

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM

KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR

BUDAPEST

A növényi kutikula szerepe a paprika termésének vízháztartásában

Kuznyák Lilla Tünde

Készült a Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszéken

Tanszéki konzulensek: Albert Zsolt PhD hallgató

Dr. Papp István egyetemi tanár

Bírálok:

Budapest, 2012. április. 08.

Tanszékvezető

Konzulens

Konzulens

Tartalomjegyzék

1. Tudományos előzmények	4
2. Irodalmi áttekintés.....	5
2.1. A növényi kutikula felépítése, szerepe a növények életében és jelentősége növénytermesztési szempontból	5
2.1.1. A kutikula felépítése és vizsgálati módszerei.....	5
2.1.2. A kutikula szerepe a növény életében	5
2.1.3. A kutikula szerepe a paprika életében és vízháztartásában	8
3. Célkitűzés.....	13
4. Anyag és módszer	14
4.1. Növény jellemzése	14
4.1.1. Növénytani jellemzői	14
4.1.2. Ökológiai jellemzői	14
4.1.3. Tápanyag tartalom	14
4.1.4. A paprika termesztése	15
4.2. Vizsgált növényanyag jellemzése	15
4.2.1. A kiválasztott paprikafajták jellemzése.....	15
4.2.2. Mérésekhez felhasznált állomány jellemzése.....	16
4.3. Oldatok, reagensek	17
4.4. A kutikula fénymikroszkópos és konfokális fluoreszcens mikroszkópos vizsgálata...	18
4.4.1. Metszetek készítése és festése	18
4.4.2. A fluoreszcens és konfokális mikroszkópia háttere	19
4.4.2.1. A mikroszkóp működése	19
4.4.2.2. Fluoreszcencia	19
4.4.2.3. A konfokális mikroszkóp működési elve	20
4.5. Vízesztések mérése	22
4.6. Viasz leoldások	23
4.7. Alkalmazott statisztikai módszere.....	23
4.7.1. Varianciaanalízis (ANOVA)	23
5. Eredmények	26
5.1. 'Hó' és 'Titán' fajtákkal végzett vizsgálatok eredményei	26
5.1.1. A vízvesztés vizsgálatainak első mérése	26
5.1.1.1. WLR mérések.....	26
5.1.1.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés.....	29

5.1.2. A vízvesztés vizsgálatainak második mérése	31
5.1.2.1. WLR mérések	31
5.1.2.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés.....	34
5.1.3. 'Hó' és 'Titán' kutikuláris viaszrétegének vizsgálati eredményei	35
5.1.4. 'Hó' és 'Titán' paprikák fénymikroszkópos vizsgálati eredményei	36
5.2. 'Hó' és 'Kárpia' fajtákkal végzett vizsgálatok eredményei	37
5.2.1. A vízvesztés vizsgálatának első mérése	37
5.2.1.1. WLR mérések	37
5.2.1.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés.....	38
5.2.2. A vízvesztés vizsgálatának második mérése	38
5.2.2.1. WLR mérések	38
5.2.2.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés.....	39
5.2.3. 'Hó' és 'Kárpia' kutikuláris viaszrétegének vizsgálati eredményei.....	39
5.2.4. 'Hó' és 'Kárpia' paprikák fénymikroszkópos vizsgálati eredményei	40
5.2.5. Fluoreszcens mikroszkópos eredmények	41
6. Következtetések	44
7. Összefoglalás	46
8. Köszönetnyilvánítás	47
9. Irodalomjegyzék.....	48

1. TUDOMÁNYOS ELŐZMÉNYEK

A kísérleteim előzményeként a Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszéken Dr. Papp István csoportjában számos vizsgálatot végeztek a különböző abiotikus stresszekre, és elsősorban a vízhiányra adott növényi válasz vizsgálatában, az arra való rezisztencia kialakításában.

A 'Hó' és 'Titán' fajtákat érintő vizsgálataim előzményeként előzetesen már Dr. Papp István és csoportja megvizsgálta e paprikák viaszösszetételét, melyben a BCE Alkalmazott Kémia Tanszékén Gyepes Attila volt segítségükre. Három különböző érettségi állapotban vizsgálták a 'Hó' és 'Titán' paprikákat, és eredményük azt mutatta, hogy a kutikuláris viaszok hosszú szénláncú komponensei az érettség kezdetén még nagyobb mennyiségben vannak jelen, ez a mennyiség azonban az érés előrehaladtával fokozatosan csökken. Ezzel párhuzamban, a rövid szénláncú komponensek aránya az érés során folyamatosan nő mindkét fajtában. Ez a kutatási eredmény a viaszok érés során történő módosulását feltételezi, emellett pedig potenciális hatást gyakorolhat e fajták posztharvest vízvesztésére, ezzel akár pulpon tarthatóságukra is.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A növényi kutikula felépítése, szerepe a növények életében és jelentősége növénytermesztési szempontból

2.1.1. A kutikula felépítése és vizsgálati módszerei

A növényi kutikula a növények földfeletti struktúráit borító erősen lipofil struktúra, mely polimerizált és szabad zsírszerű vegyületek komplexéből tevődik össze. A fejlett növények szárazföldre történő kilépésével olyan bonyolult feladatokat kellett megoldaniuk, mint a felszíni beérkező sugárzás csökkentése és a nagymértékű párologtatás csökkentése, valamint egyéb biotikus és abiotikus stresszek elleni védelem kialakítása (Berend és Fazekas, 2001). A növényi párologtatás szabályozásában kiemelt szerepet kaptak a gázcserenyílások, valamint a vízre szinte áthatolhatatlan kutikularéteg (Szerényi *et al.*, 2001).

A kutikula komponenseit jelenlegi ismereteink szerint a termések, a levelek, az elsődleges szár és a virág egyes részeinek epidermisz rétege szintetizálja. Általánosan három részből tevődik össze, ezek a depolimerizálható polimer mátrix, a kutin, a depolimerizációra képtelen polimer struktúrájú kután réteg, valamint az intra- és epikutikuláris viaszok (Pollard *et al.*, 2008). Mivel a kutin réteg főként hidroxí és epoxi C16 és C18 zsírsavakból és glicerolból álló polimer, monomerei között erős kovalens kötések képesek kialakítani ezért jelentős mechanikai védelmi szerepet tölt be és ezáltal a kutikula strukturális gerincét képezi (Samuels *et al.*, 2008). Ezzel szemben a kutikuláris viaszokra nem jellemző a polimerizáció és így monomerekként találhatók meg és vonhatók ki a kutikulából szerves oldószerek segítségével. Ezek a viaszok általában a kutikula tömegének általában 20-60%-át teszik ki. A viaszok pedig egyenes láncú C20-C60 alifás vegyületekből és esetlegesen triterpenoid-, fenilpropanoid-, és flavonoid –szerű másodlagos anyagcsere termékekből állnak. Az egyes növényfajok, sőt a fajták is nagy változatosságot mutatnak a kutikuláris viaszaik összetételében, mely eltérés nagyban befolyásolja a növényi felszínek fizikai paramétereit és az ezekből fakadó biológiai funkciókat. (Samuels *et al.*, 2008).

2.1.2. A kutikula szerepe a növény életében

A kutikula olyan szerkezet, mely a növény életéhez szükséges számtalan funkciót egyesíti. A korai szárazföldi növényekben már megtalálható volt a kutikula. Kialakulása lényeges az edényes szárazföldi növények evolúciójáról alkotott elképzelésekben. A kutikula, a sztómák, a kiterjedt gyökérrendszer, és a sejtközi légter kifejlődése a kutatók értelmezése szerint szükséges lépések a növényi élet légkörhöz való alkalmazkodásában. A korai kutikulának talán más funkciói is voltak, hasonlóak a modern kutikulák parazita-, UV-sugárzás elleni védekező funkciójához, vagy a víztaszító képességéhez (Riederer és Müller, 2006). A szárazföldi növények egyik legszükségesebb

feladata, hogy szabályozzák a vízháztartásukat. Hogy életben maradjanak, a növényeknek fent kell tartaniuk a párologással elvesztett víz, és a gyökerekkel felvett vízmennyiség egyensúlyát. A párologtatást a levelekből, hajtásokból, virágokból és termésekből két tényező irányítja: a kutikula és a sztómák. Csak akkor megy végbe megfelelően a párologtatás szabályozása, ha a kutikula és a sztómák is funkciójukat tekintve megfelelően működnek, ugyanis a kutikula alacsony vízre való áthatolhatósága ellensúlyozza a sztómák nyitott állapotában fellépő vízvesztést (Riederer és Müller, 2006).

A növényi kutikula lényeges szerepet tölt be a párologtatás szabályozásában, és a növény hőháztartásában is. A vízgőz eltávozásakor a párologó felület lehül, amikor a víz cseppfolyósból gőz állapotúba alakul és a párologási hő felhasználódik. A nagy melegben elengedhetetlenül fontos a transpiráció hűtő hatása a növények számára, ilyenkor ugyanis a növény felületének hőmérséklete a környező levegőhöz képest akár 8-10 fokkal is kevesebb lehet. A transpirációnak két fontos fajtáját tudjuk elkülöníteni egymástól, melyek közül az egyik a kutikuláris a másik pedig a sztómás transpiráció.

Minden szervezetnek elsősorban a belső környezetét kell szabályoznia, ezért rendelkezniük kell egy ellenálló kültakaróval, mely elválasztja őket a környezettől. Ez a szárazföldi növényekre is igaz, amelyek ionokat, és szerves anyagokat vesztenének, vagy nedvességet vehetnének fel, ha nem lenne egy ellenálló kutikula rétegük, amely gátolja ezeket a folyamatokat. Egyre több kutatás rámutat, hogy ionok és apró poláris molekulák áthatolnak a kutikulán jelenlévő poláris járatokon (Riederer és Müller, 2006).

Amikor a sztómák zárva vannak, átlagosan tizenkét órát naponta, teljes mértékben a kutikula határozza meg a gázok és a gőzök leadását és felvételét a növény és környezetének határfelületén. Ez nem feltétlenül csak a vízgőzre vonatkozik, hanem az olyan gázokra is, mint a CO₂, oxigén, nem organikus légszennyező anyagok és illékony organikus csoportok, mint pl. a terpének. Az erősen lipofil organikus anyagok gázcseréje a kutikulán keresztül történik, még akkor is, ha a sztómák nyitva vannak. Kísérleti úton igazolták sértetlen leveleken, hogy mesterségesen bezárt sztómák mellett a kutikula kis mennyiségű széndioxidot valamint vízgőzt enged át és észrevehetően különbséget tesz a két anyag között.

A poláris anyagok mellett minden nem könnyen illó lipofilikus anyagnak a kutikulán kell átjutnia, hogy beléphessen (vagy kiléphessen) a termésbe, hajtásokba vagy levelekbe. Számukra a sztómákon keresztül történő átjárás teljesen lehetetlen, vagy csak nagyon korlátozott mértékben lehetséges. Ezek a szóban forgó organikus anyagok lehetnek a növény másodlagos anyagcseretermékei vagy a természetből, emberi tevékenységből származók, melyek megtalálhatók a környezetben. Gyakorlati szempontból a növényvédő szerek felvétele elsődleges fontosságú (Riederer és Müller, 2006).

Esőzések után a levélfelület lepergeti a vízréteget, így lehetősége van a gyors megszáradásra. Sok növényfaj kutikuláris felszíne (legalábbis a fiatalabb részei) taszítja a vizet és a legtöbb vízalapú oldatot. Ez azért előnyös, mert a víznek a levél felületén való hosszas megtapadása komoly negatív hatásokkal lehetne a növényre. Ilyen lehet például az ionok és poláris szerves anyagok kimosódása a növény belsejéből vagy a megfelelő környezet kialakulása az esetlegesen ártalmas mikrobák számára (pl. növény kórokozó baktériumok és gombák).

Egyes növényi felszínek nemcsak víznek, és vízalapú oldatoknak állnak ellen, hanem mikroszkopikus részecskéknél is, mint pl. az aeroszoloknak, poroknak, spóráknak is. Ez egy öntisztító mechanizmusnak köszönhető, mely a levelek fizikokémiai tulajdonságain alapul. A levél felszínéről lecsorgó vízcseppek magukkal viszik ezeket a mikroszkopikus részecskéket, így megtisztítva a felületet. Ezt a jelenséget „Lótusz-effektus”-nak hívják, és ipari felhasználását is felfedezték már.

A szárazföld meghódításának egyik fő oka a bőségesen rendelkezésre álló 400-800 nm közötti sugárzás jelenléte volt. Mivel azonban a fotoszintézis egy igen komplikált és érzékeny pigment rendszeren, fehérjéken és membránkapcsolt csoportokon múlik, ezt a komplexet könnyen megsérti a túlságosan erős fény. Az ezt kivédő egyik védekező mechanizmus a kutikulához kötődik. Sűrű viaszréteg jön létre, gyakran viaskristályokkal borítva, mely jobban szétszórja és visszaveri a sugarakat, így elviselhető lesz a növény számára a sugárzás, mely eléri a fotoszintetikusan aktív szöveteket a levél belsejében. Az elektromágneses spektrum másik része, mely éri a növényeket az UV (280- 400 nm) tartomány, melynek túlzott jelenléte szintén károsítja a fotoszintetikus apparátust, és a növényi sejt más fontos részeit (Riederer és Müller, 2006). A kutikula (sokszor az epidermisz külső sejtsorával és vakuólumaival együtt) hatásos UV-sugárzás szűrő lehet. Egyes kutatások szerint a beérkező sugárzás akár 20-80%-át is visszaverheti (Jenks és Ashworth, 1999) így óvva az érzékeny belső szöveteket.

Néhány esetben a kutikula funkciói segítenek más struktúráknak pl. sejtfalaknak fenntartani a növényi szövetek szerkezeti egységét (Riederer és Müller, 2006). Ennek fontosságára példa a paradicsom és a cseresznye termésének túlzott vízfelvételt követő felrepedése. Mindkét esetben a gyökereken vagy termésfelszínen keresztül felvett nagy mennyiségű víz okozta belső nyomás a termés repedéséhez vezet (Simon, 2006).

A kutikula a növényi fejlődésben is igen fontos szerepet játszik, sérült kutikulával rendelkező mutánsok ugyanis sok esetben nagy vízvesztiséget mutatnak, ezen kívül morfológiai rendellenességeket, mint például a szervek összenövése (Riederer és Müller, 2006). Egy lúdfű (*Arabidopsis thaliana* L. (Heynh.)) mutánsban, melynek a *fiddlehead* (*fdh*) nevet adták azt találták, hogy a kutikuláris viasz komponensek változása a generatív szervek szabálytalan és abnormális fúzióját okozza (Pruitt *et al.*, 2000).

A hajtás kutikulával borított felszíne a földfeletti mikroorganizmusokkal való kölcsönhatások fő színtere. Itt lépnek kölcsönhatásba a növényekkel a baktériumok és gombák (mikroszkopikus kórokozók), amit a kutikula tulajdonságai nagyban befolyásolhatnak. A kölcsönhatáson belül többek között az adhézió, a gazda felismerése, a mikrobák ásványi táplálása, és a folyékony víz felvehetősége is függ a kutikulától. Számtalan esetet megfigyeltek, ahol a kutikuláris és levélfelszíni tulajdonságok hatással voltak a növényevő viselkedésére, így közvetve a növény egészségi állapotára (Riederer és Müller, 2006).

Az eddig felsorolt veszélyek nemcsak a növények számára, hanem más földi organizmusoknak is gyakran problémát okoznak. Sokszor a legnagyobb kihívás a száraz környezetben való kiszáradás elkerülése. A vízháztartás egyensúlyának fenntartása minden földi élőlény számára megoldandó feladat. Sok faj esetében a kültakaró külső rétegei olyan réteggel takartak vagy átitatottak, melyek egy vagy több lipidrétegből állnak, melyek a vízhatlanságért felelnek. Mind az ízeltlábúak, mind a növények kutikulája egy folytonos, nem sejtszerkezetű membrán, mely több rétegből áll és az epidermiszt fedi. Ízeltlábúaknál és magasabb rendű növényeknél ez egy finoman strukturált képlet, mely a kültakaró víztaszító képességét meghatározza. A kültakaró külső rétegeinek kémiai, szerkezeti és fizikai tulajdonságai között párhuzam vonható, ami kiváló példa a konvergens evolúcióra két nagyon különböző élőlény csoportnál. A párologtatás viasz alapú gátlásának evolúciós sikere kiemelkedő. A Földön az ismert fajok nagyjából 80%-a rendelkezik kutikulaszerű kültakaróval, melyekben a vízre való áthatolhatatlanságért viaszok felelnek. Feltehetően a hosszúláncú alifás molekulák keverékének két tulajdonsága felelős ezért a kiemelkedő evolúciós sikerért. A viaszok egyfelől képlékenyek, így követni tudják a növekedést és a mozgást, másrészt pedig sokkomponensűek, és öngyógyító tulajdonságokkal rendelkeznek, mely lehetővé teszi az apró hiányok pótlását úgy a növények, mint ahogy az ízeltlábúak kültakaróján (Riederer és Müller, 2006).

2.1.3. A kutikula szerepe a paprika életben és vízháztartásában

A zöldségnövények termesztésének befejező szakasza a betakarítás, majd az azt követő értékesítésre való előkészítés. A paprikánál is, mint minden zöldségnövényenél ügyelni kell a leszedett növények minőségének megőrzésére ugyanis gyorsan romlanak, és könnyen veszítenek beltartalmi értékeikből (Hodossi *et al.*, 2004). A betakarítás utáni vízvesztés nagyon fontos tényező a paprika esetében is, hiszen ezáltal romlik a minősége, ami kihat a későbbi értékesítésére is. Egy kutatásban például kapcsolatot kerestek a paprika termések betakarítás utáni vízvesztése és a fizikai sajátosságaik között (Banaras *et al.*, 1994). Három fajtát 'Keystone', 'NuMex R Naky' és 'SantaFe Grande' vizsgáltak és jelentős különbségeket fedeztek fel a kezdeti víztartalom, a felszín, a felszín/térfogataránya, a kutikula tömege és a kutikuláris viasz tartalmában. Szignifikáns eltérést

mutatott a betakarítás utáni vízvesztés aránya a három különböző paprika fajta esetében 8, 14 és 20 °C-on tárolva. Érdekes módon azonban a betakarítás utáni vízvesztés nem volt összefüggésbe hozható a kezdeti víztartalommal semmilyen raktározási hőmérsékleten. A nagyobb méretű 'Keystone' kisebb felszín/térfogat aránnyal és erős epikutikuláris viasztartalommal kisebb mértékben veszített a tömegéből, amiből levonható az a következtetés, hogy a vastag viaszréteg pozitív irányba befolyásolta a vízvesztést a 'Keystone' paprikák esetében. Egy másik tanulmányban, amely szintén a betakarítás utáni vízvesztéssel foglalkozik, kimutatták, hogy a termés felszínének és friss tömegének hányadosa logaritmikusan csökkent a termés méretének emelkedésével (Díaz-Pérez *et al.*, 2007). Ráadásul a kisebb paprikák szignifikánsan nagyobb változást mutattak, mint a nagyobbak. Ezen kívül észrevették, hogy a termés méretének növekedésével és az érettségi állapot előrehaladtával a vízvesztés aránya csökken. A paprika felszínre vonatkoztatott tömegének és vízvesztésének aránya az éretlen termésnél kiemelkedően magas volt, míg a szedésre, illetve a biológiailag érett paprikák között különbség nem volt észlelhető. Az érett paprikákon a bőrszöveten és kocsányon keresztüli vízvesztés $29 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{kPa}^{-1}$ és $398 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{kPa}^{-1}$ volt, darabonként. Ebből adódóan az érett paprikák termésénél 26%-ban a vízvesztés a kocsányon keresztül történt. A tárolás alatti vízvesztés növekedésével párhuzamosan a paprikák bőrszövetének feszessége és párologtatása csökkent, valamint a vízvesztés aránya is hanyatlott.

