

Napsugárzás hatása szőlőfajták levélszövettani és fitokémiai tulajdonságaira

XXXII. OTDK Biológiai Szekció

Készítette: RADVÁNYI LILLA
biológia Bsc hallgató

Témavezető: Dr. Kocsis Marianna
PTE TTK Növénybiológiai Tanszék



Pécs

2014

TARTALOMJEGYZÉK

I. IRODALMI BEVEZETÉS	3
1.1. A szőlő szerepe a mindennapokban	3
1.2. A Furmint és a Gohér fajtacsoport.....	4
1.3. A szőlőlevél szöveti szerkezete.....	5
1.4. Fenolos anyagok a növényvilágban	6
1.5. A napsugárzás hatása a növényekre.....	7
II. CÉLKITŰZÉSEK.....	9
III. ANYAG ÉS MÓDSZER	10
3.1. A vizsgált szőlőfajták	10
3.2. Alkalmazott módszerek	12
3.2.1. A napsugárzás erősségének mérése	12
3.2.2. Műgyantás metszéstechika – fénymikroszkóp	13
3.2.3. Kézi metszéstechika – epifluoreszcens és lézer szkennig mikroszkópia	14
IV. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	15
4.1. Szőlőfajták levéllyeleinek jellemzése	15
4.2. A szőlőfajták levéllemezeinek jellemzése	19
4.2.1. Szövettani szerkezet	19
4.2.2. A napfény hatása a levelek fitokémiai jellemzőire	26
4.3. A szőlőfajták elsőrendű ereinek jellemzése.....	30
V. ÖSSZEFOGLALÁS	34
VI. IRODALOMJEGYZÉK	36
VII. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	40

I. IRODALMI BEVEZETÉS

1.1. A szőlő szerepe a mindennapokban

A szőlő igen régi kultúrnövényünk, őshazája feltehetően a Mediterrán vidékétől egészen a Kaukázusig terjedt, fellelhető volt Közép-Ázsiában, a Fekete-tenger partvidékén, de megtalálhatjuk a szőlő termesztésének és a szüretnek ábrázolását 3500 éves egyiptomi falfestményeken is (KESZLER 2001). Harmadkori szőlőmaradványokat Magyarországon is találtak. A leletek tanúsága szerint a szőlő az ország egész területén elterjedt volt. Feltehető, hogy a ma termesztett *V.vinifera* L., azaz bort termő szőlő őse a ligeti szőlő, *V. silvestris* GMEL., a jégkorszak után megmaradt néhány fajtából alakult ki (CSEPREGI – ZILAI 1988).

Táplálkozástani szempontból a szőlő az egyik legértékesebb gyümölcsünk: vitaminokban, ásványi anyagokban, rostban és más egészségvédő vegyületekben is gazdag. A szőlő magjából préselt olajat felhasználják a gasztronómiában illetve a kozmetikai iparban. A szőlőgyümölcs pozitív hatásait mára már klinikailag igazolták.

A szőlő alakilag legváltozatosabb szerve a levél, így ez alapján határozható meg leginkább. Lehet tenyeresen összetett vagy karéjos, de mindig két sorban váltakozón állva, nyéllel fordul elő. A levélalakot az öt elsőrendű ér és az ezek által bezárt szög határozza meg. Így lehet szív, vese, ötszög alakú, vagy kerekded (CSEPREGI - ZILAI 1976).

A szőlőlevél (*Vitis vinifera* L.) jótékony hatását régóta használják a népi gyógyászatban hagyományos medicinaként. Alkalmazták vérzéscsillapításra, hasmenés, aranyér, visszértágulat és egyéb keringési betegségek ellen. Az észak-amerikai őslakosok a levelekből teát főztek, amivel a hepatitist, a fejfájást, és a szájpenészt gyógyították, borogatásnak a hervadt leveleket a fájó mellkasra rakták. Egyéb *Vitis* fajok ugyanezen tünetek enyhítésére alkalmasak. Enyhe lefutású véna-elégtelenség és szívkoszorúér elzáródásra gyakorolt pozitív hatását klinikailag igazolták (1. WEBOLDAL). Ezeket a pozitív élettani hatásokat többek között különböző polifenolos vegyületeknek köszönheti. A flavonoidok és a rezveratrol pozitív élettani hatását bizonyítja DANI és mtsai (2010) kísérlete. Manapság kiemelten alkalmaznak szőlőlevélből készült kivonatokat a kozmetikai iparban, ezek közül leginkább a vörös szőlő levelének kivonatát. A kivonat jótékony hatását már a középkor óta nagyra becsülik. Fürdővízbe téve javítja a felszíni keringést, tisztít és méregtelenít (2. WEBOLDAL). Emellett a gasztronómiában is egyre elterjedtebb a szőlő levelének nem díszítő elemként való felhasználása. Nagyszerű ételeket lehet belőlük készíteni, ilyen például egy hagyományos szüreti étel, a töltike, amely leginkább a töltött káposztához hasonlít.

1.2. A Furmint és Gohér fajtacsoport

A fajtacsoport, vagy *conculta*, fajon belüli mesterséges növényrendszertani kategória, melyet Németh Márton alkalmazott először a szőlészetben. Egy-egy fajtacsoport tagjai mindössze bogyószínükben, az őszi lomb színeződésében, valamint a vitorla szőrözöttségében térnek el egymástól (NÉMETH 1967). A szőlőfajták különböző színvariánsai feltehetően bizonyos környezeti és termesztési hatásokra alakultak ki, létrehozva fehér, fekete, piros, rózsaszín, kék, zöld és szürke bogyószíneket. A fajtákat elsősorban meghatározó bogyószín kivételével megkülönböztetésük nehéz. A Gohér fajtacsoport molekuláris elemzése a magyar szőlőfajták jellemzésére alkalmazott mikroszatellit markerekkel sem mutatott különbséget a fajták között (GALBÁCS és mtsai 2007).

A Furmint fajtacsoport származása ismeretlen, s ezt illetően nagyon megoszlanak az ampelográfusok és nyelvészek véleményei. A természetes rokonságot figyelembe véve feltételezhető, hogy a Furmint a Földközi-tenger mellékéről, a Balkán félszigetről, a balkáni úton került a korábban Magyarországhoz tartozó Szerémségbe, a mai horvát Moslavinába. Lehetséges viszont, hogy szerémségi bennszülött fajta. Arra nincs biztos adatunk, hogy nagymérvű elszaporítása Tokaj-hegyalján melyik századra tehető. A természetes rendszer szerinti besorolása *Vitis vinifera* *convarietas pontica*, *subconvarietas balcanica*, *provarietas mesocarpa*, *subprovarietas hungarica*. Magyarországon a Furmint fehér fajtának a történelem során mindig meghatározó szerep jutott. Tipikus regionális fajta, hiszen gyakorlatilag csak Magyarországon, Szlovéniában és Horvátországban termesztik (MÁJER 2007). A Fehér furmint az ország minden minőségi borvidékén megtalálható tiszta telepítésben. Legnagyobb tömegben Tokajhegyalja területén telepítették, gyakran a Hárslevelűvel vegyesen. A Piros és a Változó furmint nagyon ritka a borvidékeken, de fajtagyűjteményekben még megtalálható (NÉMETH, 1967, 1970).

