,32	247,16	156,92
Lárvák etetése (5. nap)	Testméret (mm)	7,21 ±0,09			
	ATP (pg/10 egyed)	292,03	37,52	285,19	99,37
Lárvák etetése (7. nap)	Testméret (mm)	7,77 ±0,16			
	ATP (pg/10 egyed)	244,12	189,11	173,14	240,83

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

A fenti eredmények azt mutatják, hogy a kikelés utáni harmadik nappal az Vm-GTE kiváló ATP-termelő(58%) képességgel rendelkezik, hasonlóan a kontroll sórákkal táplált lárvákhoz (11. táblázat). Az ötödik napon azonban csak az Rn-GTE (194%) és a Vm-GTE-vel (187%) táplált lárvákban volt megfigyelhető az ATP növekedése, és a kontrollcsoporton belül

ATP tartalom kritikusan lecsökken a többihez képest, ugyanakkor a lárvák testmérete jóformán változatlan maradt. A hetedik napon pedig csak a Rn-GTE-vel táplált lárvákban volt enyhe az ATP-tartalom emelkedése, mely megegyező volt a kontrollcsoporttal.

Összesítve az eredményeket, elmondható, hogy a GTE-nak pozitív hatása van az ATP koncentráció növelésére a lárvafejlődés során, ami közvetlenül bizonyítja a GTE-k nutritív kvalitását. Azonban minden életsiklusban a lárvák érzékenysége megerősítést nyert. Mivel, hogy az ATP a sejtek energiájának fő forrása, és elengedhetetlen a sejtek normális működéséhez. A vizsgálat során kiderült, hogy a különböző GTE-k standard sórákkal való helyettesítése növelte az ATP-szinteket a pontylárvákban. Ez azt sugallja, hogy a GTE-k tápláló tulajdonságokkal rendelkeznek az embriókból kikelt pontylárvák számára. Amely megerősíti, azt a tényt, hogy a haltakarmányban található tápanyagok hatékonyan hasznosulnak a sejtek energiatermelésében. A kutatás eredményei alapján tehát megállapítható, hogy ezek a GTE-k potenciális alternatív táplálékforrást jelenthetnek a pontyok korai fejlődési szakaszában. Ez a felfedezés fontos lehet a haltenyésztésben, mivel segíthet optimalizálni a haltakarmány összetételét és mennyiségét a pontyok egészségének és növekedésének javítása érdekében.

A kísérlet során megfigyelhető volt, hogy a kilencedik napra kizárólag a sórákkal táplált lárvák maradtak életben, ami aláhúzza a táplálék típusának kritikus szerepét a túlélésben. Emellett a vizsgálatban alkalmazott ATP-tartalom mérési módszer új, a szakirodalomban eddig nem dokumentált eljárás, amely lehetőséget kínál a sejtszintű energiaszint nyomon követésére különböző takarmányozási körülmények között. Ez a megközelítés hozzájárulhat az akvakultúra takarmányozási stratégiáinak tudományos alapú fejlesztéséhez.

3.5. A translációs modellrendszerek jelentősége a GTE értékelésében

A *Drosophila melanogaster* és a *Cyprinus carpio* fajokon végzett vizsgálatok eredményeinek összekapcsolásával sikerült egy új translációs modellrendszert kialakítani a GTE-k nutritív és potenciálisan antidiabetikus hatásainak tanulmányozására. Az ecetmuslicán nyert alapkutatási eredmények megerősítették a GTE-k koncentráció- és étrendfüggő hatását, amelyet részben sikerült igazolni a pontylárvákban is. Ez a modell lehetőséget biztosít arra, hogy az alapkutatásból származó ismereteket a gyakorlatban, a haltenyésztésben is hasznosítani lehessen.

3.5.1. Transzlációs modellrendszer előnyei és korlátai

A *Drosophila melanogaster* gyors fejlődési ciklusa lehetővé tette a GTE-k koncentráció- és étrendfüggő hatásainak vizsgálatát, míg a ponty (*Cyprinus carpio*) lárvák kísérletei a

gyakorlati takarmányozási potenciált tettek értelmezhetővé. Az eredmények igazolták, hogy a GTE-k rövid távon támogatják az energiatermelést és az életképességet, ugyanakkor hosszú távon nem pótolják a komplex tápanyag-összetételt. A két modell egymást kiegészítve biztosít átfogó képet: a muslica a mechanizmusok és dóziszfüggések, a ponty a táplálkozási alkalmazhatóság vizsgálatában bizonyult hasznosnak. Az ATP-szint érzékeny markernek mutatkozott a korai hatások kimutatására, de a hosszú távú értékeléshez növekedési és túlélési paraméterek is szükségesek.

3.6. Gyakorlati következtetés

A GTE-k ígéretes természetes adalékanyagok lehetnek a halgazdálkodásban, különösen a korai fejlődési szakaszokban, ahol energiatámogató és immunerősítő szerepük érvényesülhet. Ugyanakkor beépítésük technológiai kihívásokat vet fel (stabilitás, adagolás, ízletesség), ezért további fejlesztések, például mikroenkapszulálás és stabilitási vizsgálatok szükségesek.

4. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

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

- A *Ribes nigrum* (Rn-GTE) rügykivonatban 139 bioaktív komponenst 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 ATP-tartalom közvetlen meghatározását táplálkozó pontylárvákban, amely direkt bizonyítékkal szolgált a GTE-k metabolikus aktivitására és tápanyag-hasznosulásra gyakorolt hatásáról.

5. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

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.

6. IRODALOMJEGYZÉK

BANDERIA J.G. – SUTILI F.J. – GRESSLER L.T. – ELY V.L. – SILVERIA B.P. – TASCA 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.

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

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.

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.

CICERO A.T. – COLLETTI A. (2016): Role of phytochemicals in the management of metabolic syndrome. *Phytomedicine*, 23(11): 1134–44.

EDQM. (2023): *European Pharmacopoeia*, 11th ed. Brussels, Belgium.

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.

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.

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.

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.

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.

RESCIGNO T. – TECCE M.F. – CAPASSO A. (2018): Protective and restorative effects of nutrients and phytochemicals. *The Open Biochemistry Journal*, 12: 46–64.

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.

TAKEUCHI T. – SATOH S. – KIRON V. (2002): Common carp, *Cyprinus carpio*. *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*, 245–261.

7. 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

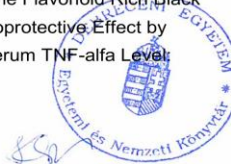
A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

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.**, Pecsenye, 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 Clujjeana, Kolozsvár, 17, 2019.
15. **Mihok, E.**, Albert, C., Molnos, É., Gyenge, S., András, C. D.: A fekete ribizkében (*Ribes nigrum* L.) található antociánok Soxhlet-extrakciós 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 tudánymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.06.28.