Mivel a zöldségnövények igen sérülékenyek, ezért szedésükre is jobban oda kell figyelni. A külső- és belső minőség megőrzésének érdekében kímélő betakarítási módszereket kell alkalmaznunk, óvnunk kell a későbbi tárolás során a szélről, naptól és egyéb környezeti tényezőktől is (Hodossi *et al.*, 2004). Kutatók rájöttek, hogy a fajta és a betakarítás módszere nagyban befolyásolja a raktározási minőséget. A vízvesztés és fagykár azon tényezők közé tartozik, melyeknek negatív hatása van a paprikára, a szállításra, a raktározásra valamint a későbbi forgalomba hozatalra. Egy tanulmányban a kutikuláris viaszok fajtára gyakorolt hatását és az AOX gén expresszióját vizsgálták a vízvesztésnél és fagykárnál paprikák esetében (Smith *et al.*, 2006). E gén expressziójáról ugyanis korábban kimutatták, hogy szignifikánsan csökkentik a reaktív oxigén formák megjelenését hűtőtárolt paprikákban. Eredményeik demonstrálták, hogy a paprika vízvesztésének fő okai között említhető meg a genotípus valamint számos betakarítás előtti és utáni tényező. Vizsgálatok folytak azzal kapcsolatban is, hogy milyen hatással van a betakarítás módja a vízvesztésre, valamint szembe állították egymással azt is, hogy a paprikák szedésekor a kocsányt törték vagy vágják. Eredményként azt kapták, hogy a betakarítás módja csupán kismértékben volt hatással a vízvesztési százalékra. Ezenfelül megfigyelték a paprikánál a termés vízvesztése és mérete közti összefüggést, mely alapján azt feltételezik, hogy a kutikula az elsődleges akadálya a vízvesztésnek. Azonban egyértelmű kapcsolat a kutikuláris viaszok mennyisége és a vízvesztés

között nem volt nyilvánvaló. A fajták között eltérést találtak a fagykárra való érzékenység tekintetében, emellett a paprika vízvesztése pozitív korrelációban állt a fagykárra való érzékenység súlyosságával. Nem találtak összefüggést azonban az endogén AOX transzkriptumok szintjei és a fajta fagykárra vonatkozó érzékenysége között. Az eredmények jól demonstrálták, hogy milyen nehéz olyan mutatókat azonosítani, amelyek összefüggésbe hozhatók a vízvesztéssel.

Egy másik, szintén paprikát érintő kutatás során kapcsolatot véltek felfedezni a vízvesztés, a lipid tartalom, a membrán szerkezet és a LOX aktivitás között, a tárolást követően (Kissinger *et al.*, 2006). Tíz, a tárolási vízvesztésre nézve igen különböző paprika genotípust vizsgáltak meg a kutatók, a sejtmembránok lipid tartalma, membránok szerkezet vesztese (elektrolit áteresztés) és lipoxigenáz aktivitása szempontjából. Azok a genotípusok, melyek nagymértékű vízvesztésre, ionáteresztésre és lipoxigenáz aktivitásra voltak hajlamosak, mind kis mennyiségű lipidet, foszfolipidet és foszfolipid osztályokat tartalmaztak. Ezekben a zsírsavak mennyisége is alacsony volt, kivéve a linolsavét, mely nagy mennyiségben fordult elő azokban a genotípusokban, melyek e nagymértékű vízvesztésre voltak hajlamosak. Ezzel szemben, a kis mennyiségű vízvesztésre hajlamos genotípusok esetén minden lipid nagy mennyiségben volt megtalálható, kivéve a linolsavat. A nagy vízvesztésű genotípusok magas linolsav tartalma vagy gyors bioszintézist, vagy a lebontási folyamatok lassúságát feltételezik. A korreláció a teljes membrán lipid mennyiség és a vízvesztés, valamint az elektrolit áteresztés és lipoxigenáz aktivitás között negatív és jelentős volt. A foszfolipidek, foszfolipid osztályok és zsírsavak a teljes membrán lipid mennyiséghez hasonlóan negatív összefüggést mutattak a fentebb felsorolt paraméterekkel. A magas negatív korreláció a membrán lipidek és a lipoxigenáz aktivitás között megerősítette azt a feltételezést, miszerint a lipoxigenáz aktivitásnak szerepe van a lipid peroxidációban. A membrán lipidek lipoxigenáz által katalizált oxidációja membránsérülést, membrán szerkezet veszteséget, és a membránalkotók nagy reakcióképességű oxidációs termékekkel való kölcsönhatását okozhatja, mely a membránon ionszivárgást és a tárolt paprikák gyorsabb vízvesztését okozza.

A termények felhasználása és betakarítása között gyakran hosszabb idő is eltelik, így a cél az, hogy az áru frissességét minél tovább megőrizték, hogy az minőségét megőrizve, jó állapotban kerüljön a fogyasztó elé, ennek módja pedig a tárolásban rejlik. A tárolás lehet átmeneti/időleges vagy akár tartós is, helyszínt tekintve is igen különböző, akár szabadföldön, akár egyszerű vagy korszerű létesítményekben is történhet. Ezenfelül még rengeteg egyéb szempontot is nézhetünk, miszerint tárolhatunk hűtött helyen vagy szabályzott légterű tárolóban is. Akár halmokban, akár tartályládákban vagy boksza-palettákban is, azonban minden zöldségfajta különböző igényekkel rendelkezik (Hodossi *et al.*, 2004).

A paprika esetében kifejlesztettek egy különleges forró vizes kezelést a tárolás minőségének javítására (Fallik *et al.*, 1999). Egy különleges eljárást, melyben a paprikát egyidejűleg átmossák és

fertőtlenítik forró vízben kefék segítségével. A módszer hatásosságát mind laboratóriumi, mind kereskedelmi eljárásokkal kipróbálták számos paprika fajtán. A hosszan tárolt és szimulált kereskedelmi tevékenységnek kitett paprikák esetében a tisztításra és fertőtlenítésre (a termés minőségének megtartása mellett) a megfelelő az $55\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on $12 \pm 2\text{mp}$ -en keresztül történő kezelés volt. Ez a kezelés jelentősen javította a termés küllemét, csökkentette a romlás előfordulását és megtartotta a termés szilárdságát. A tisztított termés légcseréje lényegesen alacsonyabb volt, mint a kezeletlené a tárolás és a szimulált polcon tartás során. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálattal (SEM) kimutatták, hogy ez a módszer eltüntette a koszt, a port és még a gomba spórákat is a termés csészéjéből és héjáról, valamint az epidermiszen lévő apró, láthatatlan sebeket elzárta, így fenntartva a jó minőséget a tárolás során.

A paprikanövény fontos betegségei közé tartozik például a paprikamozaik vírus, mely a paprikán kívül több gazdanövénnyel is rendelkezik. Fitoplazmás betegsége például a paprika sztolburja, míg baktériumos betegségei közé tartozik a pszeudomonaszos boggyórothadás, illetve a xantomonaszos betegsége is. A fentiek mellett gombás betegségei is nagy jelentőséggel bírnak. Ilyen például a paprika fitoftórás betegsége, valamint a kolletotrichumos boggyórothadás (Glits és Folk, 2000).

A fitoftórás termésrothadás a termésérés, valamint a kutikula vastagsága között kutatók kapcsolatot véltek felfedezni. Kísérleteket végeztek új-mexikói típusú paprikáknál, hogy meghatározzák a paprika fitoftórás termésrothadásra való fogékonysága és a termésérettség közötti összefüggést. A paprikatermést hetente szüretelték és *Phytophthora capsici* zoospóra szuszpenzióba mártották. Az ép termések fertőzésre való fogékonysága csökkent az érettség növekedésével. A tünetek mértékének napi növekedése az ép zöld terméshez képest 14,1 mm-ről 10,7 mm-re csökkent a piros termésben. A sebzetlen termések (éretlen zöld, érett zöld és piros), amiket zoospórával oltottak be szintén alacsonyabb szintű fertőzöttséget mutattak, ahogy a termés érett. A léziók növekedése 9,6 mm/nap, 5,9 mm/nap és 2,7 mm/nap volt a sebzetlen éretlen zöld, érett zöld és piros termésekben. Ezzel szemben a léziók növekedése sebzett termések esetében 14 mm/nap volt minden érettségi állapotban. A gombás növekedés nagyobb mértékű volt a piros termés kivonatokban, mint a zöldben, mely arra enged következtetni, hogy gátló mechanizmusok (pl.: kémiai inhibitorok) nem voltak jelen a piros termésekben. A gombás növekedés közvetlen összefüggésben volt a termés cukortartalmának növekedésével. A kutikula vastagsága azonban az éretlen zöld termés $12\mu\text{m}$ -éről a piros termésen $24\mu\text{m}$ -re növekedett. A peroxidáz aktivitás és az izoformok növekedtek az érettséggel. Úgy tűnik, a kutikulavastagság az ép, érett zöld és piros termések *P. capsici*-val szembeni ellenállóságának fontos komponense (Biles *et al.*, 1993).

Egy másik kutatás során a *Colletotrichum gloeosporioides* gomba káros hatását vizsgálták érett piros és éretlenebb, zöld paprika kutikuláris viaszára, melynek során gombával fertőztek ép,

viaszát kloroformmal eltávolított és mesterségesen megsértett zöld, valamint piros paprikákat. A léziók és több konídium keletkezése általában az eltávolított viaszú, ép piros paprikáknál volt megfigyelhető, míg a kloroformmal kezeltnél ehhez képest kevesebb sérülést azonosítottak. A sérült paprikánál nagyobb lett a lézió, mint a kezeltnél. A viaszukat eltávolított paprikákon több csírázó konídium és fertőzött hifa volt található, mint a kontrollon, azonban a zöld és piros paprikák között különbséget nem találtak. A kloroformmal kezelt mintákon a kutikuláris réteg részben viasszal volt leoldva és a külső epidermális sejtsor kissé át volt szakítva. Az érett paprikán több kutikuláris viaszt találtak, mint az éretlenen. Ezek eredménye azt sugallta, hogy a paprika kutikuláris viaszrétege fontos szerepet játszik a fertőzésnél (Oh *et al.*, 1999).

A *Colletotrichum gloeosporoides*-szel kapcsolatban más kísérletek is folytak piros és zöld paprikák esetében. Ilyen volt a gomba izolátumának vizsgálata piros és zöld paprikatermésekben. Ennek során a *Colletotrichum gloeosporoides* KG13-as izolátumával oltottak be sebzett és ép paprikákat. A piros és zöld termések között eltérő kölcsönhatást tapasztaltak. Az izolátum tipikus nekrózisos, beesett, antraknózisos tüneteket okozott az ép és sebzett zöld terméseken, valamint a sebzett pirosakon, de az ép pirosakon nem. Azonban 12 órával a beoltás után a gomba apresszóriumos formában nagyobb mennyiségben volt megtalálható a fogékony zöld termés felszínén, mint az inkompatibilis pirosén. A zöld terméseken nagyobb és hosszabb fertőzött gócokat okoztak az apresszóriumok, mint a pirosakon. Felfedezéseik arra engednek következtetni, hogy a *Colletotrichum gloeosporoides* KG13 izolátuma másképpen hat a piros és zöld paprikatermésekre. Talán a termések kutikulájának fizikai és kémiai különbségei miatt (Kim *et al.*, 1999).

3. CÉLKITŰZÉS

Kísérleteim során különböző paprika fajtákon és különböző módokon a kutikuláris viasz hatását vizsgáltam a termés vízvesztésére. Vizsgálataimat két éven keresztül 2010 és 2011 során több időpontban végeztem. Első alkalommal két paprika fajtánál ('Hó' és 'Titán') vizsgáltam a viaszok hatását a vízvesztésre. A kutikuláris viaszok szerepét három különböző érettségi fázisban mértem a paprikákon. Mikroszkopos módszerrel a szöveti struktúrákat, valamint a vízvesztést vizsgáltam ép és leoldott kutikulájú paprikákon. Céлом az volt, hogy különbségeket tárjak fel a szemmel is jól látható morfológiai különbségek mellett ezen paprikák vízháztartásában. A másik kísérletben a 'Hó' és 'Kárpia' fajtákat választottam, ebben az esetben nyilvánvaló különbségek tapasztalhatók a pulton tarthatóság tekintetében, a 'Kárpia' esetben ez az idő jóval hosszabb, mint a 'Hó' esetében. Épp e miatt nem volt indokolt eltérő érettségi fázisokban is vizsgálni a paprikákat. Céлом tehát e vizsgálat során az volt, hogy a két paprika pulton tarthatóságában észlelt különbségek fakadhatnak-e vízháztartásbeli illetve morfológiai eltérésekből.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Növény jellemzése

A paprika (*Capsicum annuum* L.) a Solanaceae család tagja. A *Capsicum* nemzetségben 20-30 paprikafaj található. Őshazájának Mexikót, Guatemalát tartják. A fűszerpaprika termesztése Szeged környékén az 1700-as években indult meg. Ennek ellenére csak a XIX. század első felében bontakozott ki a nagyobb arányú szántóföldi termesztés nálunk.

4.1.1. Növényteni jellemzői

A paprika egyéves növény nálunk (hazájában találkozhatunk többéves fásodó szárú félcserjékkel is). A fejlett paprikának sűrű „bojt”-hoz hasonlít a főgyökérzete, melynek nagy része 30-40 cm mélységben helyezkedik el a föld alatt. Hajtásrendszere alapján két csoportba tudjuk osztani őket, a csokros (determinált) csoportba, illetve a folytonos növekedésűbe. Leveleinek alakja, nagysága és száma is sokféle lehet. A virágai kétivarúak, fehérek és tövüknél összeforrtak. A porzók és szirmok száma egyaránt 5 (-8), a porzók lilák, önbeporzó vagy fakultatív idegen beporzásúak is lehetnek. A termésük bogyótermés, mely gazdasági és termesztési szempontból jelentős. Alkotórészei a kocsány, csésze, rekeszfalak, a központi oszlop a magokkal és a termésfal. A mag lapított, vese alakú és sima felszínű. Csírázóképesége 3-4 évig tart, ezermagtömege 5-7g (Terbe *et al.*, 2005).

4.1.2. Ökológiai jellemzői

A zöldségnövények között a meleget kedvelő növényeink közé tartozik a paprika, így hőmérsékleti optimuma 25 ± 7 °C, míg a magvak csírázási hőoptimuma 30-32 °C. Meleg igénye miatt a fagyponthoz alatti hőmérsékletet még rövid ideig sem bírja, tehát 25-30 °C szükséges a megfelelő fejlődéséhez. Terméskötődéséhez a fajtánként szükséges küszöbérték felett 12-14 óra megvilágítás, illetve legalább 5000 lux körüli fényerősség szükséges. Vízigénye igen nagy, a sejtek több, mint 80 súlyszázaléka víz. Transzpirációs együtthatója átlagosan 330, ez nem más, mint az egységnyi szárazanyag előállításához szükséges vízmennyisége. Ugyanakkor vízfogyasztási együtthatója 100 körüli, ami azt jelenti, hogy egységnyi termés előállításához mennyi víz szükségeltetik. Tápanyagigényét tekintve a paprika 1 tonnája 3,4 kg káliumot (K_2O), 2,4 kg nitrogént (N) és 0,9 kg foszfort (P_2O_5) von ki a talajból (Terbe *et al.*, 2005).

4.1.3. Tápanyag tartalom

Európa déli országaiban 120-140 kg/fő/év, a középső régióban, melyhez Magyarország is tartozik 80-90 kg/fő/év a zöldségfogyasztás átlagosan, míg az északi részekén mindössze 50-60 kg/fő/év. A fogyasztás nagyban függ a zöldségek tápanyag forrásaitól is. Nem véletlen, hogy

hazánkban a paprika ilyen nagy jelentőséggel bír (kb. 10kg/fő/év), hiszen biológiai és táplálkozási értékeit tekintve legértékesebb növényeink közé tartozik. Talán C-vitamint tartalma a legjelentősebb, ami ugyan függ mind a termőhelytől, mind a fajtától, de olyan 50-300mg/100g körül ingadozik. Ez az érték elég magas, hiszen a zöldségfélék átlagosan 15-100 mg-ot tartalmaznak 100g-onként, és kiemelkedően magasnak számít az érték 80-90mg/100g felett. Természetesen nem csak a C-vitamin, hanem a B1-, B2-, és B6-vitamin tartalma is említésre méltó, valamint az kriptoxantin és α -, β -karotinok miatt az A-vitamin hatású anyagai is kiemelkedőek. Antioxidáns aktivitását tekintve jelentős forrás lehet a táplálkozásunk során a friss piaci zöldség- és gyümölcsforrások közül (Guil-Guerro *et al.*, 2006). Érdekes fejlemény a kutatásokban, hogy az antioxidáns kapacitását valamint L-aszkorbinsav tartalmát nem veszíti el oly nagymértékben a főzés közben, mint ahogy azt korábban feltételezték, illetve az elvesztett mennyiség rövid ideig még megtalálható a főzővízben, így a feldolgozott és főzött paprika tartalmú ételek rövid főzési idővel még szintén jelentős antioxidáns és C-vitamin forrást jelentenek (Chuah *et al.*, 2008). Az L-aszkorbinsav pedig az egyéb antioxidáns tulajdonságú vegyületek és vitaminok mellett az emberi táplálkozással a szervezetbe kerülve elengedhetetlenül fontos komponense a szabad gyökök elleni küzdelemnek, a rákos megbetegedések megelőzésének (Davey *et al.*, 2000).