A Gohér magyar eredetű szőlőfajtacsoport, számos társneve is erre utal. Egyike a legrégebben termesztett fajtáinknak. A természetes rendszer szerinti besorolása a Furminthoz hasonlóan: *Vitis vinifera* *convarietas pontica*, *subconvarietas balcanica*, *provarietas mesocarpa*, *subprovarietas hungarica*. Fajtái: Piros, Fehér és Változó Gohér. Kötött talajú szőlőinkben szórványosan mindenütt előfordult éppúgy, mint a Duna-Tisza közti homoki szőlőkben. Ma már tiszta telepítésben nem található. Külföldön nincs termesztésben (NÉMETH, 1967, 1970).

1.3. A szőlőlevél szöveti szerkezete

A **levélkezdemények** keletkezését a felület alatti második sejtréteg periklinális osztódása vezeti be, amit követ a mélyebben fekvő rétegek osztódása. Röviddel kialakulása után a levélkezdemény háromfelé ágazik, a két oldalsó ágból lesz a két pálya, a középső ágból pedig a levélnyél és a levéllemez. A levélkezdeménynek először a tengelyrésze alakul ki (nyél és középer), majd ettől laterális irányban halad a lemez fő oldalereinek kialakulása. A levéllemez többi része aztán interkaláris növekedéssel alakul ki. A gyarapodásból legkevésbé veszik ki részüket a protoderma rétegek, közepesen a szivacsos parenchima anyarétege, legerősebben az oszlopos parenchima anyarétege vastagodik meg.

A protoderma fejlődése során a sztómák kialakulása fokozatosan történik. Már a 2 mm szélességű levélkezdeményen lehetséges sztómaalakulás. A 7-10 cm szélességű levelekben pedig a sztómák száma megközelítheti az 500-at. A továbbiakban felületegységenkénti sztómaszám csökken, mivel az új sztómák keletkezése nem tart lépést a felületnövekedéssel.

A **levélnyél** többé-kevésbé hengeres, adaxiális oldalán kisebb-nagyobb barázdával. Belső szerkezetére nézve unifaciális, vagyis a kollaterális nyílt edénynyalábok körben helyezkednek el benne, kifelé fordult háncsrésszel. Belső szimmetriájára nézve bilaterális. Kívül epidermisz borítja, amely szórványosan sztómákat is tartalmaz. Az epidermisz alatt klorenchimatikus réteg helyezkedik el, amely helyenként egyrétegű, máshol 4-5 sejtrétegűre vastagodik. Alatta sarkos kollenchimát találunk összefüggő gyűrűben, vagy helyenként megszakítva. Az ezen belül következő parenchimában helyenként antocián tartalmú sejtek találhatók. Ebbe a parenchimába ágyazva adaxiálisan benyomott ellipszis mentén helyezkednek el a szállítónyalábok. Az adaxiális barázda két oldalán a nyalábok körén kívül két kisebb számfölötti edénynyaláb képződik, farészükkel a szimmetriasík felé fordulva. A nyalábok külső oldalán fejletlen hánckorona található. A nyalábok körén belül elhelyezkedő parenchima teljesen bélszövetszerű. Az epidermisz alatti kollenchimaréteg csak kétoldalt, a levéllemez csatlakozásánál szakad meg.

A kiágazó erek fokozatosan mind kisebbek, és kevésbé domborodnak ki a levél fonákán. A végsők teljesen a levéllemez szövetébe vannak ágyazva, és már csak egy vékony nyalábból állnak, amelynek farésze a levél színe felé néz. A végső erecskék részben egymással anasztomizálnak, érhalózatot alkotnak, részben pedig szabadon végződnek. A legkisebb eret is parenchimatikus nyalábhüvely övezi. A nyalábhüvelyhez alul és felül, hasonló felépítésű nyúlvány csatlakozik, amely a két epidermiszt összekapcsolja.

A **levéllemez** tipikus dorzivenrális szerkezetű, amint az a legtöbb kétszikű növényre jellemző. Az érmezők fölött a felső epidermiszt 5-6 szögletű sejtek alkotják meglehetősen egyenes oldalfalakkal, az alsó epidermisz sejtjei hasonló alakúak, de oldalfalaik többé-kevésbé íveltek vagy kanyargósak. A felső epidermiszben sztómákat általában nem találunk, csak néhány fordul elő a nagyobb erek mentén. A gázcsereenyíások az alsó epidermiszben sűrűn helyezkednek el. A levéllemezben az erek mentén buzogány kristályokat, az erek közötti részben pedig rafidokat tartó sejtek alakulnak ki.

A sztómák között három típust különböztethetünk meg: 1. erős belső kutikulaléces, 2. gyenge belső kutikulaléces és a 3. belső kutikulaléc nélküli sztómákat. A levél felszínéhez viszonyított helyzetük szerint megkülönböztethetünk szintben álló, besüllyesztett és kiemelkedő sztómákat. Általánosan elterjedt a szintben álló típus, de azokkal vegyesen süllyesztett sztómák is gyakoriak lehetnek. A kiemelkedő sztómák alatt a melléksejtek többé-kevésbé összezáródhatnak, így nem biztos, hogy növelik a transzspirációt. A levélfogakon réses hidatódák is vannak.

A levél szerkezete nagymértékben függ az uralkodó fény-, nedvesség- és hőviszonyoktól, valamint a talaj összetételétől. Közismert tény, hogy az árnyékban nőtt szőlőlevél mezofillumuma sokkal fejlettebb, mint a fényben nőtt levélé.

A levélnyalábok száma szőlőnél rendszerint 5, de esetenként 4 és 9 között változhat. A levélnyalábok mind külön-külön erednek a szárban, eloszolva a szár kerületének megközelítőleg kétharmadán. A levélnyalábok száma a hajtások alapi részén kevésbé állandó, és itt fajkülönbségek is felismerhetők (KOZMA 2002).

1.4. Fenolos anyagok a növényvilágban

A **fenoloidok** a növényvilágban nagy jelentőséggel bírnak. Az anyagtörzs elnevezése arra utal, hogy az ide tartozó vegyületek elsődlegesen fenolos jellegűek, vagyis egy aromás gyűrűhöz erősen savas karakterű (fenolos) hidroxil csoport kapcsolódik. A törzset alkotó molekulák szintézisének kezdete (sikimisav út) a növényekben univerzális, s ezen az úton képződik az aromás származékok óriási száma (3. WEBOLDAL).