4.1.4. A paprika termesztése

A világon kereskedelmi célokra 1,3-1,5 millió hektáron termesztenek paprikát. Az 1990-es évek végén a világ termelése meghaladta a 16 millió tonnát, azonban ennek csak hatod része termett Európában, azaz 2,63 millió tonna. Hazánk benne van a tíz legnagyobb paprikatermelő országban. Szabadföldön és hajtásban összesen 230-250 ezer tonna közötti a megtermelt mennyiség, melynek körülbelül 70%-a tartósításra, 30%-a kivitelre és 50%-a belföldi friss fogyasztásra kerül.

4.2. Vizsgált növényanyag jellemzése

A vizsgálataimhoz használt paprikákat (*Capsicum annuum* L.) minden alkalommal Prof. Terbe István bocsátotta rendelkezésemre. Termesztésük a Zöldség és Gombatermesztési Tanszék üvegházában, a BCE soroksári Kísérleti Üzem és Tangazdaság-ban történt. A mérésekhez felhasznált paprika fajtáim: 'Hó', 'Titán' és később 'Kárpia' voltak. A paprikákat hidropóniás módszerrel termesztették, hajtattott körülmények között Grodan közetgyapoton, a gyártó által ajánlott tápanyag utánpótlással.

4.2.1. A kiválasztott paprikafajták jellemzése

Kárpia: Édes, zöldből pirosba érő, folytonnövő paprika. Középerős növekedésű, kiváló stressztűrő képességű, erős ágrendszerű. Nagyméretű, lapított és vastag húsú bogyói vannak. Intenzív érésdinamikája, rövid szedési fordulókat tesz lehetővé. Közepes koraiságú, 12-15 cm

hosszú, 5 mm húsvastagságú, 4-6 cm vállátmérőjű, 65-85g bogyó átlagtömegű paprika fajta (Seminis, 2004).

Titán: Erősen csípős, világoszöld, hegyes paprika. Gyenge ágrendszerű, középerős növekedésű hibrid. Felkötözése szükséges. Fényes héjú, extraméretű, vállas, arányosan hegyesedő paprika. Korai, 12-16 cm hosszú, 2 mm-es húsvastagságú, 4-5 cm vállátmérőjű, 50-70 g bogyó átlagtömegű paprikafajta.

Hó: Fehér, tölteni való, nagy bogyójú édes paprika. Középerős növekedésű és folyton növő. Táptalajos termesztésre kifejezetten alkalmas. Korai, 13-15 cm hosszú, 4 mm-es húsvastagságú, 6-8 cm vállátmérőjű, 90-120 g bogyó átlagtömegű paprika fajta.

4.2.2. Mérésekhez felhasznált állomány jellemzése

Az első méréseim során 'Hó' és 'Titán' fajtát használtam, melyeket három különböző érettségi fázisban szedtünk, ezek a félméretű, éretlen és érett állapotok voltak. Ezt az állományt 2010. április elején ültették ki. Minden növényt visszametszettek két fő szárra majd felvezették őket. A fő és oldalhajtásokon egyaránt két-két termésre metszették vissza. Az egész állomány biológiai növényvédelem alatt állt, a terméseket 10 naponta szedtük és a letermett ágakat visszametszették.

Két alkalommal végeztem méréseket ezen a két fajta paprikán. Az első szedés 2010. augusztusában, a második pedig októberében történt. Első alkalommal 26 darab 'Titán'-t vizsgáltam, melyeket két csoportra bontottam a kloroformozott (12 darab) és a kontroll mintákra, (14 darab). A kloroformozásra a viasz leoldása miatt volt szükségem. A kloroformozott 12 paprikát három érettségi fázis szerint osztottam fel, a félméretű (4 darab), éretlen (4 darab) és érett (4 darab) paprikára. A kloroformmal nem kezelt paprikáknál ugyanígy jártam el, félméretű (6 darab), éretlen (4 darab) és érett (4 darab) csoportot alkottam. A 'Hó' fajtákat ugyanilyen szisztéma szerint 12 darab kloroformozottra és 12 darab kontrollra osztottam fel, melyben a három érettségi fázis szerint 4-4-4 darab paprika volt. A kísérletet egyszer ismételtam melyben 45 'Titán'-nal és ugyan ennyi 'Hó'-val dolgoztam. Mindkét esetben 21 kloroformozott és 21 kontroll mintám volt, melyekben egyenlő mennyiségű paprika volt érettségi fázisonként. Ezeket 7-es csoportokba osztottam (**I. táblázat**).

Fajta			'Hó'	'Titán'
1. mérés (db)	Kloroformozott	Félméretű	4	4
		Éretlen	4	4
		Érett	4	4
1. mérés (db)	Kontroll	Félméretű	4	6
		Éretlen	4	4
		Érett	4	4
2. mérés (db)	Kloroformozott	Félméretű	7	7
		Éretlen	7	7
		Érett	7	7
2. mérés (db)	Kontroll	Félméretű	8	8
		Éretlen	8	8
		Érett	8	8

I. táblázat: Az első mérés paprikáinak csoportosítása

A második mérésem során 'Hó' és 'Kárpia' fajtát használtam két szedésben. Az első szedés 2011. júliusában, a második pedig augusztusban történt. Az állományt hasonló módon nevelték és kezelték, mint az első mérésemhez felhasznált paprikákat.

Első mérésem során 19 darab 'Hó' és 20 darab 'Kárpia' paprikafajtám volt, melyeknek a vízvesztését vizsgáltam napról napra. Ennél a kísérletsorozatnál, már nem különítettem el őket különböző érettségi fázisok szerint és nem voltak kloroformmal kezelt paprikáim sem. A kísérletet egyszer ismételtam, amikor 15-15 darab 'Hó' és 'Kárpia' paprikával dolgoztam (**II. táblázat**).

Fajta	'Hó'	'Kárpia'
1. mérés (db)	19	20
2. mérés (db)	15	15

II. táblázat: A második mérés paprikáinak csoportosítása

4.3. Oldatok, reagensek

A fluoreszcens mikroszkópiás mérésekhez két fluoreszcens festéket használtam. Az Auramin O oldat úgy készült, hogy 0.01 w/v% oldatot készítettünk a porból és 0,05 M Tris-HCl-ből, pH=7,2. A Calcofluor White oldat esetén pedig 0,01 w/v% oldatot készítettünk a porból és MilliQ vízből. Minden egyéb itt nem jellemzett oldatot és vegyszert a Sambrook et. al. Molecular cloning – A laboratory manual (2nd edition) recepturái és ajánlásai alapján készítettünk (Sambrook et al., 1989).

4.4. A kutikula fénymikroszkópos és konfokális fluoreszcens mikroszkópos vizsgálata

4.4.1. Metszetek készítése és festése

A fénymikroszkópos mérésekhez 10 (2010), illetve 40-50 (2011) μm vastagságú metszeteket készítettünk egy Leitz Wetzlar kriosztáton. A 'Hó' és 'Titán' termékek három érettségi állapotából készültek és ezeket hematoxylinnel festettük (Reanal), hogy a pektintartalmú sejtfalakat elkülöníthetővé tegyük. A mintákat egy Olympus BX51 fénymikroszkóppal vizsgáltuk, a képeket pedig egy Olympus C-4040 ZOOM fényképezőgéppel készítettük. A 'Hó' és 'Kárpia' fajtákat érintő 2011-es vizsgálatban a metszetek a termékek három különböző részéből készültek. Ezek a kocsányhoz közeli "csúcs", a forradási ponthoz közeli "alj" és az ezek között lévő "közép" rész voltak. Ezeket a szövettájakat festés nélkül vizsgáltuk Zeiss Axio Imager A2 fénymikroszkóp alatt, a képeket az Axio Vision szoftver segítségével vizsgáltuk és állítottuk elő. A vizsgálatok során meghatároztuk az epidermális sejtsor periklinális sejtfalvastagságát, mely a kutikula vastagságához közelítő eredményt adhat, a hipodermális kollenchima sejtrétegeinek számát, az epidermisz és a kollenchimarétegek együttes vastagságát és a sejtfalak vastagságát a kollenchima sejtjein belül.

A kutikula fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatához 40-50 μm -es keresztmetszeteket készítettünk a BCE Növényteni Tanszékén egy Leitz Weitzlar kriotómon mindeket fajta termésének középső részéből. A metszést követően a metszeteket desztillált vízbe helyeztük, és a felhasználásig -20°C -on tároltuk a Thermo Scientific cég Shandon Cryomatrix nevű, gél állagú, minta előkészítő oldatában. A fluoreszcens metszeteket festésük előtt desztillált vízbe helyeztük, és legalább egy órán át rázattuk, hogy eltávolítsuk a gél maradványait. A rázás után 40%-os glutáraldehid (25%-os törzsoldatból készítve) oldatba helyeztük a mintáinkat, és egy percen keresztül fixáltuk őket. Fixálásuk után desztillált vízzel mostuk őket, majd Calcofluor White oldatában festettük egy percen át, ezt követően alapos desztillált vizes mosásuk után Auramin O oldatban festettük őket 15 percig. A festést követően alaposan átmostuk a mintákat desztillált vízzel és 60%-os glicerol oldat egy cseppjébe helyeztük egy tárgylemezre, majd fedőlemezrel lefedtük, és körömlakkal rögzítettük. A Calcofluor White oldattal láthatóvá tehetőek a sejtfalat felépítő cellulóz és a karboxilált poliszacharidok, míg az Auramin O festékekkel kivitelezhető a telítetlen, savas viaszok és a kutin prekursorainak megfestése, melyek a kutikula jelentős és fontos komponensei (Bisio *et al.*, 1999). Gerjesztés hatására előbbi vegyület ugyanis kékesfehér, utóbbi pedig zöldes színű fluoreszcenciát bocsát ki magából, mely révén megvalósítható a kutikula viaszrétegének és egyéb lipofil vegyületeknek a megjelenítése és elkülönítése a kutikula többi, akár poliszacharidokat tartalmazó komponenseitől.

4.4.2. A fluoreszcens és konfokális mikroszkópia háttere

4.4.2.1. A mikroszkóp működése

A legelterjedtebb mikroszkóp a fénymikroszkóp, mely a látható fény felhasználásával dolgozik. Az ilyen mikroszkópok alapja egy fénytörő lencse, melynek segítségével a fényt a szemünkre vagy éppen a megvilágítani kívánt mintákra tudjuk irányítani. Így a vizsgált anyagról egy nagyított képet kaphatunk. Manapság azonban már több fajtája is elterjedt a mikroszkópoknak, melyek segítségével képesek vagyunk átlépni az általánosnak mondható 1500-szoros nagyításhatárt, míg a felbontáshatárt nem tudjuk ilyen mértékben növelni (**1. ábra**). A fénymikroszkóp egyik újabb fajtája a konfokális mikroszkóp, mely a pásztázás elvén működik (Lovas, 1984).



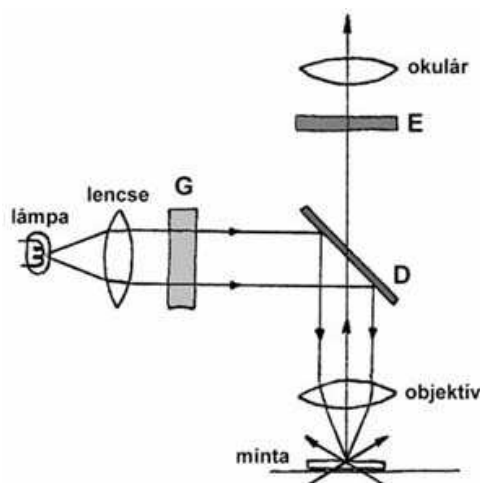
1. ábra: Fluoreszcens mikroszkóp

4.4.2.2. Fluoreszcencia

Bizonyos vegyületeket, ha kis hullámhosszú fénnel világítunk meg, egy másik alacsonyabb frekvenciájú fényt bocsátanak ki. Ez a jelenség maga a fluoreszcencia. A fluoreszcens mikroszkópozásnál a feladat egy olyan hullámhosszú fénnel való megvilágítása a mintának, ami a minta gerjesztés hullámhosszának megfelel. Ezek után detektálnunk kell a fluorofór által kibocsátott magasabb hullámhosszú fluoreszcens fényt. A mintából ilyenkor nem csak ez a fény, hanem szórt hullámhosszú gerjesztő fény is ered. Azonban ha csak ezt szeretnénk érzékelni, akkor a fluoreszcens fényt ki kell szűrni. Ehhez segítségünkre szolgálnak a szűrők és a dikroikus tükrök is. Ezek a tükrök színtonkomponensek szétválasztására alkalmasak úgy, hogy visszaverik a fény egy részét, a másik részét elnyelik, mindezt a hullámhossz tartományok alapján. Az optikai szűrők pedig a különböző színtonkomponenseket szűrik ki olyan módon, hogy csak adott hullámhossz tartományban engedik át a fényt, a többit pedig elnyelik.

Gerjesztő szűrőkkel választjuk ki a gerjesztő hullámhosszt, majd ezt a gerjesztő fényt egy dikroikus tükrök segítségével a mintánkra vetítjük. Mindeközben a tükrök átengedi a mintánkból jövő fluoreszcens fényt. A végén pedig az emissziós szűrő átengedi a vizsgálni kívánt színtartományt és kivágja a maradék fényt is. A fluoreszcens fényt a szemünkkel nem érzékeljük, ezért ezt egy detektor érzékeli, mely végigpásztázza a mintát. A teljes kép megalkotásához a pásztázás

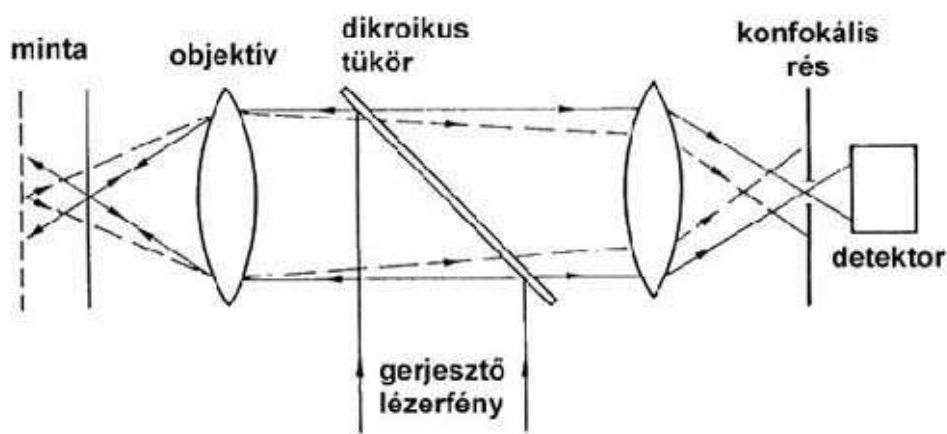
elengedhetetlen, mert a mintának egyszerre csak csak egy adott pontja van megvilágítva (2. ábra).



2. ábra: Általánosan használt fluoreszcencia detektálására alkalmas mikroszkóp elrendezési elve (Forrás: http://biofizika.aok.pte.hu/hu/muszer/konfok/konfok_elm.pdf)

4.4.2.3. A konfokális mikroszkóp működési elve

A fluoreszcensen jelölt minták vizsgálatára a konfokális mikroszkóp is alkalmas. Ennek lényege, hogy rendszeresen csak a fókusz síkból jövő fényt detektálja. Itt a mintának egyszerre csak egy pontját világítjuk meg, nem úgy, mint a hagyományos mikroszkópoknál, ahol a minta egy területét éri a fény. Az objektív a lézer fényforrás fényét egy adott pontra fókuszálja, majd a visszavert illetve a mintából eredő fluoreszcens fényt is ő gyűjti össze. A fény egy fókuszpontban összpontosul miután átjutott az optikai rendszeren, majd a detektorba jut (3. ábra).



3. ábra: Konfokális mikroszkóp elrendezési elve (Forrás: http://biofizika.aok.pte.hu/hu/muszer/konfok/konfok_elm.pdf)

A konfokális elrendezés önmagában nem ad képet, mivel a mintánknak csak egy adott pontját világítja meg. Így végig kell nézni a vizsgált terület minden pontját ahhoz, hogy képet kapjunk. Ezt ma egy pásztázó nyalábbal oldják meg. Gyenge fluoreszcens fény esetén jobb, ha a nyaláb több időt tölt egy pont pásztázásával, így jobb minőségű képet alkotva. A fény intenzitását minden pontban megméri a detektor és a számítógép összerakja a képet. Az így kapott kép egy hagyományos mikroszkóphoz képest jobb felbontású, kontrasztosabb képet ad és kevésbé elmosódott, illetve a vastagabb minták háromdimenziós struktúrái is feltérképezhetőbbek. Amennyiben egy kicsi átmérőjű rést helyezünk el, úgy, hogy a nyílása a fókuszpontunkra essen, úgy a minta fókuszsíkjából jövő fény képes áthaladni ezen és elérni a detektort. Így a fókuszsíkon kívülről érkező fényt kizárja a rés, tehát a mintának egy igen vékony szeletéről alkot csak képet. Ezt az eljárást nevezzük „optikai szeletelésnek”. Ezzel az eljárással akár $1\text{ }\mu\text{m}$ -nél vékonyabb szeletről is képet lehet alkotni egy vastagabb minta esetében, valamint gyorsabban, tökéletesen egymásra illeszkedő képeket kaphatunk, akár élő minták tanulmányozása esetén is.

Fontos azonban megemlíteni, hogy amennyiben a minta különböző jelölőket tartalmaz és egymástól függetlenül, külön-külön szeretnénk ezeknek a fluoreszcenciáját egy időben detektálni, akkor bonyolultabb elrendezés használata indokolt. Ezért a legtöbb konfokális mikroszkóp rendszer több detektort és dikroikus tükröt tartalmaz, így a különböző színű fluoreszcens fényeket ezek tudják irányítani és szétválasztani. A szűrőket és tükröket a fluorofórok spektruma vagy emissziós maximuma alapján kell megválasztanunk. Ezek a festékre jellemző mutatók, melyek alapján megállapíthatjuk, hogy a festék milyen hullámhosszon gerjeszthető vagy detektálható. Nem elhanyagolható a rendszer egyik legfontosabb eleme sem, a számítógép által vezérelt fókuszmotor sem. Ez a szeletelés során pontosan eltárolja a fókuszsíkot, az általunk meghatározott keretek között, miközben a koordinátákat rögzíti a számítógép.

A konfokális mikroszkóp tehát nem analóg, hanem digitális képet ad, melyeket különböző képkezelési eljárásokkal át tudunk alakítani a számunkra legmegfelelőbbé. Így például ki tudjuk szűrni a zajt, kiemelni adott részleteket vagy akár a szemünk számára észlelhetőbbé tenni a képen fellelhető különbségeket (bizonyos színskálákat másikra cserélni, így az erősebb színek segítségével könnyebben észrevehető a különbség, mint például a szürke különböző árnyalatainál). Ezenfelül fontos beállítani a megfelelő felbontást, kontrasztot és fényerősséget is. A szeletekből a gép segítségével egy háromdimenziós képet is össze tudunk rakni, mely többféleképpen is ábrázolható. Ezt nem csak a minták egymásra helyezésének módjára értjük, de a szeletek irányára is, így akár a szeletek síkjára merőleges vetületet is meg tudunk vizsgálni. Ha egymás után vetítjük le a különböző szögekből felvett vetületeit a mintánknak, akkor egy olyan képet kapunk, ami olyan hatást kelt, mintha a mintánk forogna. Ezenfelül a képpontokat össze tudjuk rakni úgy is, hogy az egyes szeletek különböző súllyal szerepeljenek a képen, így megalkottuk egy teljes minta

fluoreszcens képét, mely sokkal részletgazdagabb, mint egy hagyományos mikroszkóppal készült kép (http://biofizika.aok.pte.hu/hu/muszer/konfok/konfok_elm.pdf).

Vizsgálataink során a fluoreszcens és konfokális képalkotást a BCE Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszéken Dr. Pós Veronika segítségével valósítottuk meg egy Olympus Fluoview FV1000 konfokális pásztázó lézer mikroszkóp (Olympus) használatával. Vizsgálataink során az FV10-ASW 2.1 szoftvert, a metszetek vizsgálatához 10x-es és 20x-os objektíveket, és 1-5x zoomot alkalmaztunk. A Calcofluor White-ot 405 nm-en gerjesztettük, az emisszióját 415 és 448 nm között gyűjtöttük, míg az Auramin O festéket 458 nm-en gerjesztettük, emisszióját 491 és 563 nm között gyűjtöttük be.

4.5. Vízesztések mérése

A paprikákat, későbbi azonosíthatóságuk érdekében egyenként felcímkéztem, vízvesztésüket pedig egy SARTORIUS MC1 Analytic AC 210 P mérleg segítségével mértem meg. A paprikák 60%-os relatív páratartalmú és 20 °C-os hőmérsékletű helységben tároltuk. Első vizsgálatomban 10-10, második vizsgálatomban 11-13 napon keresztül darabonként mértem a paprikákat és feljegyeztem a tömegüket. Az egyes napokon mért tömegek csökkenését az elpárologtatott víznek tulajdonítottam. A paprika termésén ugyanis nincsenek gázcsere nyílások, párologtatás így kizárólag a kutikulán keresztül történhet. Az alábbi kísérleti összeállításokat alkalmaztam (**III. táblázat**).

	2010/1 'Titán'	2010/1 'Hó'	2010/2 'Titán'	2010/2 'Hó'	2011/1 'Kárpia'	2011/1 'Hó'	2011/2 'Kárpia'	2011/2 'Hó'
Darabszám	26	24	45	45	20	19	15	15

III. táblázat: Kísérleti összeállítás (darabszámok)

A napi vízvesztéseket a paprikák egységnyi felszínére vonatkoztatva is meghatároztuk. Így kiküszöbölhető volt például annak a hatása, hogy egy nagyméretű teljesen érett paprika párologtatását hasonlítottuk össze egy éretlenebb, kisebb bogyóéval. Ennek érdekében a vizsgálat kezdetén meghatároztuk a paprikák felszínét azok szélességének és hosszának meghatározásával. A paprikák termését kúpnak tekintettük, így felszínüket ennek megfelelően az $A = \pi r^2 + \pi r \sqrt{r^2 + h^2}$ képlettel számoltuk. Majd kiszámoltam az első napihoz viszonyított aznapi százalékos tömegvesztést, utána a napok közti különbséget, azaz a WLR-t. Ezeket átlagolva is megnéztem az összes paprikánál minden napra, így kaptam egy WLR átlagot, majd ezeket összegezve megkaptam a fajtankénti WLR értékét. Ezen kívül kiszámoltam még a felületegységre vonatkoztatott vízvesztést is, ahol a különböző fajták napi vízvesztését (g vagy %) átlagoltam és a kapott eredményt osztottam az átlagfelszínnel, így megkaptam a felületegységre vonatkoztatott vízvesztést (g/cm² vagy %/cm²-ban, a kiindulási mértékegységtől függően).

4.6. Viasz leoldások

A kutikuláris viaszok vizsgálata a kutikula izolálása vagy a viaszok közvetlen kinyerése útján valósítható meg. A 'Hó' és 'Titán' paprikák esetén viaszleoldást alkalmaztam, melynek lényege a paprika felületén lévő összes viasz eltávolítása volt szerves oldószerbe, kloroformba áztatással. Célom ezzel a módszerrel kettős volt. E két paprikafajta esetén két csoportot állítottam be, melyek a kutikuláris viaszok jelenlétében különböztek csak egymástól. A másik célom a leoldott kutikuláris viaszok mennyiségi meghatározása volt, az oldószer elpárologtatásán keresztül. A viaszok leoldása során ügyelnem kellett, hogy a kocsány alapi része ne érjen bele a vegyszerbe, hiszen azon a részen nincs szükség ilyen eljárásra. Az áztatás végeztével vazelinnel bekentem a kocsányt és annak alapi részét, hogy a paprika ott ne veszítsen jobban vizet, így valós eredményt kaptam a viaszleoldott termés területének vízvesztéséről. A leoldást úgy végeztem, hogy egy percre kloroformba merítettem a bogyókat, óvatosan kiemelve és újra lemerítve. Az adott csoport összes paprikáját 300 ml kloroformba oldottam, majd ennek végeztével 5 g vízmentes NaSO_4 -et kevertem hozzá, hogy az esetlegesen oldathoz került víz eltávolítható legyen annak felszínéről. A szerves törmeléket és a szennyeződések Albet 400 szűrőpapíron való átszűrésével oldottam meg. A leoldott viaszok és az oldószer bepárlása a BCE Alkalmazott Kémia Tanszéken egy RotaVapor készülékkel, vákuum körülmények között, 40°C -on, Gyepes Attila segítségével történt. A bepárolt viaszokat mérésük után -20°C -on tároltuk esetleges későbbi felhasználásukig.

4.7. Alkalmazott statisztikai módszerek

4.7.1. Varianciaanalízis (ANOVA)

Vizsgálataim eredményeinek ellenőrzésére varianciaanalízist használtam (ANOVA) és az PASW 18.0 program segítségével dolgoztam.

Egyrészt egytényezős varianciaanalízist (One-Way ANOVA) használtam, amit akkor alkalmazunk ha csak egyetlen szempont szerint szeretnénk összehasonlítani az adatainkat és a kísérleti területünk más szempontokból homogénnek tekinthető. Mivel szabályosság nem volt észlelhető a mintavétel során így véletlen elrendezésű analízist választottam. A vizsgálat során arra kerestem választ, hogy k darab független (nem feltétlenül azonos elemszámú) véletlen minta alapján elfogadható-e az a feltételezésem, hogy k darab minta k darab azonos alapsokaságból származik. Tehát arra kerestem a választ, hogy a minták elemzése után meg tudom-e erősíteni azon feltételezésemet, miszerint a változás nem a véletlen műve. Ez nem más, mint az ellenhipotézis. A nullhipotézisünk szerint pedig a kezelt mintáim között nincs szignifikáns különbség, tehát a véletlen műve az eredmény. Kísérletünk értékeinek számított mutatói egyszerűen feltüntethetőek az egytényezős varianciaanalízis ANOVA táblájában (Harnos-Ladányi, 2005) **(IV. táblázat)**.

Tényező	Eltérés négyzetösszege	Szabadsági fok	Szórásnégyzet
Csoportok között	SS_K	$k - 1$	$MS_K = SS_K / (k - 1)$
Csoporton belül	SS_H	$N - k$	$MS_H = SS_H / (k - 1) (l-1)$
Teljes	SS_T	$N - 1$	

IV. táblázat. Az egytényezős varianciaanalízis ANOVA-táblája (Hamos-Ladányi, 2005)

Másik vizsgálati módszerem a kétszempontú ismétléses varianciaanalízis volt (Two-Way ANOVA). Itt két tényező hatását vizsgáltam a mintámra. Ezenfelül az ismétlések számának növelésével pontosabb és megbízhatóbb következtetéseket tudtam levonni. Az analízisem során arra kerestem a választ, hogy a k , illetve l darab független, véletlen, tetszőleges elemszámú mintám alapján elfogadhatom-e, hogy ezek azonos várható értékű alapsokaságból származnak. A nullhipotéziseket külön mondom ki a lineáris modell jelöléseivel a két kezelésre, ennek alapja, hogy nincs lényeges különbség a kezelésszintek hatásai között. Az ellenhipotézisem szintén a nullhipotézishez hasonlóan, mindkét kezelésre és az interakcióra külön mondja ki, hogy A és/vagy B faktorok legalább egyik kezelésszintje szignifikánsan eltérő hatást mutat a többitől és ez már nem tekinthető a véletlen művének. Kísérletünk értékeinek számított mutatói egyszerűen feltüntethetőek az egytényezős varianciaanalízis ANOVA táblájában (Harnos-Ladányi, 2005) (V. táblázat).

Tényező	Eltérés négyzetösszege	Szabadsági fok	Szórásnégyzet
A kezelés	SS_A	$k - 1$	$MS_A = SS_A / (k - 1)$
B kezelés	SS_B	$l - 1$	$MS_B = SS_B / (l - 1)$
Hiba	SS_H	$(k - 1) * (l - 1)$	$MS_H = SS_H / (K - 1) (l - 1)$
Teljes	SS_T	$N - 1 = kl - 1$	

V. táblázat. A kéttényezős varianciaanalízis ANOVA- táblája (Harnos-Ladányi, 2005)

Mivel az ANOVA feltétele a szfericitásra sérült a WLR vizsgálatainál és egyes felületegyésgre vonatkoztatott méréseknél, ezért az adatsorok korrekciójára volt szükség. Ehhez Greenhouse-Geisser korrekciót alkalmaztunk (Geisser és Greenhouse, 1958). A 2011-es második méréseknél, ezért Box-Cox transzformációt alkalmaztunk a probléma kiküszöbölésére. Az így kapott transzformált adatsor már mindenben kielégítette a paraméteres módszer feltételeit.

A szórások homogenizálására, illetve az eloszlások ferdeségének vagy csúcosságának mérséklésére alkalmazható ún. Box-Cox transzformáció (Box és Cox, 1964) lényege, hogy egy alkalmas λ paramétert keresünk, amelyre az alábbi transzformációt végezzük el az x -szel jelölt adatainkra:

$$x_i(\lambda) \mapsto \begin{cases} \frac{x_i^\lambda - 1}{\lambda}, & \text{ha } \lambda \neq 0 \\ \ln x & , \text{ha } \lambda = 0 \end{cases}$$

Kiszámítjuk az így kapott transzformált adataink átlagát, ezt $\bar{x}$ -szel jelöljük. Ahhoz, hogy a legjobb λ paramétert meghatározhassuk, az alábbi függvény λ -tól függő maximumát keressük:

$$f(x, \lambda) = -\frac{n}{2} \ln \left[\sum_{i=1}^n \frac{(x_i(\lambda) - \bar{x}(\lambda))^2}{n} \right] + (\lambda - 1) \sum_{i=1}^n \ln(x_i(\lambda)),$$

ahol n az adatsor elemszámát (hosszát) jelöli.

Amely λ -ra a függvény maximális, arra a λ -ra vonatkozó transzformációval tudjuk a normális eloszlásúhoz leginkább hasonlító transzformált adatsort előállítani.

Megjegyezzük, hogy a gyöktranszformáció éppen a $\lambda = 0,5$ paraméterű, a természetes alapú logaritmus (ln-) transzformáció pedig a $\lambda = 0$ paraméterű Box-Cox transzformációnak felel meg (Ladányi Márta, személyes közlés).

Egyes vizsgálati csoportoknál az adataim kiugró szórásértékei miatt homogenizálást kellett végrehajtanom, így logaritmizáltam kapott értékeket. Ennek lényege, hogy így a mért adataim e-ad alapúak lesznek és ezekkel tovább tudok dolgozni úgy, hogy nem változnak meg a végeredményeim. Ennek oka, hogy a log függvény monoton, tehát a nagyobb értékeket még nagyobbá, a kisebb értékeket pedig még kisebbé transzformálja át. Így számottevő különbséget csak akkor észlelhetünk a végeredmények log (tényező) adatai között, ha a tényező adatok között is voltak.

A kiértékelés során figyelembe kellett vennem, hogy a mintáim normális eloszlást követnek-e, ezt az analízis során Kolmogorov-Smirnov (K-S test) ellenőriztem.

A mikroszkópos eredmények kiértékelését kétmintás t-próbával végeztük el a PAST program segítségével (Hammer *et al.*, 2001).

5. EREDMÉNYEK

Eredményeimet a továbbiakban tematikusan, éves vizsgálatok formájában mutatom be, ezen belül is tovább tagolva vizsgálati módszerre, és egy-egy további alcsoportra. A kéttényezős ANOVA-t igénylő méréseimnél (WLR eredményei, 2010-es felületegységre vonatkoztatott vízvesztés) a szfericitást, vagyis a különbségváltozók szóráshomogenitása korrigálni kellett, ugyanis az adatsoraim jellege miatt ez a feltétel folyamatosan sérült. A korrigálást Greenhouse-Geisser korrekcióval végeztem, egy esetet kivéve, melyre külön ki fogok térni. Ahol a korrekció nem vezetett eredményre, az adatsor csúcsosságának és ferdeségének vizsgálatát végeztem el, erre ugyanis az ANOVA robosztus módszer lévén sokkal érzékenyebb, mint a többi feltételre. Ez utóbbi minden elvégzett esetben (a már egy említett kivételtől eltekintve) teljesült. Az egytényezős ANOVA-k során néhol logaritmizálást alkalmaztam az adatsorok kiugrásainak normalizására, majd az így kapott adatsorokon végeztem el a varianciaanalízist, melynek feltételei minden esetben teljesültek. A 2011-es eredményeim során páros t-próbát végeztem a felületegységre vonatkoztatott vízvesztés eredményeinek ellenőrzésére, melynek előfeltétele, az eloszlás normalitása mindenhol teljesült.

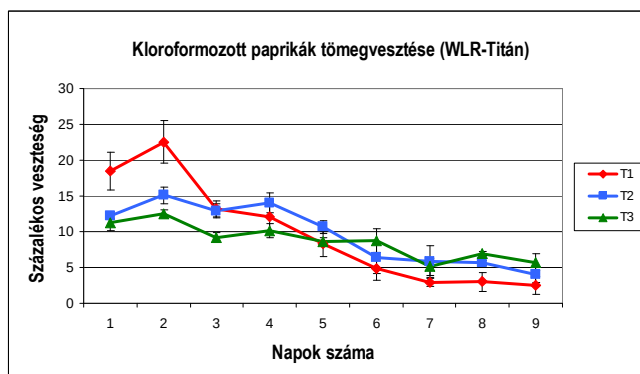
5.1. 'Hó' és 'Titán' fajtákkal végzett vizsgálatok eredményei

2010-ben mindkét fajta esetében két ismételtsben végeztem kísérleteim. Vízvesztéssel összefüggő vizsgálataim mellett a BCE Növényteni Tanszékén morfológiai, az Alkalmazott Kémia Tanszéken pedig gázkromatográfiás vizsgálatok folytak, melyek eredményeit a Tudományos előzmények fejezetben előzetesen ismertettem. Méréseim során a posztharvest vízvesztést reprezentáló mutatót, a WLR-t, a napi vízvesztésegekből számított összes WLR-t és a felszínre vonatkoztatott tömegvesztés értékeit határoztam meg. Ezeket a későbbiekben fajtákra és kezelési szintekre lebontva külön ábrákon mutatom be.

5.1.1. A vízvesztés vizsgálatainak első mérése

5.1.1.1. WLR mérések

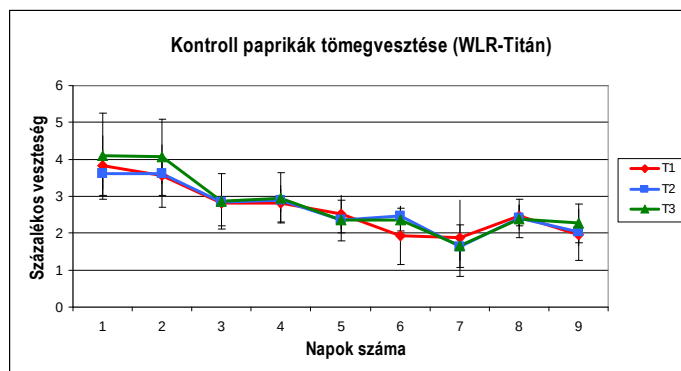
A 'Titán' paprikák WLR számításának eredménye a 4. ábrán látható, mely a félméretű (T1), éretlen (T2) és érett (T3) paprikák közti tömegvesztésre vonatkoztatott különbséget szemlélteti az egyes mérési napokon (**4.ábra**).



4. ábra: Kloroformozott 'Titán' paprikák vízvesztése (WLR) (T1: féléretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

A WLR-t ábrázoló minden további grafikonon a vízszintes tengelyen a napok múlása, míg a függőlegesen a százalékos kifejezett tömegvesztés látható. Mindhárom érettségi paprika drasztikusan veszített a tömegéből (naponta 10-20%-os veszteségek az első néhány napban), azonban a féléretű paprika esetében még a másik kettővel való összehasonításban is még szembetűnőbb a nagymértékű csökkenés.