A **flavonoidok** a növényvilág egyik legváltozatosabb szerkezetű és leggyakrabban előforduló fenolos természetű vegyületcsoportját alkotják (több mint 2200 flavonoid molekula ismert). Rendszerint a sejtmedvében oldva vannak jelen. Kemotaxonómiai jelentőségük bizonyítja, hogy jelenlétük különösen jellemző a Polygonaceae, Fabaceae, Apiaceae és

Asteraceae családokra, de szinte az egész növényvilágra jellemző valamilyen flavonoid származék. Rezisztenciafaktorok, több vegyület vírus- vagy baktérium- és gombaellenes hatást mutat, így a fertőzések elleni védelemben fontos szerepük van. Szabadgyök-scavenger vagy antimutagén hatásúak. Ezzel kapcsolatos az UV-B sugárzás káros hatásainak kivédésében betöltött szerepük. Különösen az epidermiszsejtekben lokalizálódott flavonoidoknak van kiemelt jelentőségük. Növekedéselettani szerepük is ismert, mivel számos flavonoid koncentrációtól függően serkenti vagy gátolja a növekedést (KOCSIS ÉS JAKAB, 2007). A flavonok családjának szerkezeti változatai a C-gyűrű átalakulásaiból származtathatók: OH-csoport kialakulásával dihidroflavonolok, abból flavonok, flavonolok képződhetnek. (3. WEBOLDAL).

A fenolos anyagok nemcsak a növény számára fontosak, hanem a fogyasztó szervezetekre is jótékony hatással vannak. Tulajdonképp nem tápanyag-komponensek, viszont elengedhetetlenül szükségesek. Szent-Györgyi Albert 1936-ban P-vitaminoknak nevezte őket (a „P” itt a permeabilitásra utal, a naringenin és a rutin csökkenti a hajszálerek törékenységet), illetve C2- vitaminoknak (a C-vitamint stabilizáló hatás miatt). A flavonoidok meglehetősen eltérő fizikai illetve kémiai tulajdonsággal rendelkeznek, ezt jól tükrözi sokoldalú gyógyászati felhasználásuk is. Valószínűleg a keringési rendszerre gyakorolt hatásuk a legfigyelemreméltóbb, az emésztőrendszer görcseire vagy az érelmeszesedésre kifejtett hatásuk mellett. Legjelentősebb forrásuk a szőlő mellett az árnika (*Arnica montana*), amelyet gyakran használnak keringési problémákra, illetve a medvehagyma (*Allium ursinum*), amelyet emésztési rendellenességek esetén alkalmaznak (4. WEBOLDAL).

1.5. A napsugárzás hatása a növényekre

A bioszféra számára az egyedüli jelentős energiaforrás a Nap sugárzása. Ennek több mint a fele fénysugárzás (45-50%), kisebb része hősugárzás (40-45%) és néhány százaléka (1-5%) ultrabolya sugárzás. Az UV fény a D vitamin kialakulásához szükséges, de biológiai szempontból roncsoló. Háromféle fénytípust különböztethetünk meg: közvetlen (a Napból érkezik, melegítő hatású, a párologtatást fokozza), elnyelt (a színt határozza meg) és szórt fény (a sokszorosan visszavert fény, sok sárga és vörös sugár van benne és a fotoszintézishez nélkülözhetetlen) (5. WEBOLDAL).

A növények a nap UV-B sugarainak 3-6%-át (GAO és mtsai 1996; YANG és mtsai 1995) illetve akár 10-40%-át képesek visszaverni, köszönhetően a hamvas, szőrös levélfelületnek (ROBBERECHT és CALDWELL 1980), míg a sugárzás 0,1-5%-át a levél bőrszövete bárhol

átengedi (ROBBERECHT és CALDWELL 1980; YANG és mtsai 1995). Az UV-B sugárzás növekedése esetén, növekedhet az átengedett mennyiség, ha nincs a visszaverődést növelő tényező a levél felületén. A különböző növényfajok anatómiailag eltérően reagálnak az UV-B sugárzásra: NAGEL és mtsai (1998) illetve BORNMAN és VOGELMAN (1991) a levélvastagság növekedéséről számoltak be, míg KAKANI és mtsai (2003) megfigyelték, hogy a levélvastagság csökkent, viszont a paliszád parenchima mennyisége nőtt gyapokban. A megfigyelt vastagodást a mezofillum szivacsos parenchimájának további hozzáadódása eredményezte. Ezen fajok UV-B sugárzás által megvilágított leveleinek paliszád sejtjei szélesebbek és rövidebbek voltak. WESTON és mtsai (2000) a paliszád parenchima fejlődését tanulmányozták az *Arabidopsis thaliana* (lúdfű) vad típusában illetve kék fény érzékelésére képes mutánsában, magas fényintenzitás mellett. A második, de még a harmadik paliszád parenchima réteg is átalakult a kiegészítő UV-B sugárzás hatására a kék fényre érzékeny mutánsokban. A sejtszám megnövekedésével megnő a sejtfalak felülete, amely megakadályozza, hogy a káros UV-B sugárzás elérje az abaxiális, aktívan fotoszintetizáló mezofillumot. A megnövekedett sejtszámú paliszád parenchimában megnő a levegő - sejtfal felület, amely jelentősen befolyásolja a beeső fény visszaverődését (KNIPLING 1970) és áteresztését levelek felületén (BORNMAN és VOGELMAN 1991). Erős UV-B sugárzásnak kitett érzékeny rizskultúrában a 15-16 kJm⁻²/nap sugárzás lerombolta a levelek sejt szerkezetét illetve a kloroplasztiszokban elhelyezkedő gránumokat, miután szétszakította azok kettős membránját (CASSI-LIT és mtsai 1997). Kukorica levelekben a 9 kJm⁻²/nap sugárzás a levél disztális régiójában a színi epidermiszréteg összeomlását és számos fajnál a kloroplasztiszok térfogatának részleges csökkenését okozta (SANTOS és mtsai 1993; FAGERBERG és BORNMAN 1997). Az erős sugárzás más változásokat is okozott: több levélszőr növekedett az abaxiális levél felületen (BARNES és mtsai 1996), a xylem csövek száma és átmérője csökkent, csökkent a gázcsere nyílások száma és torz lett a levél felület (LINGAKUMAR és KULANDAIVELU 1993). Az UV-B sugárzásnak ezen negatív következményei a levél szerkezetre, megakadályozhatják a CO₂ felvételét és ezáltal az asszimilátum termelést is.

Kísérletünkben természetes körülmények között nőtt leveleket vizsgáltunk, ahol a fényviszonyok eltérnek a laboratóriumi körülmények között létrehozható, mesterséges fényviszonyoktól. Ennek megfelelően a fent részletezett UV-B sugárzás levélanatómiát módosító hatására kevésbé számítottunk. Szőlőleveleink természetes napsugárzásban, extrém UV sugárzástól mentesen nevelkedtek és alkalmazkodtak a természetben jelentkező napsugárzáshoz.

II. CÉLKITŰZÉSEK

A szőlő olyan régi értékes növénye az emberiségnek, hogy már a Bibliában is találkozhatunk vele. A gyümölcse és a belőle készült zamatos borok népszerűsége a mai napig töretlen, apró magjainak kivonata pedig antioxidáns flavonoidjainak köszönhetően Európában az egyik legkedveltebb gyógykészítmény. A növény leveleit régóta használják gyógyászati és néhol étkezési célokra. A levelek szerkezetileg, valamint egyes anyagcseretermékeikkel az egyik legfontosabb életfolyamat, a fotoszintézis optimális működéséhez járulnak hozzá.