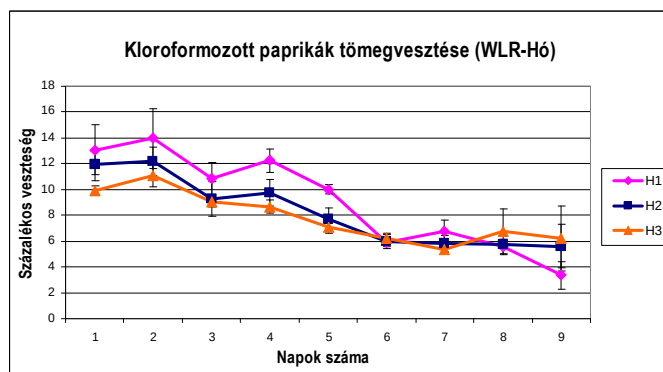
Azonban ha ugyanezt megnézzük a kontroll 'Titán' paprikáknál (**5. ábra**), akkor merőben mást tapasztalunk.



5. ábra: Kontroll 'Titán' paprikák vízvesztése (WLR) (T1: féléretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

A három érettségi állapotot reprezentáló vonal a kísérlet során együtt halad, az előzőhöz képest kisebb csökkenést produkálnak a termések, egymáshoz képest kisebb-nagyobb eltéréssel.

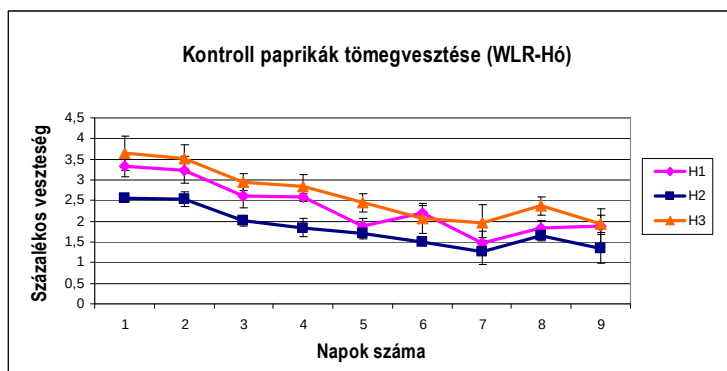
Ugyanilyen szempontok szerint készült a grafikon a 'Hó' paprikákról is. Először a kloroformmal kezeltet vizsgáltam (**6. ábra**), melyen szemmel látható, hogy a féléretű (H1) paprikák többet veszítettek tömegükből, mint az éretlen (H2) vagy az érett (H3) állapotú paprikák.



6. ábra: Kloroformozott 'Hó' paprikák vízvesztése (WLR) (H1: felméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

A másik két érettségi fázisban lévő paprika tömegvesztése ezzel szemben a kísérlet lefolyása során közel azonos.

A kontroll 'Hó' fajták eredményeiből elkészített grafikonon (7. ábra) látható a különbség az érettségi fázisok között.

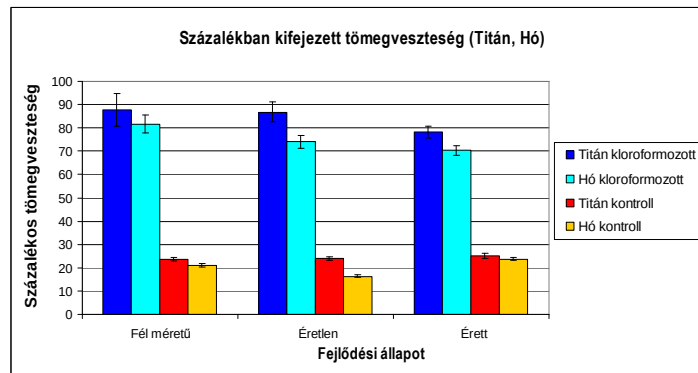


7. ábra: Kontroll 'Hó' paprikák vízvesztése (WLR) (H1: felméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

Látható, hogy a három érettségi állapot között jelentős különbség nincs, a kezelt csoporthoz képest kisebb a vízvesztés mértéke.

Ismétléses varianciaanalízissel megerősítettük, hogy a fajta, az érettség és a kezelés is külön-külön szignifikáns hatással van a tömegvesztésre. Ezenfelül a fajta- érettség, a fajta- kezelés, valamint az érettség- kezelés, kettős hatásként, míg a fajta-érettség-kezelés együttes hatásként is befolyásolták a tömegvesztést. A varianciaanalízis feltételei vizsgálataink során teljesültek.

A 8. ábrán a 'Titán' és 'Hó' paprikák együttes összes tömegvesztését (összes WLR) ábrázoltam (8. ábra).



8. ábra: Százalékban kifejezett tömegvesztés 'Hó' és 'Titán'

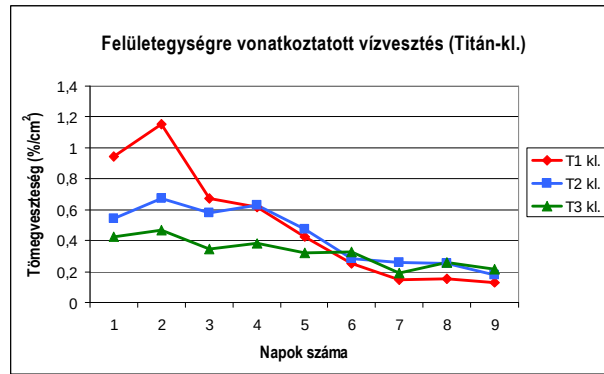
Ezzel az ábrázolásmóddal lehetővé válik a paprikák vizsgálat alatti összes elpárologtatott vízmennyiségének ábrázolása, napi hatások figyelembe vétele nélkül. Jelentős különbséget tapasztalhatunk a kloroformozott és kontroll paprikák tömegvesztése között mind a két fajta esetében. Azonban azt is láthatjuk, hogy a 'Titán' mindkét esetben kismértékben ugyan, de többet veszített tömegéből, mint a 'Hó' fajtájú paprika.

Az összegzett WLR számítások során az egytényezős varianciaanalízist úgy állítottuk össze, hogy a kontroll és kezelt csoportok között előzetes feltételként különbséget tettünk, hiszen ezek eredménye olyan nagymértékben tér el egymástól, hogy egyértelmű különbség állapítható meg. A varianciaanalízis során megerősítést nyert, hogy kezelt minták esetén a fajta és az érettség is hatással van a bogyók vízvesztésére, valamint jól elkülöníthető a félméretű és éretlen paprikák csoportja és az érett paprikák közti különbség. A kontroll paprikáknál mindezekkel szemben azt találtuk, hogy csak a fajta hatása volt bizonyítható a vízvesztésre. A vizsgálatok során az egytényezős ANOVA feltételei teljesültek.

5.1.1.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés

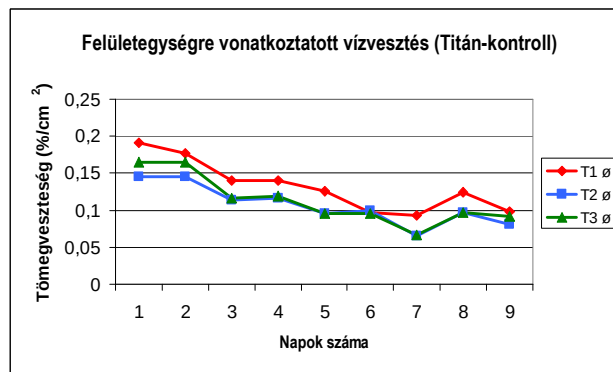
A paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztésének vizsgálata során a cm^2 -re lebontott százalékos vízvesztését vizsgáltam. Ezzel kiküszöbölhető annak a faktornak az esetleges hatása, hogy egy nagyobb méretű paprika eleve nagyobb felületen keresztül több vizet párologtathat el, míg egy kisebb méretű paprika nem rendelkezve ekkora felszínnel más mennyiségű vizet párologtat el, igaz kisebb felszínen.

A kloroformozott 'Titán' paprikák ábrázolásából jól látható, hogy a félméretű (T1) paprikák veszítették a legtöbb vizet, míg a másik két csoport között kisebb különbség volt csak tapasztalható, azonban mégis az éretlen (T2) kismértékben többet veszített súlyából, mint az érett (T3) paprika (9. ábra).



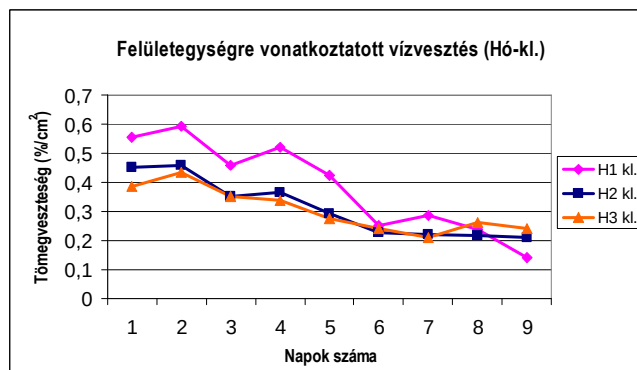
9. ábra: Kloroformozott 'Titán' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (T1: félméretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

A kontroll paprikák esetében a különbségek nem voltak olyan számottevőek, mint a kloroformozott a paprikáknál, de itt is jól látható, hogy a félméretű (T1) többet veszített, mint az éretlen (T2) vagy az érett (T3) paprika. Ezen kívül az érett és éretlen közti különbség sokkal kisebb, mint kloroformozottak esetében (10. ábra).



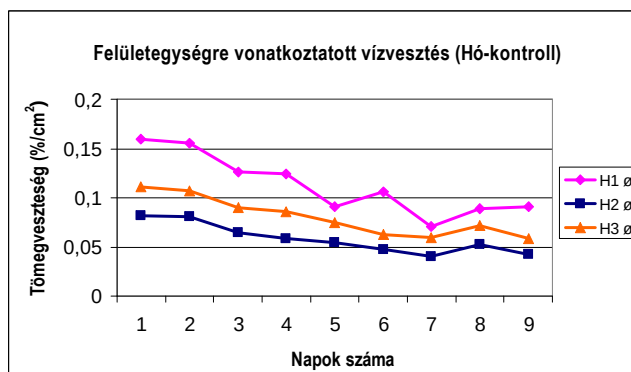
10. ábra: Kontroll 'Titán' paprika felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (T1: félméretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

A kloroformozott 'Hó' paprikáknál a félméretű (H1) több vizet veszített felületegységére vonatkoztatva, mint az éretlen (H2), illetve érett (H3), amik szinte együttes csökkenést mutattak a vizsgálatok során. Köztük csak igen kis mértékű különbség észlelhető (11. ábra).



11. ábra: A kloroformozott 'Hó' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (H1: félméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

A kontroll paprikák esetében szintén a félméretű (H1) vesztette a legtöbb vizet, azonban a másik két érettségi fázisban lévő paprika is jól elkülöníthető egymástól, annak ellenére, hogy vízvesztésük mértéke igen közel áll egymáshoz (12. ábra).



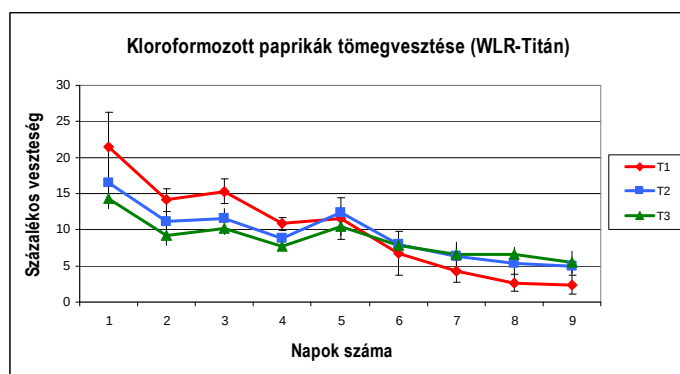
12. ábra: A kontroll 'Hó' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (H1: félméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

Varianciaanalízissel megerősítést nyert, hogy az érettség, a fajta és a kezelés szintjén különbséget tudtunk tenni eredményeink között, ezek mind befolyásoló faktorai a paprikák felületegységen keresztül történő vízvesztésének. És míg ezek között együttes hatást is felfedeztünk, háromszoros hatást már nem lehetett bizonyítani. Az érettségi állapotok tekintetében további eredmény, hogy a félméretű paprikák csoportja az éretlen és érett paprikák csoportjától a vízvesztés mennyiségének mértékében elkülöníthető volt.

5.1.2. A vízvesztés vizsgálatainak második mérése

5.1.2.1. WLR mérések

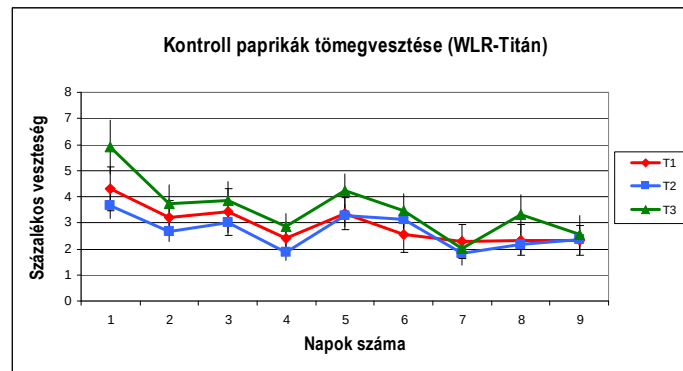
A 13. ábrán a WLR számítás eredménye látható a kloroformmal kezelt 'Titán' paprikáknál, mely a félméretű (T1), éretlen (T2) és érett (T3) paprikák közti tömegvesztésre vonatkoztatott különbséget szemlélteti (13. ábra).



13. ábra: Kloroformozott 'Titán' paprikák vízvesztése (WLR) (T1: félérett, T2: éretlen, T3: érett paprika)

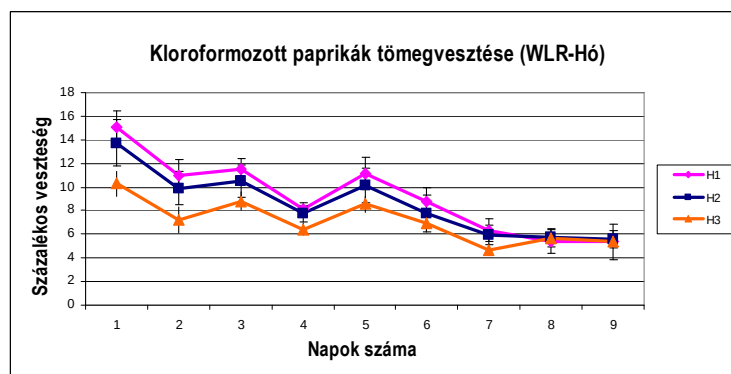
A vízszintes tengelyen a napok múlását, míg a függőlegesen a százalékban kifejezett tömegvesztést látjuk. E grafikon szerint a félméretű (T1) paprikák vesztették a legtöbbet tömegükből a napok során, míg a másik két csoport között nagymértékű különbség nem észlelhető. Az éretlen (T2) paprikák azonban kismértékben ugyan, de többet vesztettek tömegükből az érettekhez (T3) képest.

A kontroll paprikák érettségi fázisai közötti tömegvesztésbeli változások ugyanúgy elkülöníthetőek, mint az első mérés során (**14. ábra**), a három érettségi állapot kismértékű csökkenést mutat, melyek közül talán kiemelhető a legfejlettebb érett állapotú bogyók vízvesztése.

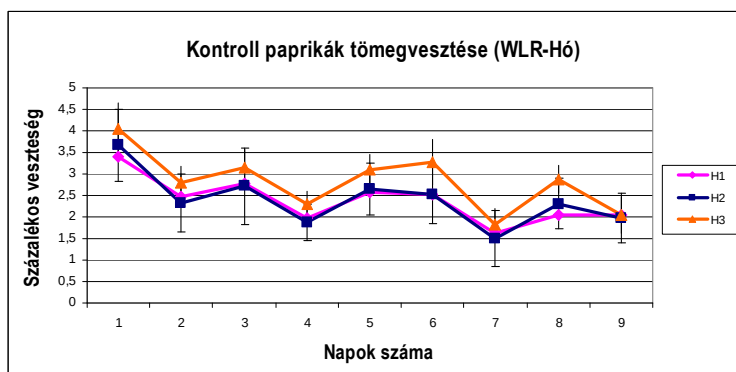


14. ábra: Kontroll 'Titán' paprikák vízvesztése (WLR) (T1: félérett, T2: éretlen, T3: érett paprika)

A 'Hó' fajták esetében kisebb eltérést tapasztalhatunk mind a kloroformozott, mind pedig a kontroll paprikák esetében a tömegvesztések között, mint a 'Titán'-nál. Azonban a különböző érettségi fázisok közötti különbségek jól láthatóak (**15. ábra és 16. ábra**).



15. ábra: Kloroformozott 'Hó' paprikák vízvesztése (WLR) (H1: félérett, H2: éretlen, H3: érett paprika)

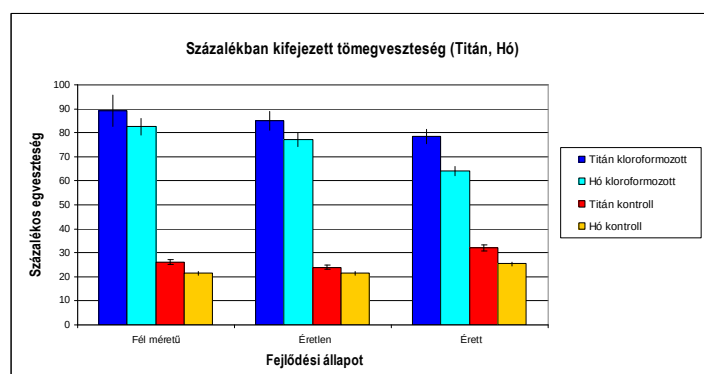


16. ábra: Kontroll 'Hó' paprikák vízvesztése (WLR) (H1: félérett, H2: éretlen, H3: érett paprika)

A félméretű (H1) veszíti legtöbbet tömegéből, míg az éretlen (H2) és az érett (H3) hasonlóképp csökkenve, de kisebb mértékben veszítették a vizet a mérések során. Ebben az ismételtsben is jól látható, hogy a kloroformozott paprikák nagyobb mennyiségű vizet párologtattak.

Varianciaanalízis segítségével bizonyítást nyert, hogy kísérletünk minden faktorának (fajta, érettség, kezelésszintek) hatása van a paprikák vízvesztésére.

A 17. ábrán a 'Titán' és 'Hó' paprikák összes tömegvesztését ábrázoltam (17. ábra).