Kutatásunk célja öt őshonos szőlőfajta - Furmint fehér, Furmint piros, Gohér fehér, Gohér piros, Gohér változó – leveleinek napfényhez való alkalmazkodásának vizsgálata levélszövettani és fitokémiai szempontból, illetve a levélszerkezet fajta- fajtacsoport bélyegeinek megfigyelése.

Ahhoz, hogy a szerkezetbeli illetve flavonoid-tartalombeli különbségekre fényt tudjunk deríteni, két különböző módszert alkalmaztunk. A fajták leveleiből származó minták egyik részét műgyantába ágyasztuk és rotációs mikrotóm segítségével metszettük, a kiértékelés fénymikroszkóp alatt zajlott. A vizsgált levélszövetek vastagságát mértük és a teljes levéllemez szélességéhez viszonyítva százalékosan értékeltük. A fajtákra jellemző levélnyél, elsörendű ér és levéllemez keresztmetszetek tüzetes megfigyelésével fajtabélyegeket kerestünk, amelyekre elsősorban a környezeti hatások által kevésbé befolyásolt levélnyél és levélér szállítószövelei esetén számítottunk. A levéllemez - mely szerkezetileg könnyen reagál és változik bizonyos külső hatásokra - mennyiségi és minőségi értékelésével arra kerestük a választ, hogy van-e a napnak kitett illetve a félárnyékban nevelkedett levelek között jelentős szerkezetbeli eltérés.

A minták másik részét frissen felhasználtuk, kézzel metszettünk és epifluoreszcens illetve lézer szkennig mikroszkóp alatt vizsgáltottunk. A másodlagos anyagcseretermékek közül a flavonoidok hivatottak a fénystressz kivédésére. Kézzel készített metszeteinkben a flavonoid tartalom kimutatása azok UV, kék fény, illetve lézer fénnel való gerjeszthetőségén alapult, megfelelő reagens használatával. Ebben az esetben a napos illetve félárnyékos levelek közötti eltérő flavonoid-tartalom igazolása volt a cél.

Kutatásunkban tehát részben taxonómiai, részben élettani megfigyeléseket tettünk, amelyekkel a fajták leveleinek szerkezetét és flavonoid-mintázatát, valamint napfényhez való alkalmazkodását vizsgáltuk.

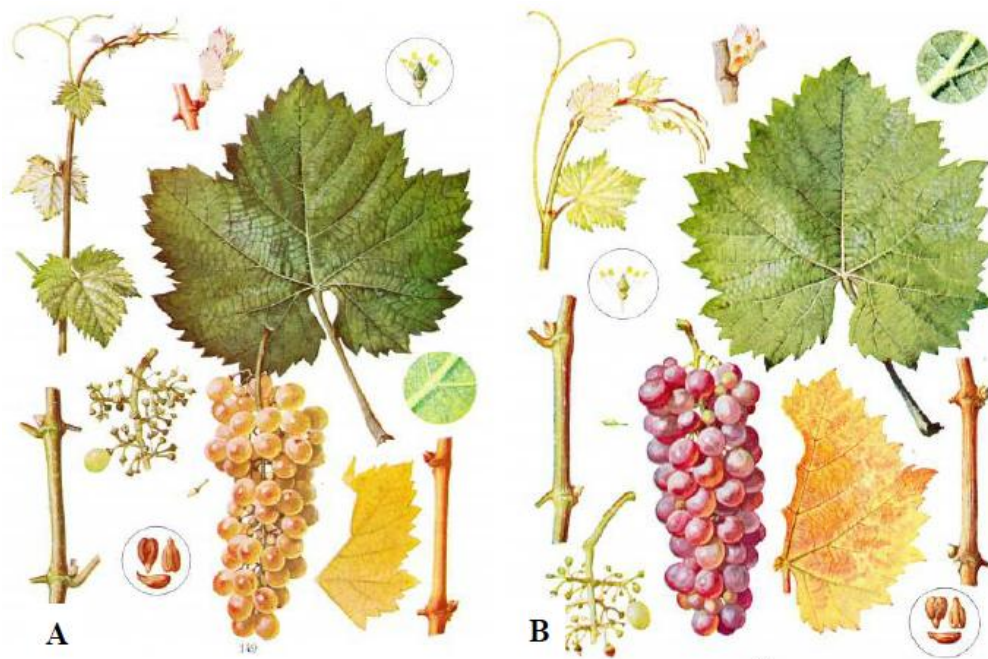
III. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A vizsgált szőlőfajták

Kutatásunk során vizsgáltuk a Furmint fajtacsoportba tartozó két fajtát: a Furmint fehérét és Furmint pirosát illetve a Gohér fajtacsoportba tartozó három fajtát: Gohér fehérét, a Gohér változót és a Gohér pirosát. A növényi anyag a Pécsi Tudományegyetem Szőlészeti és Borászati Intézetének fajtagyűjteményéből származik, amely 1952-ben létesült Pécsen. A fajtagyűjteményt nyilvántartják a Világ Szőlőfajta Gyűjteményének Katalógusában (World List of Grapevine Collection). Legfőbb feladata a genetikai alapanyag megőrzése, ezért a Génbanki Munkabizottság génbankká nyilvánította. Az ültetvény felújítása 1985-től folyik, a génbank folyamatosan bővül. A vizsgált szőlőfajták leveleinek jellemzői NÉMETH M. (1967) Ampelográfiai Albuma alapján alább olvasható (1., 2. ábra).

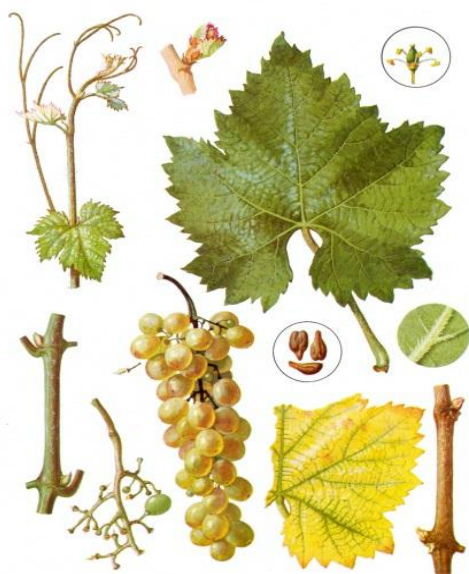
A Furmint fajták leveleinek leírása: A levéllemez szabálytalan alakú, középnagy, olyan hosszú, mint széles, hullámos, fűzőld, határozatlan merevségű, nehezen szakadó, alig fényes, zsíros, tagolatlan vagy karéjos; ritkább típusainál hasadt - osztott. Karéjainak száma 0, ill. 2-5; oldalöbleinek száma 0, ill. 1-4; csúcsa tompaszögű; vállöble középmező, határozatlan alakú, alapját a lemez szövete határolja; oldalöblei nyíltak, keskenyek, alapjuk hegyben végződő; széle fűrészes-csipkés, határozatlanul bemetszett; éle csupasz; színének felülete pókhálós, sima-hólyagos; fonáka szőrösödő és gypjas. A nyél pókhálós, barnászöld, mintázatlan, hengeres, rövid, a középső érhez viszonyítva aránylag rövid. A nyél hossza 8,2 (5,5-11,5) cm. A Fehér furmint levelének elsőrendű erei zöldek, a bogyó nem színeváltó és fehér. A levél őszi színeződése sárga. A Furmint piros levelének elsőrendű erei zöldek, a bogyó nem színeváltó és piros. A levél őszi színeződése sárga alapon pirosfoltos.

A Gohér fajták lombleveleinek általános jellemzése: a levéllemez szabálytalan alakú, középnagy, széles, hullámos, határozatlanul merev, nehezen szakadó, zsíros, alig fényes, tagolatlan vagy karéjos, karéjainak száma 0, ill. 2-5, oldalöbleinek száma 0, ill. 1-4, csúcsa tompaszögű, vállöble középmező, határozatlan alakú, alapját a lemez szövete határolja, oldalöblei nyíltak, keskenyek, hegyben végződők, széle fűrészes-csipkés, határozatlanul bemetszett, éle csupasz, színének felülete pókhálós, sima-hólyagos; fonáka szőrösödő és gypjas, őszi színeződése sárga. A nyél pókhálós, barnászöld, mintázatlan, hengeres, rövid, a középső érhez viszonyítva rövid. A nyél hossza: 8,6 (6,0-12,5) cm.

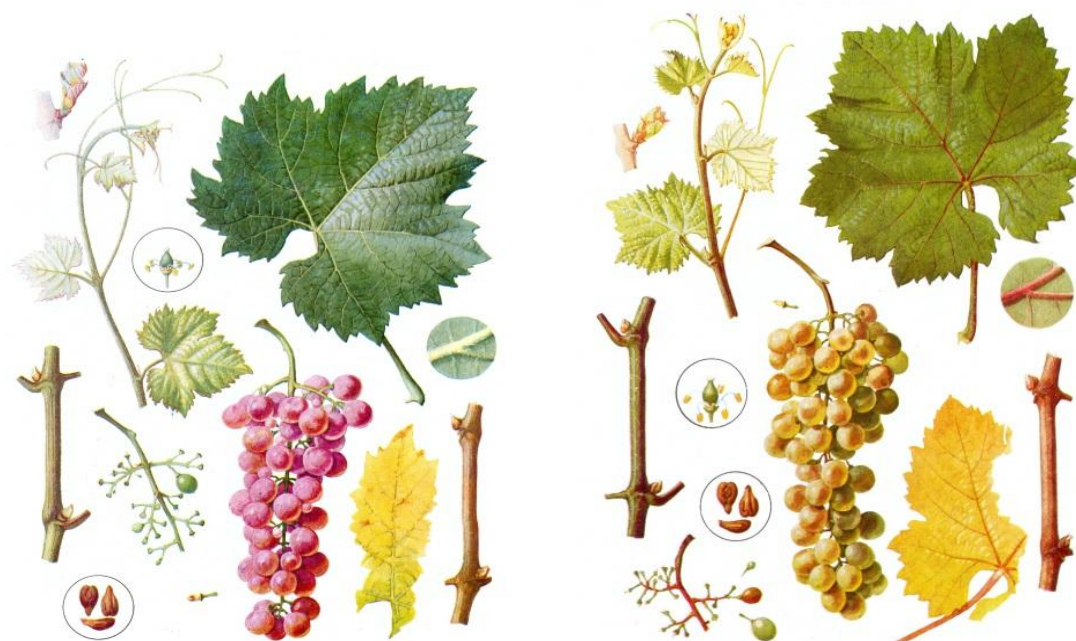


- 1. ábra: Furmint fajták: A. Fehér Furmint. B. Piros Furmint.** A Furmint hasonnevei mind a fehér fajtára vonatkoznak: Bihari boros, Demjén, Formont, Furmin, Gemeiner, Görin, Kéknyelű, Som, Szalai, Szegszőlő, Szigeti, Zapfner, Szerbiában, Horvátországban, Szlovéniában: Posipel, Moslavac bijeli; Németországban: Mosler; Franciaországban: Tokay; Olaszországban: Furmint bianco; Romániában: Som, Szigeti, Biharboros, Tokayer.

2. ábra: Gohér fajták



Fehér Gohér: A levél erezete zöld, a bogyó fehér. A levél őszi színeződése sárga. Alfajtája csak a Fehér gohérnak ismert (Sárga gohér és Zöld gohér). Hasonnevei: Aranyos sárga, Auguster, Ágas bajor, Ágas szőlő, Bagoly gohér, Bajor, Buhér, Cserbajor, Cserszőlő, Durbancs, Eleinérő, Fehér góhér, Góhér, Guhér, Hulló bajor, Jókorérő, Kolontár, Koránvaló, Körteszöllő, Tódor, Török gohér, Zöld gohér.



Piros Gohér: A levél erezete zöld, a bogyó nem színeváltó és piros. Bajor piros, Bajor veres, Bajor vörös, Gohér piros, Gohér veres, Gohér vörös, Piros bajnár, Piros bajor, Piros gohér.

Változó Gohér: A levél erezete vörös, a bogyó színeváltó (zöldből vörösre át fehérre). Hasonnevei: Színeváltó gohér, Színeváltó góhér, Színváltó gohér, Változó gohér.

A felsorolt fajták esetén fajtánként 3-3 levelet gyűjtöttünk napnak kitett és félárnyékos helyekről. A mintagyűjtés időpontja nyár dereka, 2013. július 08. A minták gyűjtése délelőtt 10.00 óra körül történt, amikor a napos oldali levelek az észak-déli sorvezetésnek megfelelően keletről egész délelőtt teljes napsugárzást kaptak. A félárnyékos leveleket a lombfal közepéről gyűjtöttük.

3.2. Alkalmazott módszerek

3.2.1. A napsugárzás erősségének mérése

A napos és félárnyékos leveleket érő napsugárzás erősségét, mint fotoszintetikusán aktív sugárzást (PPFD értéket) PAR/LAI ceptométerrel (Model P-80 AccuPAR, Decagon Devices, WA, USA) határoztuk meg a nap folyamán, reggel 7:58-tól este 7:50-ig. A napos leveleket a délelőtt folyamán, 9-12 óráig, erős, $1800-2000 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sugárzás érte, míg a félárnyékos leveleket ennek negyed, illetve hatod része, $300-500 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a nap folyamán.

3.2.2. Műgyantás metszéstechnika – fénymikroszkóp

A műgyantás metszéstechnika segítségével arra szeretnénk volna választ kapni, hogy találunk-e a levélszerkezetben a fajtákat megkülönböztető bélyegeket és van-e a napos és a félárnyékos levelek között szerkezetbeli különbség. A levéllemez, elsőrendű eret is tartalmazó közepéből kis téglalapot metszettünk ki, illetve a levélnyelek közepéből metszettünk le darabokat, amelyeket a felhasználásig, alkohol, glicerin, víz 1:1:1 arányú keverékében tároltuk.