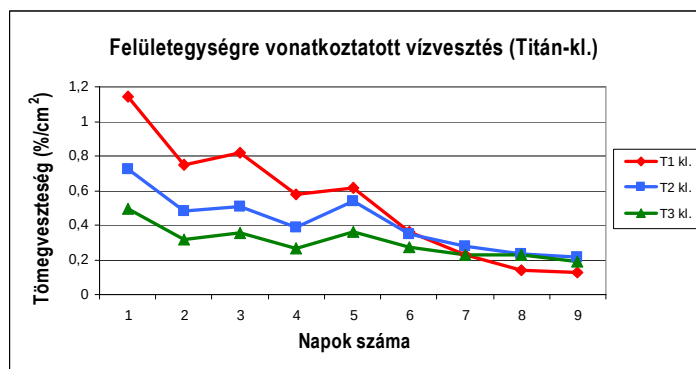
17. ábra: Százalékban kifejezett tömegvesztés 'Hó' és 'Titán'

Ebben az ismételtsben is szignifikáns különbséget tapasztalhatunk a kloroformozott és kontroll paprikák tömegvesztése között mind a két fajta esetében. Azonban azt is láthatjuk, hogy a 'Titán' és 'Hó' fajták között mindkét esetben eltérés tapasztalható.

Az összes WLR eredményei kiértékelésekképpen egytényezős varianciaanalízist végeztünk, mellyel megállapítottuk, hogy a faktorok egy kivételtől eltekintve, mind hatással vannak kloroformmal kezelt paprikák esetén a tömegvesztésre. Ez a kivétel a fajta-érettség együttes hatása, mely nem volt bizonyítható. Mindemellett a kezelt mintáinknál a három érettségi fázis elkülöníthető volt egymástól az összes elvesztett víz mennyiségének tekintetében. Ezzel szemben a kontroll paprikáknál a faktorok ugyanúgy hatással voltak az érettség és fajta együttes hatását kivéve a vízvesztésre, azonban itt a félméretű és éretlen paprikák együttes csoportként voltak elkülöníthetőek az érettektől.

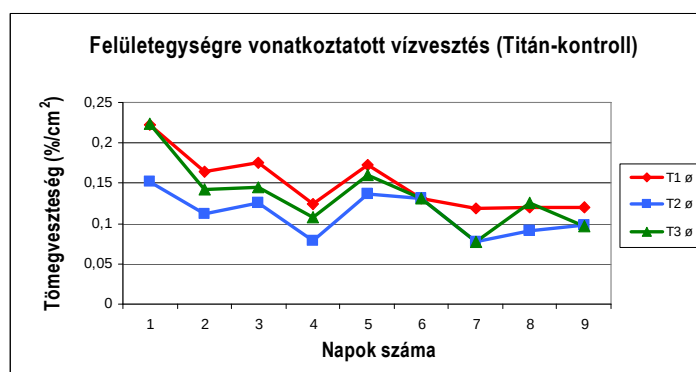
5.1.2.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés

A második ismételtsben is jól látható, hogy a félméretű (T1) paprikák veszítették a legtöbb vizet, míg a másik két csoport között, az éretlen (T2) és érett (T3) között kisebb különbség volt csak tapasztalható, azonban mégis az éretlen paprikák kismértékben, de többet veszítettek súlyukból, mint az érett paprikák (18. ábra).



18. ábra: Kloroformozott 'Titán' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (T1: félméretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

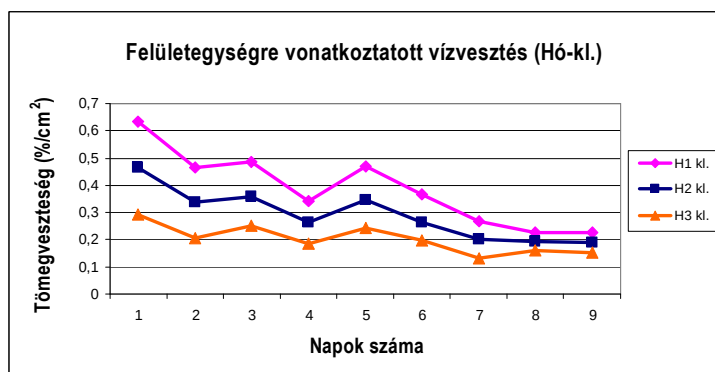
A kontroll 'Titán' paprikák között is tapasztalhatunk különbséget a különböző érettségi fázisokat figyelembe véve (19. ábra).



19. ábra: Kontroll 'Titán' paprika felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (T1: félméretű, T2: éretlen, T3: érett paprika)

Itt a félméretű (T1) és éretlen (T2) közötti különbség nem olyan jelentős, míg ettől jobban eltér az érett (T3) paprikák csoportja. Mindezek ellenére láthatjuk, hogy a félméretű a legtöbbet, majd éretlen és végül érett veszíti a legkevesebbet tömegéből a felületegységükre vonatkoztatva.

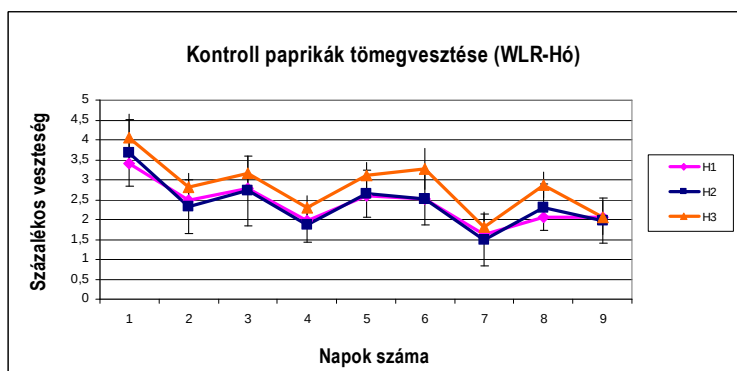
A kloroformozott 'Hó' paprikák esetében is vizsgáltam az ismételtsben a cm²-ben felületegységre vonatkoztatott százalékos vízvesztést (20. ábra).



20. ábra: A kloroformozott 'Hó' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (H1: félméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

A kloroformozott fajtaánál észrevehető, hogy az eltérés a különböző fázisok között hasonló mértékű. E mellett a félméretű (H1) veszíti a legtöbbet tömegéből, melyet az éretlen (H2) és végül az érett (H3) paprikák csoportja követ.

A kontroll paprikák esetében az érettségi fázisok közötti különbség már jóval kisebb, azonban a félméretű (H1) paprikák vízvesztése még mindig jól elkülöníthető az éretlen (H2) és érett (H3) paprikákétól (21. ábra).



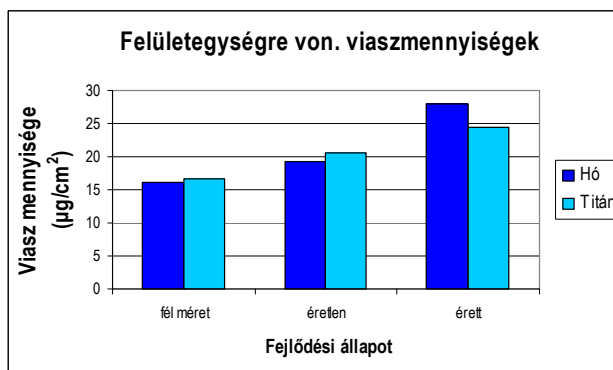
21. ábra: A kontroll 'Hó' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése (H1: félméretű, H2: éretlen, H3: érett paprika)

Az ismétléses varianciaanalízis segítségével bizonyítottuk, hogy az összes faktorunk hatással van a vízvesztésre, valamint az is kiderült, hogy a félméretű paprikák csoportja jól elkülöníthető az érett illetve éretlen paprikák csoportjától vízvesztés tekintetében.

5.1.3. 'Hó' és 'Titán' kutikuláris viaszrétegének vizsgálati eredményei

Vizsgálataink során meghatároztuk a viaszleoldott paprikáink felszíneit (21-21 darab paprika, három érettségi állapot), majd kloroformba mártogattuk, így beoldottuk a kutikuláris viaszokat, majd a BCE Alkalmazott Kémia Tanszékén Gyepes Attila segítségével bepároltuk, és meghatároztuk a viaszok nettó tömegét. Ezt aztán a csoportok felületegységére vonatkoztattuk,

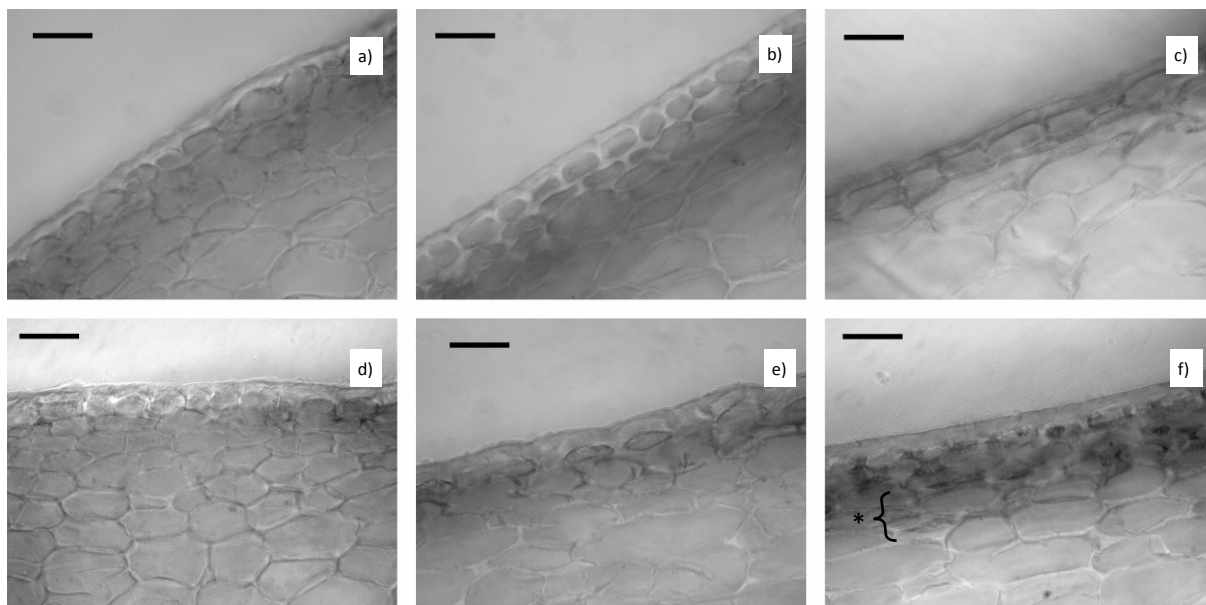
mely során a fejlődési állapotokkal folyamatosan növekvő viaszmenntiségeket azonosítottunk (22. ábra), mely nagyobb mértékű volt a 'Hó' fajta esetén.



22. ábra: Felületegységre vonatkoztatott viaszmenntiségek 'Hó' és 'Titán' paprikáknál.

5.1.4. 'Hó' és 'Titán' paprikák fénymikroszkópos vizsgálati eredményei

A fajták mikroszkópos képei a 23. ábrán láthatóak (23. ábra).



23. ábra: A 'Hó' és 'Titán' paprikák perikarpiumainak mikroszkópos képei. A felső sorban a 'Hó', az alsóban a 'Titán' termékek; balról jobbra haladva (a-b-c; d-e-f) pedig a félméretű, az éretlen és érett állapotok láthatók. Csillaggal jelöltük az érett 'Titán' termésben megjelenő hipodermális kollenchima szövettájt. Skála: 50 µm (Erős-Honti Zsolt felvétele).

A 'Titán' szövettájt borító kutikularéteg vastagabb volt, mint a 'Hó' fajtán található, ugyanakkor érdekes módon ez utóbbi fajta kutikularétege az érés során valamelyest vékonyodott. Ezzel szemben a 'Titán' kutikulája kezdetben vastag, majd lassú vékonyodásba kezd az érés előrehaladtával. A kutikularéteg vastagsága hozzávetőlegesen kétszeres vastagságú volt a 'Titán' esetében. A kutikuláris különbségek mellett a 'Titán' fajta érett állapotában hipodermális kollenchima jelent meg, mely 2-3 sejtsorból állt.

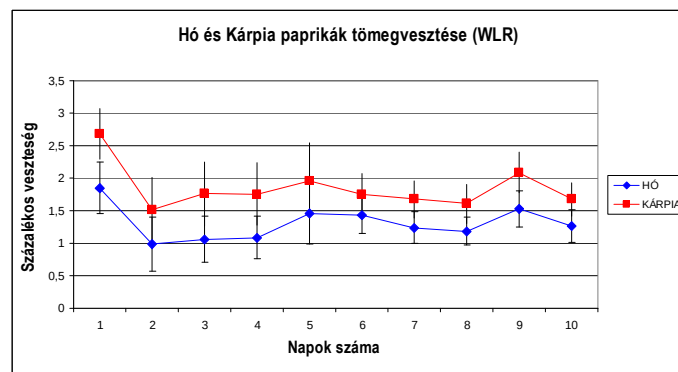
5.2. 'Hó' és 'Kárpia' fajtákkal végzett vizsgálatok eredményei

2011-ben is mindkét fajtám esetében két ismételtsben végeztem kísérleteimet. Vízvesztéssel összefüggő vizsgálataim mellett ekkor is folytak a BCE Növénytani Tanszéken morfológiai vizsgálatok, melyek eredményeit a Tudományos előzmények fejezetben ismertettem előzetesen. Méréseim során ismét a WLR-t, a felszínre vonatkoztatott tömegvesztés értékeit és az összes posztharvest vízvesztést reprezentáló mutatót határoztam meg. Fajtára és kezelési szintekre lebontva mutatom be ezek eredményeit a későbbiekben.

5.2.1. A vízvesztés vizsgálatainak első mérése

5.2.1.1. WLR mérések

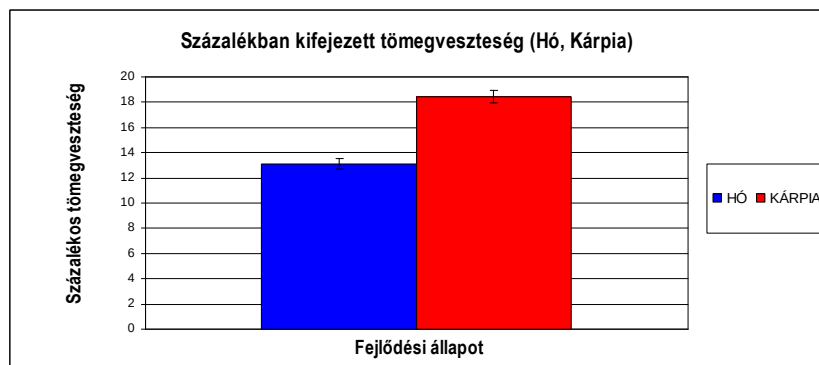
Először WLR számítást végeztem el a 'Hó' és 'Kárpia' paprikák esetében, mely a 24. ábrán látható (24. ábra).



24. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' paprikák tömegvesztése (WLR)

A vízszintes tengelyen a napok múlását, míg a függőlegesen a százalékban kifejezett tömegvesztést látjuk. Bár az ismétléses varianciaanalízis eredményei alapján a két paprikafajta közötti különbség szignifikáns, mértéke kicsiny.

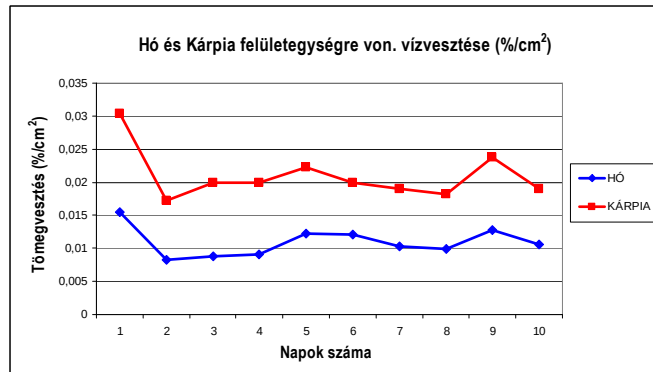
Az összegzett WLR tekintetében a 'Hó' és 'Kárpia' fajtájú paprikák között jelentős különbség figyelhető meg (25. ábra), mely különbség szignifikánsnak bizonyult a varianciaanalízis alapján.



25. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' paprikák összegzett, százalékban kifejezett tömegvesztése

5.2.1.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés

A 'Hó' és a 'Kárpia' paprikák százalékos felületegységre vonatkoztatott vízvesztését vizsgáltam cm^2 -re vonatkoztatva. A 26. ábrán az látható, hogy a 'Kárpia' paprikák több vizet veszítettek és nagyobb mértékben, mint a 'Hó' fajtájú paprikák (**26. ábra**), ez a különbség szignifikánsnak bizonyult páros t-próbával összehasonlítva az egyes napok eredményeit.

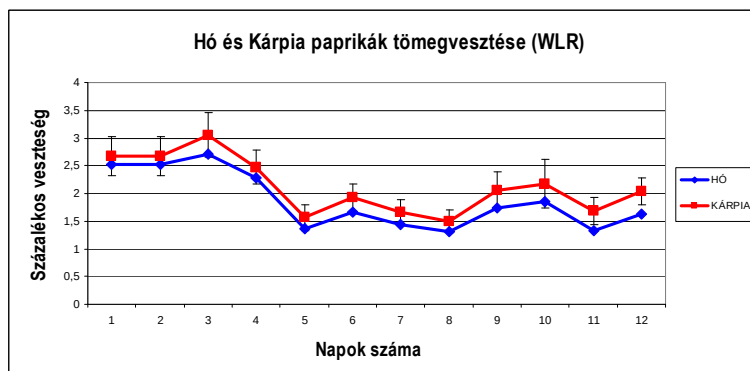


26. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' felületegységre vonatkoztatott vízvesztése

5.2.2. A vízvesztés vizsgálatának második mérése

5.2.2.1. WLR mérések

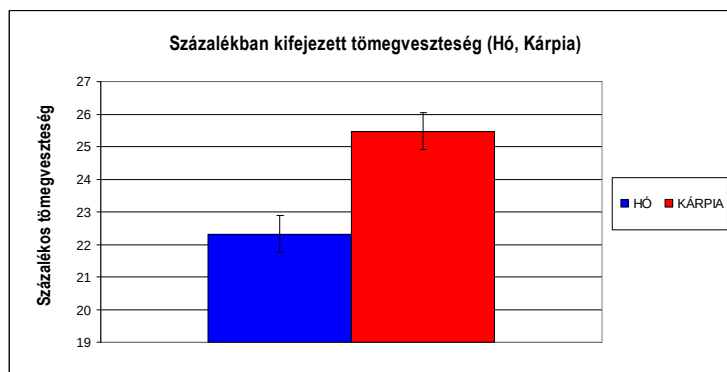
Először ismét a WLR számítást végeztem el a 'Hó' és 'Kárpia' paprikák esetében, melynek eredménye a 27. ábrán látható (**27. ábra**).



27. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' paprikák tömegvesztése (WLR)

A vízszintes tengelyen a napok múlását, míg a függőlegesen a százalékban kifejezett tömegvesztést látjuk. A két paprikafajta közötti különbség ismét szignifikáns, de mértéke ebben az esetben az előzőnél is kevésbé számottevő. Ebben az egyetlen esetben olyan mértékben sérült az adatok szfericitása, hogy az Greenhouse-Geisser korrekcióval már nem volt korrigálható. Mivel pedig az szfericitásra vonatkozó feltétel erre az adatsorra sérült, ezért Box-Cox transzformációt alkalmaztunk a probléma kiküszöbölésére. Az így kapott transzformált adatsor már mindenben kielégítette a paraméteres módszer feltételeit.

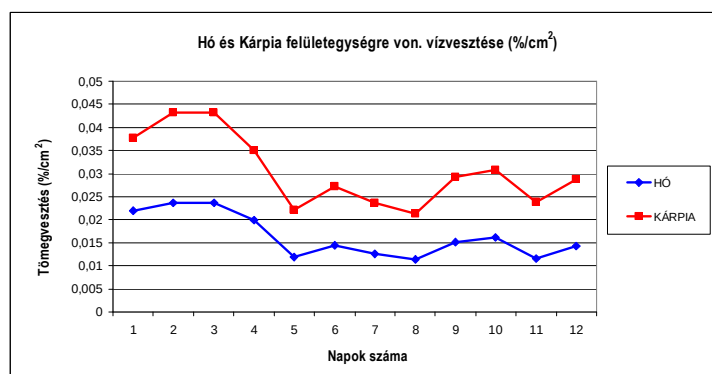
Az összegzett WLR értékekből készült grafikon segítségével megállapíthatjuk, hogy a 'Hó' és 'Kárpia' paprikák között jelentős különbség van (**28. ábra**), ez a különbség ismét szignifikánsnak bizonyult az elvégzett varianciaanalízis alapján.



28. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' paprikák összegzett tömegvesztése

5.2.2.2. Felületegységre vonatkoztatott vízvesztés

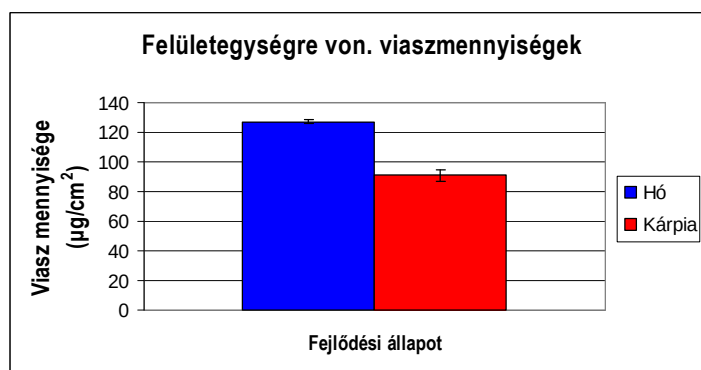
A 29. ábrán a felületegységre vonatkoztatott százalékos vízvesztését ábrázoltam a 'Hó' és 'Kárpia' paprikák esetén a második ismételtsben. A két fajtánál megállapíthatjuk, hogy a vízvesztés mintázata hasonló, de mértéke jelentős eltérést mutat (**29. ábra**), mely eltérés szignifikáns különbségnek mondható a páros t-próba eredményei alapján.



29. ábra: 'Hó' és 'Kárpia' paprikák felületegységre vonatkoztatott vízvesztése

5.2.3. 'Hó' és 'Kárpia' kutikuláris viaszrétegének vizsgálati eredményei

A 2010-es módszerhez hasonlóan csoportokat képeztünk a paprikákból, leoldottuk a felszíni viaszrétegüket, majd meghatároztuk a felületegységre vonatkoztatott viaszmenntiségeiket. Szignifikáns különbséget találtunk a fajták felületegységre vonatkoztatott viaszmenntiségei között (**30. ábra**), és jól láthatóan nagyobb mennyiségű viasz található a 'Hó' fajták felszínén. Eredményeink ellenőrzésére egy tényezős, véletlen elrendezésű ANOVA-t végeztünk, melynek előfeltétele, a normalitás, a Kolmogorov-Smirnov próba alapján teljesült.



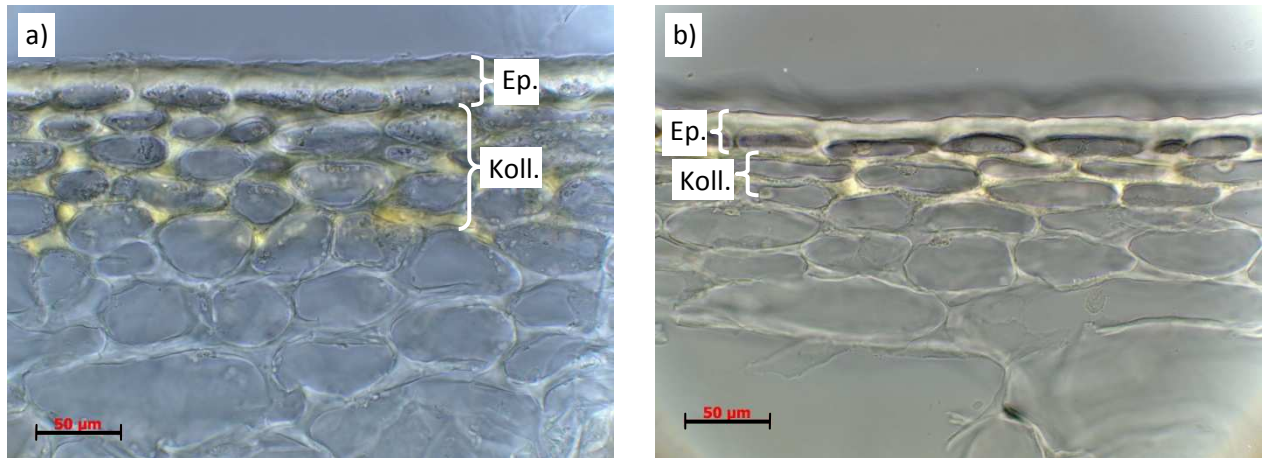
30. ábra: Felületegységre vonatkoztatott vízmennyiségek 'Hó' és 'Kárpia'

5.2.4. 'Hó' és 'Kárpia' paprikák fénymikroszkópos vizsgálati eredményei

A bogyók szövettájainak fénymikroszkopizálás során kapott értékeit az VI. táblázatban tüntettem fel, a mikroszkópos képeket a 31. ábrán mutatom be (31. ábra, VI. táblázat).

	'Hó'			'Kárpia'		
	Csúcs	Közép	Alj	Csúcs	Közép	Alj
Epidermisz periklinális sejtfalának vastagsága (µm)	11,71±1,7 1	10,76±1,7 1	10,25±2,0 6	14,16±1,9 6	14,54±2,22	13,71±1,54
Kollenhimális sejtrétegek száma	1-2 (3)	2 (3)	1-2 (3)	(2) 3-4	3-4 (5)	3-4
Epidermisz és kollenchima teljes vastagsága (µm)	49,62±7,8 3	58,10±9,5 5	72,76±9,1 5	93,15±22,80	105,55±19,04	88,17±5,33
Sejtfalvastagság a kollenhimában (µm)	4,20±0,94	4,70±0,98	4,54±0,89	5,30±1,13	6,60±1,20	5,22±0,88

VI. táblázat. A bogyók méreteinek mért adatai az átlagokkal és szórásokkal feltüntetve (25 paprikán, Erős-Honti Zsolt, nem publikált adatok)



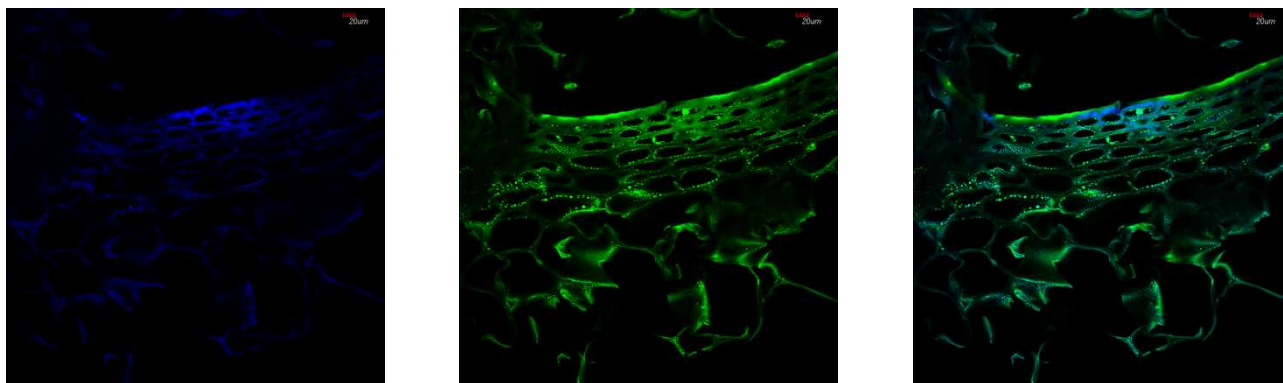
31. ábra: Eltérések a ‘Hó’ és ‘Kárpia’ fajták bogyóinak szöveti mintázatában. (a: ‘Kárpia’; b: ‘Hó’. Erős-Honti Zsolt felvétele Rövidítések: Ep. – epidermisz; Koll. – hipodermális kollenchima. Skála: 50 µm.)

Minden mérés eredménye a ‘Kárpia’ esetén szignifikánsan magasabb volt, mint a ‘Hó’ bármely vizsgált értéke. A legvastagabb periklinális sejtsort a ‘Kárpia’ fajtánál azonosítottuk (14,54 µm), a középső termésrészből, amely azonban nem tért el szignifikánsan a termés többi részén mért adattól. A ‘Hó’ esetében ugyanakkor eltérést találtunk e tényezőben a termések alján lévő régióiból származó szövetek vastagságában (10,25 µm), mely szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a többi részből származó periklinális sejtsor vastagsága. Az epidermisz és hipodermális kollehimia vastagságának meghatározásakor fokozatos csökkenést találtunk a csúcstól a termés alja felé haladva a ‘Hó’ fajta esetén, mely eredmény szignifikáns, ugyanakkor nem mutatható ki a ‘Kárpia’ esetén, melynél azonban minden itt mért érték 15 µm-rel nagyobb eredményt adott. Mindemellett vastagabb kollenchimaréteget láttunk a ‘Kárpia’ terméseknél, melyek sejtfalának vastagsága is szignifikánsan vastagabb volt a ‘Hó’ értékeihez képest. Ugyanakkor korrelációt a sejtfalak vastagsága és termésen belüli elhelyezkedése között nem találtunk.

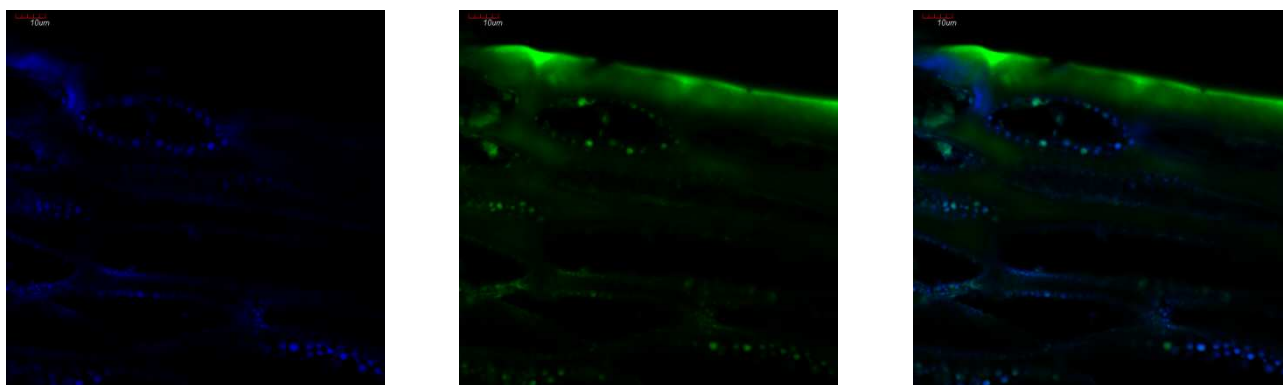
5.2.5. Fluoreszcens mikroszkópos eredmények

A paprikák kutikularétegét a Riederer és Müller által javasolt definíció szerint határoztuk meg, vagyis a mérés során azt a réteget tekintettük kutikulának, amely a legkülső epidermális sejtsoron (és annak sejtfalán) kívül helyezkedik el. Ez utóbbit a Calcofluor White-tal festett mintákon az intenzív kék fluoreszcenciát mutató, vékony sávként határoztuk meg. Az ezen kívül eső kék kibocsátást már a kutikula komponensének tekintettük.

A ‘Hó’ fajtát vizsgáló fluoreszcens mikroszkópiás képek két reprezentációja a 32. és 33. ábrákon láthatóak (32. és 33. ábra).



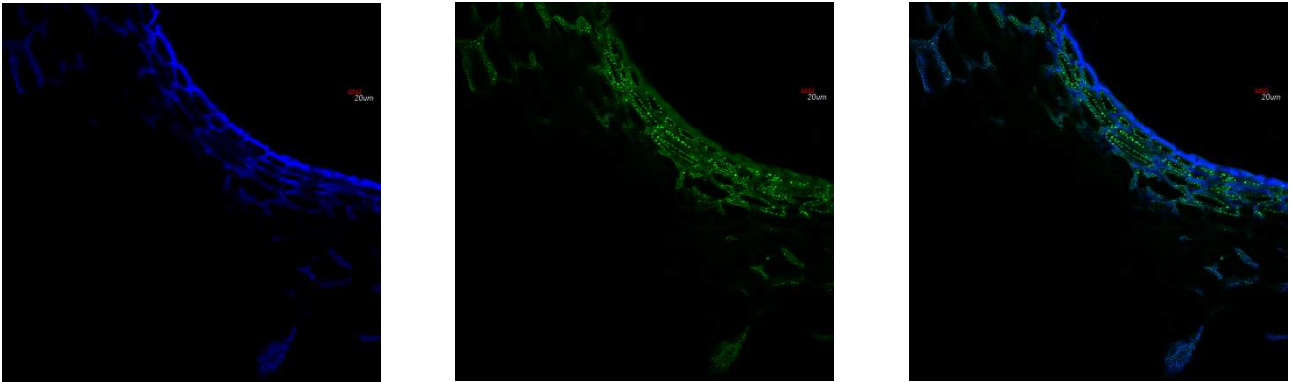
32. ábra: 'Hó' fajta termésének fluoreszcens festése. Calcofluor White-tal festve (bal oldali kép), Auramin O-val festve (középső kép), összeolvasztott kép (jobb kép); 20x nagyításban.



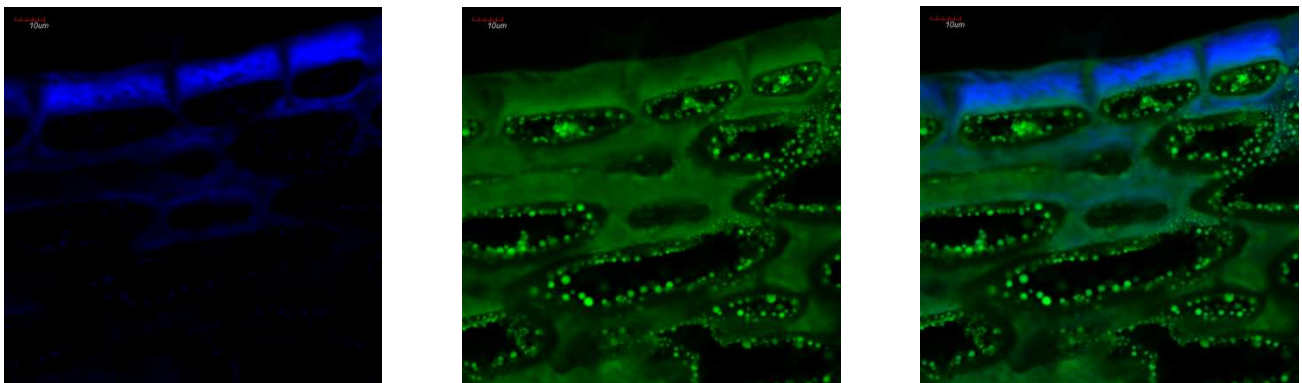
33. ábra: 'Hó' fajta termésének fluoreszcens festése. Calcofluor White-tal festve (bal oldali kép), Auramin O-val festve (középső kép), összeolvasztott kép (jobb kép); 20x nagyításban, 5x optikai zoom-ot alkalmazva.

A fajtánál jól látható egy intenzív fluoreszcens jel az epikutikuláris viaszrétegek tartományában az Auramin O-val készült képeken, mely a kutikula korábban már taglalt felosztása szerinti „kutikula anyag”-nak és epikutikuláris viaszrétegnek feleltethető meg. Az ez alatti rétegben a Calcofluor White-tal festve gyenge jelintenzitással megjelennek a sejtfalak, illetve a kisebb nagyításon jól láthatóak a kutikula poliszacharid-tartalmú komponenseinek elhelyezkedése.

A 'Kárpia' fajta eredményei a 34. és 35. ábrákon láthatóak (**34. és 35. ábra**).



34. ábra: 'Kárpia' fajta termésének fluoreszcens festése. Calcofluor White-tal festve (bal oldali kép), Auramin O-val festve (középső kép), összeolvasztott kép (jobb kép); 20x nagyításban.



35. ábra: 'Kárpia' fajta termésének fluoreszcens festése. Calcofluor White-tal festve (bal oldali kép), Auramin O-val festve (középső kép), összeolvasztott kép (jobb kép); 20x nagyításban, 5x optikai zoom-ot alkalmazva.