A műgyantás metszéstechnika lépései:

Dehidratálás: Először a mintákat 50%-os alkoholba helyeztük 12 órára, majd 70%-osba 24 órára és végül 96%-osba 3 órára.

Infiltrálás: Az infiltráló közeget (100ml Technovit 7100 + 1g hardener I.) 15 percig rázattuk, majd kis üvegedényekbe egyenletesen kiöntöttük és belehelyeztük a mintákat, amiket végül 24 órán keresztül a hűtőszekrényben tároltunk.

Blokköntés: A minta számának megfelelő mennyiségű infiltráló folyadékot illetve hardener II.-t összekevertünk, majd minden blokkba öntöttünk belőle. Ezután belehelyeztük a blokkokba a mintákat és eligazítottuk őket úgy, hogy teljesen függőlegesen álljanak. Megvártuk, hogy a folyadék szálat húzzon (kb. fél óra), ilyenkor már elég szilárd ahhoz, hogy a minták ne mozduljanak el benne és a termosztátba helyeztük őket 40 °C-ra 1 órára.

Ragasztás: A talpakat, amelyek a minta kifordításában voltak a segítségünkre a mintákra illesztettük, majd ragasztót (Technovit 3040 por + Technovit 3040 folyadék) öntöttünk a belsejükbe. 10 perc elteltével kiszedtük a mintákat a blokkokból.

Metszés: A mintákat 10 percre a 70 °C-ra felmelegített termosztátba helyeztük, majd pengével eltávolítottuk a felesleges részeket. Ezután az alkohollal tisztított tárgylemezekre desztillált vizet cseppentettünk, majd ebbe fektettük bele a rotációs mikrotóm (Anglia Scientific 325) segítségével készített metszeteket. Végül a tárgylemezekre rászárítottuk a metszeteket 80 °C-on 2 órán keresztül.

Festés: Első lépésként a metszeteket 0,02% toluidinkék oldatba helyeztük 10 percre, majd desztillált vízbe 3 percre. Ezután kétszer egymást követően 96% alkoholba 3 percre, majd izopropanol 2-be 5 percre. Végül xylol 3-ba 5 percre, és ezt követően xylol 4-be 10 percre.

Lefedés: A xylolos metszetekre egy csepp kanadabalzsamot tettünk, majd ráhelyeztük a fedőlemezt, úgy, hogy buborék nem maradt alatta és végül hagytuk őket három napig száradni.

A megszáradt metszeteket fénymikroszkóp (Nikon Eclipse 80i) alatt vizsgáltuk. Fotókat készítettünk a SPOT Basic 4.0 programmal illetve méréseket végeztünk az Image Tool 3.0 program segítségével. A mért értékeket Microsoft Office Excel 2010 programmal dolgoztuk fel, Student-féle t-próbát alkalmaztunk a szignifikáns különbségek feltárására.

3.2.3. Kézi metszéstechika – epifluoreszcens és lézer szkennning mikroszkópia

A kézi metszéstechika esetében a napnak kitett illetve a félárnyékban növekedett levelek közötti eltérő flavonoid tartalom igazolása volt a cél. Ennél a módszernél, hasonlóan a műgyantás metszéstechikához a levéllemezből készített téglalap alakú minták illetve a levélnyelek közepéből lemetszett darabok álltak rendelkezésünkre azzal a különbséggel, hogy ezeket frissen felhasználtuk.

A levéllemez és levélnyél mintákból kézzel, vékony keresztirányú metszeteket készítettünk, majd ráhelyeztük őket tárgylemezre. Ezután közvetlenül a szövetre 0,1%-os (w:v) Naturstoff-oldatot (2-aminoetil-difenil bórsav pH 6.8-as foszfát-pufferben) csepegtettünk és fedőlemezzel lefedtük. A metszeteket epifluoreszcens (Nikon Eclipse 80i mikroszkóp Osram HBO 100 W/2 higanylámpával) mikroszkóp alatt vizsgáltuk. UV fénnel (UV excitáció: 320-370 nm) és kék fénnel (BL (blue light) excitáció: 420-480 nm) is készítettünk mikrofotókat. Ebben az esetben szintén a SPOT Basic 4.0 illetve az Image Tool 3.0 programokat használtuk a további munkához.

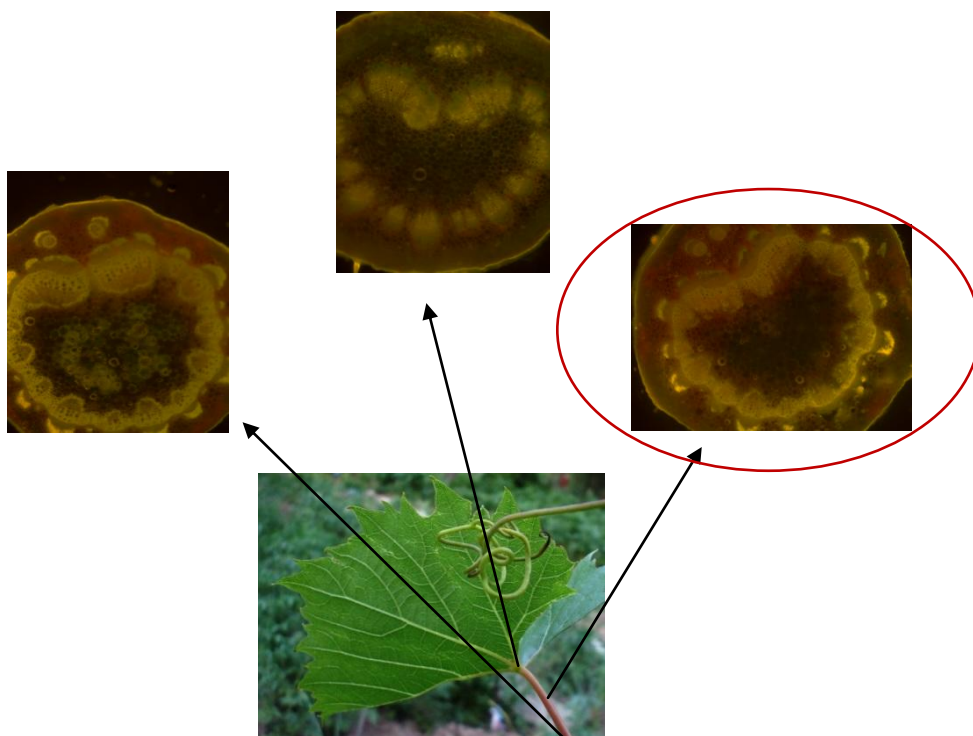
A lézer scanning mikroszkópos (Olympus FV1000 LSM, Olympus Fluoview 3.1.) fotók a Szegedi Biológiai Központ, Mikroszkópos Sejtanalízis Laboratóriumában készültek.

IV. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Szőlőfajták levélnyeleinek jellemzése

A levélnyel feladata elsősorban a levéllemez rögzítése és annak térbeli megtartása, valamint a tápanyagok továbbítása. Funkciójának megfelelően alakul szöveti szerkezete. Első lépésként a levélnyeleket a szárhoz közel eső (levélalapi rész), középső, valamint levéllemezhez való csatlakozásánál (vállból közelében) is megmetszettük (3. ábra). A vállból közelében a nyalábok elmosódnak, míg a levélalapi rész nem maradt mindig a levélasztott levélen teljes mértékben, ezért a levélnyel közepéről vett minták bizonyultak a legalkalmasabbnak az elemzésre, továbbá ezeknél a metszeteknél lehetett a legkönnyebben vizsgálni a szerkezeti felépítést. A kiválasztott fajták levélnyelei függetlenül attól, hogy napfénynek kitett vagy félárnyékban növekedett a levél, szerkezetileg nem különböztek.

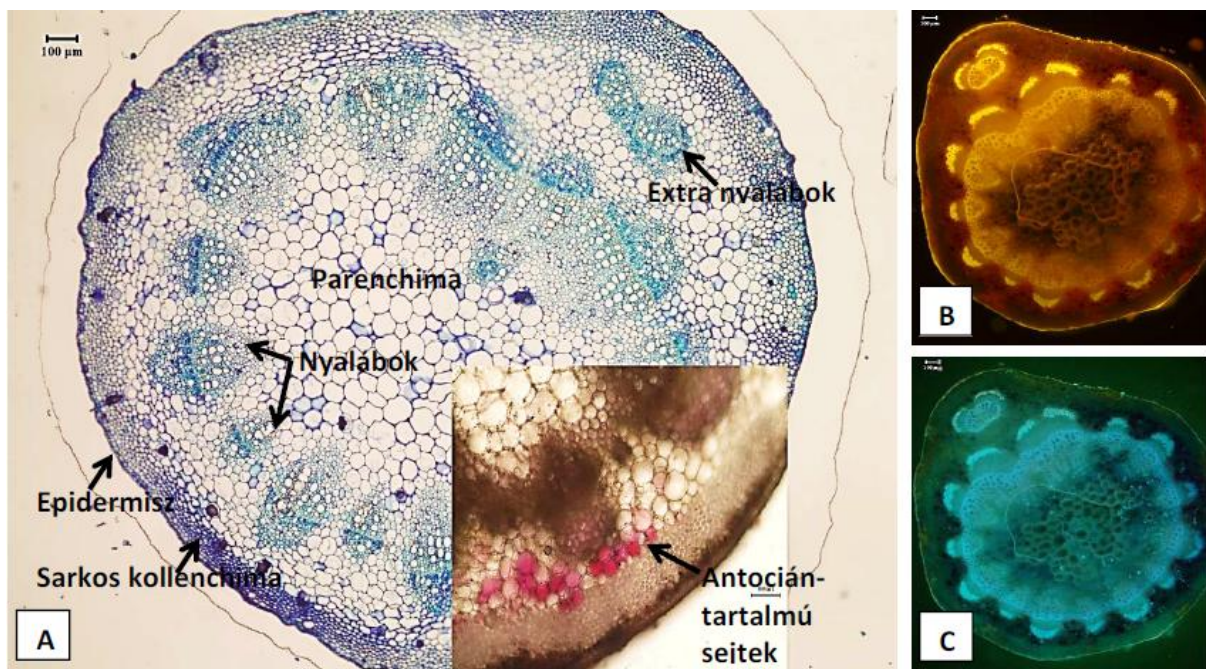
3. ábra: A levélnyel három különböző részéről származó metszetek.



A fajták levélnyel szerkezetéről a következőket állapítottuk meg (4. ábra): a bilaterális belső szimmetriájú nyél hengeres szerkezetű. Az apró sejtekből álló epidermiszréteg alatt összefüggő 8 (Furmint fehér) - 14 (Gohér fehér) sejtrétegű sarkos kollenchimát találunk. A sejtek kicsivel nagyobb méretűek az epidermiszsejtekénél, faluk vastagodott, hogy a levéllemez tartását és rögzítését biztosítsák. A kollenchimatikus sejtrétegek jól elkülönülnek a

parenchimatikus sejtrétegektől. A parenchimatikus rétegben a sejtek nagyobb méretűek, vékony falúak, közöttük antocián tartamú sejteket is felfedezhetünk. Ebben a parenchimában helyezkednek el a szállítónyalábok egy ellipszis mentén. A nyalábok szerkezetileg kollaterális nyílt nyalábok, általában a nagyobb méretűek a kisebbekkel váltakoznak. Számuk a Furmint fajtacsoport esetében átlagosan 20, míg a Gohér fajtacsoport esetében átlagosan 25. Ez a szignifikáns különbség adódhat abból is, hogy a begyűjtött Gohér fajták levélgyeinek területe ($7.749.000 \mu\text{m}^2$) közel 25 %-al nagyobb volt, mint a Furmint fajtáké ($6.243.111 \mu\text{m}^2$), ezáltal bennük több kollaterális nyílt edénnyaláb elfért. A gyűrűt alkotó nyalábokon kívül két extranyaláb is képződik, farészükkel a szimmetriasík felé fordulva. A nyalábok külső oldalán megfigyelhetjük a hánckoronát, amelynek szilárdító szerepe van.

4. ábra: A levélgyél szerkezeti felépítése: A. A Furmint fehér fajta levélgyél keresztmetszetének fénymikroszkópos képe. B. C. A Furmint fehér fajta levélgyél keresztmetszetének kék fényben (B) és UV fényben (C) készített mikrofotója. (Méretarány: $100 \mu\text{m}$)



Az ábrán jól látszik az összefüggő 8-10 sejtrétegű sarkos kollenchima, illetve megfigyelhetőek a kollaterális nyílt edénnyalábok. Az edénnyalábok száma könnyen meghatározható különálló hánckoronájuk segítségével, ezek elsősorban a kék (4. B. és 6. ábra), illetve UV fényvel készített fotókon láthatók (4. C. és 5. ábra). Kék fényben intenzíven, sárgán, UV-ben kéken fluoreszkálnak. A fénymikroszkópos képen a kollenchima- és

parenchima réteg határánál kristálytartó sejteket figyelhetünk meg, amik a levélnyelet elsődleges feladatában segítik.