Az ábrákon jól látszik, hogy a fajta eltérő kutikuláris mintázattal rendelkezik a 'Hó'-hoz képest a kutikula komponenseinek terén. Látszik, hogy a 'Hó'-nál látott epikutikuláris viaszréteg, valamint a „kutikula anyag” rétegei nagyon halvány jelet adnak a kutikula legkülső részein (Auramin O gerjesztései), emellett intenzív jelet láthatunk a kutikulán belül is a Calcofluor White-tal festve. Ahogy arra korábban kitértem, ez a festék a poliszacharidokat és a cellulózt tartalmazó szöveteket festi, így a kutikula kutinrétegét is. Épp ez a jel látható a 34.-35. ábrák Calcofluorral megfestett képein is az epidermális sejtsorok sejtfalán kívül intenzív kék festődésként. A 'Kárpia' fajtánál mindezek mellett az Auramin O-t gerjesztve apró zöldes gömbök is megfigyelhetők a sejtek belső felszíneihez kapcsolódva. Ezek a képletek feltehetően színyanyag tartalmú plasztiszok, melyek a fajta vöröses színéért is felelőssé tehetők, és a választott fluoreszcens festékünkkel a kutikula lipofil komponensei mellett szintén festődnek.

A kutikula vastagságok mérése alapján elmondható, hogy míg a 'Hó' fajta $11,1 \pm 1,1 \mu\text{m}$ vastagságú, a 'Kárpia' pedig $14,1 \pm 0,7 \mu\text{m}$ vastagságú volt, mely eredmény szignifikánsan különböző egymástól a rá elvégzett egytényezős varianciaanalízis alapján.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A 'Hó' és 'Titán' paprikákkal végzett vizsgálataim során azt találtam, hogy a 'Titán' fajta termése a különböző érettségi fázisokban nagyobb mennyiségű vizet párologtatott, mint a 'Hó' fajtaé, ami jelentős fajtajellegre utal e tulajdonság kialakításában. A mikroszkópos vizsgálatok alapján a 'Titán' paprikák kutikula rétege sokkal vastagabb, mint a 'Hó' paprikáké. A viaszréteg vastagságának és a párologtatásnak a negatív korrelációja pedig arra enged következtetni, hogy a kutikula vastagsága nincs közvetlen összefüggésben a termés vízvesztésével, mely megegyezik előzetes irodalmi ismereteinkkel (Riederer és Müller, 2006). A kezelt és kezeletlen paprikák vízvesztése nagymértékű eltérést mutatott, a kloroformozott paprikák ugyanis bármely fajta bármely érettségi állapotában számottevően nagyobb mennyiségű vizet vesztek, mint a sértetlen bogyók az azonos fajtából. Legkiemelkedőbben a kezelt, félméretű paprikák vesztek a tömegükből, a két további fejlődési állapot között csak egy-egy vizsgálatban sikerült szignifikáns eltérést kimutatni. Utóbbi eredményből arra következtethetünk, hogy az érési állapot előrehaladtával a paprikák bogyói a párologtatás megfékezésére más struktúrákat és stratégiákat is kialakítanak, nem csupán a kutikula jelenlétét, ennek hiányában viszont, ahogy ez a félméretű paprikák esetén jól látszott, a paprikák a kutikula eltávolításával gyakorlatilag korlátlanul párologtatnak. Ez utóbbi eredmény megfelel Díaz-Pérez elképzeléseinek, akik modelljükben exponenciálisan csökkenő tendenciájúnak ábrázolták a különböző érettségi állapotú paprikák vízvesztését (Díaz-Pérez *et al.*, 2007). Az idősebb állapotú paprikák párologtatásának megfékezését szabályozó struktúrákat ugyan nem kerestünk, de arra jelölteket találtunk. Ilyennek tekintjük a 'Titán' fajtájú paprikák érett állapotában megjelenő hipodermális kollenchima szövettáját, de említhető emellett az idősödő bogyók viaszkomponensei között megjelenő rövid láncú viaszkomponensek arányának feldúsulása is (Gyepes Attila, személyes közlés).

A 'Hó' és 'Kárpia' fajtájú paprikáknál már nem állítottam fel kezelt és kezeletlen, illetve különböző érettségi fázisokban lévő csoportokat. Itt a két fajta vízvesztését vizsgáltam csupán, a kutikula tekintetében. Az összegzett WLR értékek alapján megállapíthatjuk, hogy a két paprikafajta között szignifikáns eltérés mutatkozik a vízvesztés tekintetében, mely utóbbi a felületegységre vonatkoztatott vízvesztés esetében is bizonyítást nyert. Ez az eredmény mindenképp számottevő és meglepő, mert arra enged következtetni, hogy bár az előzetes irodalmi adatok alapján a 'Kárpia' paprika mutatkozik tovább pulton tarthatónak (Zsom *et al.*, 2005), mégis ez veszít szignifikánsan nagyobb mennyiségű vizet, és ez utóbbi változást a szerkezetében makroszkóposan meg sem figyelhettük. A fénymikroszkópos vizsgálatok azzal az eredménnyel szolgáltak, miszerint a 'Kárpia' minden vizsgálati értéke magasabb volt, mint a 'Hó' fajtaé, érte ezalatt például a kutikulát is tömörítő külső periklinális sejtfalak vastagságát vagy a hipodermális szövettáj sejtjeinek

számát és kiterjedését. Ezzel összefüggésben a fluoreszcens mikroszkópos képek alapján is megállapítható, hogy feltételezhetően nem csak más összetételű a 'Kárpia' kutikulája, de a 'Hó' fajtánál vastagabb is. A mikroszkópos eredmények alternatívaként szolgálnak a kérdéseink megválaszolására, ugyanis azok a szöveti struktúrák, melyeket a 'Kárpia' termésekben találtunk, felelőssé tehetőek azok masszívabb struktúrájának kialakításáért, a vízvesztés egyértelmű hatásainak látszólagos elfedéséért. Mindezen eredmények mellett a 'Hó' fajtájú paprikákon a viaszleoldósos vizsgálatok során bebizonyítottuk, hogy több viasz volt rajtuk, mint a 'Kárpia' fajtájúakon, így arra következtethetünk, a viasz mennyisége nem befolyásolta egyértelműen a vízvesztést, és ha a kutikulaviaszok valamely komponense befolyással volt erre, akkor az csak az általunk még nem vizsgált minőségi összetétel lehetett.

A két paprikafajtát érintő vizsgálataim során bebizonyítottam, hogy a 'Kárpia' hosszabb pulton tarthatóságáért nem a párologtatásának aránya, hanem egyéb okok lehetnek felelősek. Akár a bőr szöveti szerkezetben talált hipodermális kollenchima és egyéb feltárt különbségek, akár a kutikuláris viaszok összetétele és/vagy eltérő strukturáltsága játszhat potenciális szerepet, mely utóbbi a 'Hó' és 'Titán' paprikák vizsgálatában is feltételezhető befolyásoló faktornak számított. Alátámasztást nyert, hogy a viaszok mennyisége a fajtákon egyértelmű összefüggést nem mutat a vízvesztés mértékével, emellett azonban az is bebizonyosodott, hogy a kutikula jelenléte számottevő, ha nem a legszámottevőbb szabályozó struktúra az olyan rövid ideig tárolható termések esetén, mint a paprika.

A későbbiekben szeretném folytatni vizsgálataimat a 'Hó' és 'Kárpia' paprikák szöveti struktúráinak vonatkozásában, esetlegesen kiegészítve azok viasz-komponenseinek analízisével.

A 'Hó' és 'Titán' paprika fajták összehasonlításánál kiderült, hogy a viaszréteg oldószeres eltávolítása hatásosabban növeli a vízvesztést a fiatal paprikákon. Ezeknek tömeg és felületegységre vonatkoztatott párologtatása is nagyobbak bizonyult, mint az idősebb terméseknek. Ez alapján lehetséges, hogy fiatal bogyónál nagyobb a viaszoltság hozzájárulása a vízmegtartáshoz, mint idős korban.

A 'Hó' és 'Kárpia' paprika fajták termésének vízvesztését azért hasonlítottam össze, mert eltérő pulton tarthatóságuk ugyan ismert és jól körüljárt kutatási téma, a jelenségnek részletes leírása és biztos magyarázata azonban ismereteink szerint mindmáig nem született. A bogyók betakarítás utáni vízvesztését vizsgálva arra a meglepő eredményre jutottam, hogy bár a 'Kárpia' fajta eltarthatósága jobb, a vízvesztése mégis magasabb, mint a hozzá hasonló méretű 'Hó' termésé. A bogyók felületi viasz fedettségét megmérve azt találtam, hogy a 'Kárpia' fajta felületét kevesebb viasz borítja. A megfigyelések lehetséges magyarázatára a Növényteni Tanszék munkatársai által végzett párhuzamos mikroszkópos vizsgálatok során derült fény, ami a szövetszerkezeti struktúrák szerepét helyezi előtérbe.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteim során három olyan paprikafajtát vizsgáltam, melyek a legjelentősebb hazánkban forgalomban lévő fajták közé sorolhatók. Vizsgálataim során több módszert is alkalmaztam annak eldöntésére, hogy a kutikula minőségi és mennyiségi paraméterei, a szöveti struktúrák, a fajta vagy épp az érettségi állapotok közül mely faktorok lehetnek legjelentősebbek a párologtatás szabályozásban. Hazai elterjedtségük és a pulton tarthatóságukban látható jelentős eltérések mind megalapozzák az e fajtákkal kapcsolatos kutatásokat.

Első vizsgálatomban a 'Hó' és 'Titán' fajtákat hasonlítottam össze betakarítás utáni vízvesztésük és morfológiájuk szerint, három különböző érettségi állapotban. Kísérleti elrendezésünkkel és eredményeinkkel sikerült bebizonyítani, hogy e két fajta között eltérés mutatkozik a posztharvest párologtatásukban, érettségi állapotaik e vonatkozásban elkülöníthetőnek mutatkoztak egymástól. Mindezek mellett közvetlen, kutikula jelenlétét érintő kísérletemben azt is bebizonyítottuk, hogy a termést borító kutikula a paprikák termésének egyik legjelentősebb szabályozó eleme, melynek szerepe a legfiatalabb állapotú paprikáknál fedezhető fel a legintenzívebben.

Második vizsgálatomban a 'Hó' és 'Kárpia' paprikákat hasonlítottam össze, melyek eltérő pulton tarthatósága ugyan ismert és jól körüljárt kutatási téma, egyértelmű és biztos magyarázata azonban ismereteink szerint mindmáig nem született. A bogyók betakarítás utáni vízvesztésének vizsgálatával számszerűsíteni tudtuk a vízvesztésüket, és meglepő eredményként azt kaptuk, hogy bár a 'Hó' fajta mutatja tárolás során a jelentősebb szöveti strukturális változásokat, mégis a 'Kárpia' fajta párologtat el több vizet a tárolásuk során. Ennek a kérdésnek további magyarázatául egy alternatívát morfológiai eredményeink jelentenek, melyek alapján kijelenthetjük, hogy nagyfokú szöveti elváltozások találhatók a 'Kárpia' termések epidermisz alatti régióiban. Kiterjedt hipodermális kollenchima réteg van jelen ugyanis a bőrszövet alatt, mely további merevséget biztosít a termésnek a tárolás során. Kísérleteim során a kutikula rétegében is jelentős eltéréseket találtam úgy a kutikulaviaszok mennyiségében, mint ahogy a kutikularéteg strukturális felépítésében és vastagságában, melyek az irodalmi ismereteink alapján jelentős szabályozói a posztharvest párologtatásnak és ezáltal végső soron a termés minőségi romlásának.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Lukács Noéminek, a Budapest Corvinus Egyetem Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék vezetőjének, aki lehetőséget adott hogy a tanszék kutatómunkájába bekapcsolódhassak.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Papp Istvánnak, konzulensemnek, aki tapasztalatával és szakmai hozzáértésével hozzájárult dolgozatom elkészítéséhez.

Nagy hálával tartozom tanszéki konzulensemnek, Albert Zsoltnak, akihez kísérleteim és dolgozatom írása közben kérdéseimmel fordulhattam és aki idejét és energiáját nem sajnálva végig segítségemre volt.

Köszönetet szeretnék mondani Pós Veronikának a konfokális és fluoreszcens mikroszkópozás lehetőségéért és az abban nyújtott segítségéért. Köszönet illeti Miskó Andrást és Ivanics Balázst is, akik a mérésekben segítségemre voltak, illetve a Növényélettan és Növényi Biokémia Tanszék valamennyi munkatársát.

Hálával tartozom a BCE Matematika és Informatika Tanszéken Dr. Ladányi Mártának, aki az eredmények statisztikai feldolgozásában nagy segítséget nyújtott.

Köszönöm Dr. Erős-Honti Zsoltnak és Solymossy Gábornak a BCE Növénytani Tanszék munkatársainak a szövettani vizsgálatokban nyújtott segítségét.

Szeretném megköszönni a BCE Zöldség és Gombatermesztési Tanszéken Dr. Terbe Istvánnak, hogy lehetőséget biztosítottak a paprikák vizsgálatára, illetve a Soroksári Tangazdaságban Kis Krisztiánné-nak a rengeteg segítséget a paprika termesztésében.

Köszönöm Gyepes Attilának (BCE Alkalmazott Kémia Tanszék) a bepárlással kapcsolatos segítséget.

Köszönettel és hálával tartozom a családomnak és a barátaimnak, akik végig támogattak és mindenben a segítségemre voltak.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- Banaras, M., Lownds, N. K., Bosland, P. W. 1994. Relationship of physical properties to postharvest water loss in pepper fruits (*Capsicum annuum* L.) Pak.J.Bot., 26(2):321-326.
- Berend, M., Fazekas, Gy. 2001. Biológia II. Nemzeti tankönyvkiadó, Budapest.
- Biles, C. L., Wall, M. M., Waugh, M., Palmer, H. 1993. Relationship of phytophthora fruit rot to fruit maturation and cuticle thickness of new Mexican-type peppers. Phytopathology 83:607-611.
- Bisio, A., Corallo, A., Gastaldo, P., Romussi, G., Ciarallo, G., Fontana, N., De Tomassi, N., Profumo, P. 1999. Glandular hairs and secreted material in *Salvia blepharophylla* Brandegees ex epling grown in Italy. Annals of Botany 83:441-452.
- Box, G. E. P., Cox, D. R. 1964. An analysis of transformations. Journal of the Royal Statistical Society, Series B 26 (2): 211–252.
- Chuah, A. M., Lee, Y. C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L. J., Matoba, T. 2008. Effect of cooking on antioxidant properties of coloured peppers. Food Chemistry 111:20-28.
- Davey, M. W., Montagu, M. V., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I. J. J., Strain, J. J., Favell, D., Fletcher, J. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. J Sci Food Agric 80:825-860.
- Díaz- Pérez, J. C., Mui- Rangel, M. D., and Mascorro, A. G. 2007. Fruit size and stage of ripeness affect postharvest water loss in bell pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). J Sci Food Agric 87:68-73.
- Fallik, E., Grinberg, S., Alkalai, S., Yekutieli, O., Wiseblum, A., Regev, R., Beres, H., Bar-Lev, E. 1999. A unique rapid hot water treatment to improve storage quality of sweet pepper. Postharvest Biology and Technology 15:25-32.
- Geisser, S., and Greenhouse, S. W. 1958. An extension of Box's results on the use of the distribution in multivariate analysis. Ann. Math. Statist. 29:885-91.
- Gilts, M. és Folk, Gy. 2000. Kertészeti növénykórtan. Mezőgazda kiadó.
- Guil-Guerro, J. L., Martínez-Guirado, C., Reboloso-Fuentes, M., Carrique-Pérez, A. 2006. Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuum*) varieties. Eur Food Res Technol 224:1-9.
- Harnos, Zs., Ladányi, M. 2005. Biometria agrártudományi alkalmazásokkal. Aula kiadó, Budapest.
- Hammer, Ľ., Harper, D. A. T., and P. D. Ryan (2001): PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp.

- Hodossi, S., Kovács, A., Terbe, I. 2004. Zöldségtermesztés szabadföldön. Mezőgazda kiadó, Budapest.
- Jenks, M. A., Ashworth, E. N. 1999. Plant epicuticular waxes: Function, production and genetics. Horticultural Reviews (23):1-68.
- Kim, K. D., Oh, B. J., Yang, J. 1999. Differential Interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolate with green and red pepper fruits. Phytoparasitica 27(2):97-106.
- Kissinger, M., Elkind, Y., Leikin-Frenkel, A., Lurie, S., Fallik, E. 2006. The relationship between water loss, lipid content, membrane integrity and LOX activity in ripe pepper fruit after storage. Postharvest Biology and Technology 42:248-255.
- Lovas, B. 1984. Mikroszkóp-mikrokozmosz. Gondolat kiadó, Budapest.
- Oh, B. J., Kim, K. D., Kim, Y. S. 1999. Effect of cuticular wax layers of green and red pepper fruits on infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Phytopathology 147(9):547-552.
- Pollard, M., Beisson, F., Li, Y., Ohlrogge, J. B. 2008. Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. Trend sin Plant Science 13. (5.) 236-246.
- Pruitt, R. E., Vielle-Calzada, J-P., Ploense, S. E., Grossniklaus, U., Lolle, S. J., 2000. Fiddlehead, a gene required to suppress epidermal cell internations in Arabidopsis, encodes a putative lipid biosynthetic enzyme. PNAS 97 (3):1311-1316.
- Riederer, M., Müller, C. 2006. Biology of the plant cuticle. Annual plant reviews (23). Blackwell publishing, Oxford.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. 1989. Molecular cloning – A laboratory manual (2nd edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Seminis, Magyar Katalógus 2004. Seminis Hungária Vetőmag Kft., Budapest.
- Samuels, L., Kunst, L., Jetter, R. 2008. Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. Annu. Rev. Plant Biol. 59. 683-707.
- Simon, G. 2006. Review on rain induced fruit cracking of sweet cherries (*Prunus avium* L.), its causes and possibilities of prevention. International Journal of Horticultural Science 12(3):27-35.
- Smith, D. L., Stommel, J. R., Fung, R. W. M., Wang, C. Y., Whitaker, B. D. 2006. Influence of cultivar and harvest method on postharvest storage quality of pepper (*Capsicum annum* L.) fruit. Postharvest Biology and Technology 42:243-247.
- Szerényi, G., Altbäcker, V., Berend, M., Fazekas, Gy. 2001. Biológia I. Nemzeti tankönyvkiadó, Budapest.

- Terbe, I., Hodossi, S., Kovács, A. 2005. Zöldségtermesztés termesztőberendezésekben. Mezőgazda kiadó, Budapest.
- Zsom, T., Herrpich, W. B., Balla, Cs., Fekete, A., Felföldi, J., Linke, M. 2005. Study of water transpiration features of sweet pepper using a thermal imaging system and non-destructive quality monitoring during post-harvest storage. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 82:239-243.

URL hivatkozások:

http://biofizika.aok.pte.hu/hu/muszer/konfok/konfok_elm.pdf