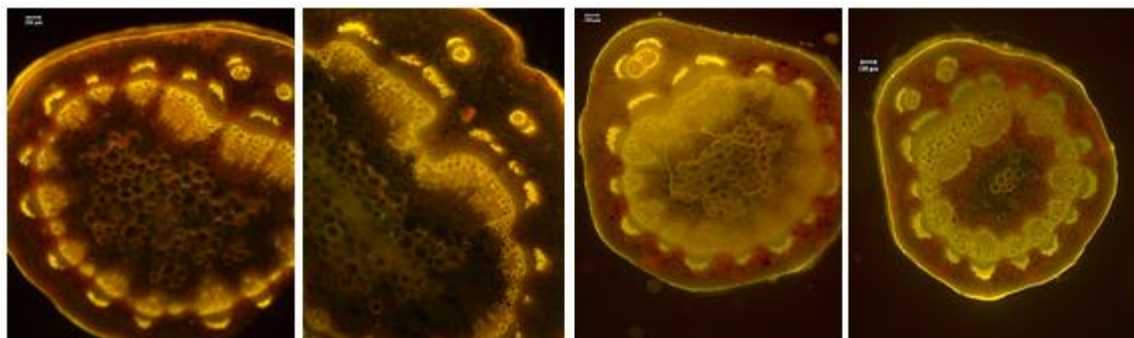
A napfénynek kitett illetve a félárnyékban nevelkedett szőlőlevelek között feltételezett szerkezetbeli és fenolos-anyagbeli különbségeket a levélnyél esetében is vizsgáltuk. Korábbi feljegyzések arra utalnak (Kocsis, 2001), hogy a levélnyélnek genetikailag eléggé determinált szerkezete van. Tapasztalataink szerint a vizsgált fajták levélnyelei között lényeges eltérés nem figyelhető meg szövettanilag, elkülönítő fajtabélyeget nem találtunk, szerkezetük megfelel id. Kozma Pál (2012) könyvében az általános szőlő levélnyél szövettanáról leírtaknak. A levélnyél szerkezetét a fényviszonyok sem befolyásolták, eltérést a napos és félárnyékos kitettségük között nem detektáltunk.

A fenolos anyagtartalom vizsgálatához a friss mintákat metszetkészítés után egyből fluoreszcens mikroszkóp alatt kék illetve UV fényrel világítottuk meg. A 4. C. és az 5. ábrán UV-fényben a szállítóelemek és hánckorona sejtfalai kéken fluoreszkálnak, a 4. B. és 6. ábrán kék fény hatására sárgán, ami feltehetően a sejtfalakban található növényi savaknak köszönhető. A növényi szövetekben jelentős kék fluoreszcencia emitter a sejtfal-poliszaharidokkal észteresített ferulasav. A sejtfal más hidroxifahéjsav származékai, mint a p-kumársav és a kávéssav csekély mértékben járulnak hozzá. A teljes napfénynek, a természetes UV-sugárzásnak kitett szabadföldi növényekben a fahéjsav származékok szintje, éppen az UV sugárzást elnyelő képességükön alapuló védő funkciójuk miatt, többszöröse az üvegházi növényekének (6. WEBOLDAL). A fluoreszkálás intenzitása a levélnyeleteken belül változóan mutatkozott, valószínűleg ahol a levélnyelet napfény érte, a növényi savak mennyisége növekedett. Mind a napos, mind a félárnyékos levélnyeleteknél találtunk ilyen intenzívebben fluoreszkáló sejtfalakat, de más elhelyezkedésben.

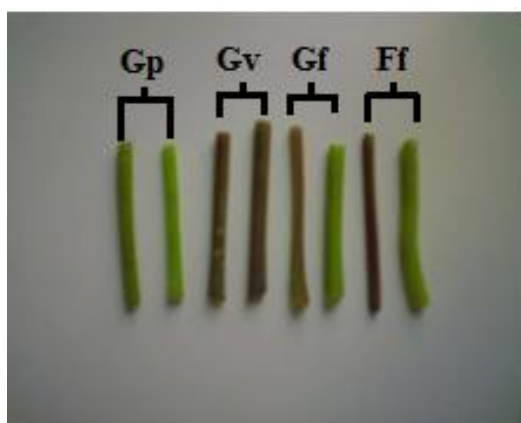
5. ábra: Levélnyél keresztmetszetek UV fényben: Furmint fehér, Gohér piros, Furmint piros. (Méretarány: 100 μ m)



6. ábra: Napnak kitett levélnyel keresztmetszetek kék fényben: Gohér piros, Gohér fehér, Furmint piros, Furmint fehér. (Méretarány: 100 µm)



További, a napsugárzás hatására kialakult változást vettünk észre a nyél antocián tartalmában, ami szabad szemmel is jól látható. Mikroszkópos metszeten a bordós színű antociánok a parenchimatikus réteg sejtjeiben halmozódnak fel (4. A. ábra). Megfigyeléseink alapján (7. ábra) a Gohér piros (Gp) esetén a napsugárzás hatására nem indult jelentős antocián szintézis a levélnyelben, ezzel ellentétben a Gohér változó (Gv) fajtánál a napos és félárnyékos levélgyekek is pirosas színűek voltak. A Gohér fehér (Gf) és Furmint fehér (Ff) fajták levélgyeke pirosas színezetű a napos leveleknél, a félárnyékosoknál zöld.



7. ábra: Szőlőfajták napos és félárnyékos levélgyekei

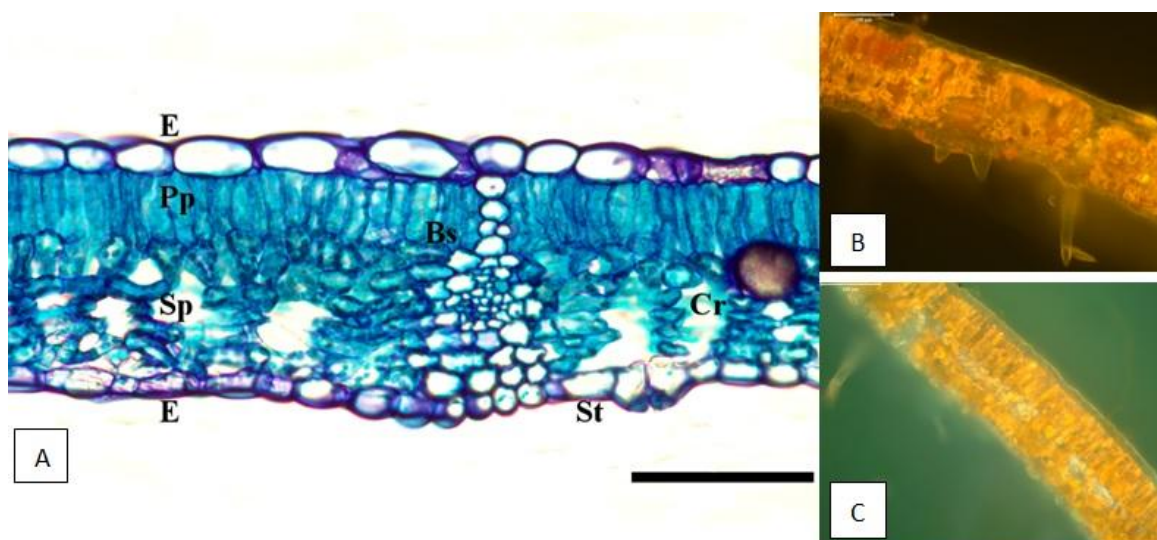
4.2. A szőlőfajták levéllemezeinek jellemzése

4.2.1. Szöveti szerkezet

Az asszimiláló alapszövetet tartalmazó, klorofillban gazdag levéllemez elsősorban a fotoszintézisért felelős. Funkciójának megfelelően szöveti szerkezete nagyban eltér a levélnyelétől. A szöveti szerkezetet főként fénymikroszkóp alatt vizsgáltuk, de felhasználtuk a kék illetve UV- fénnel készített mikrofotókat is.

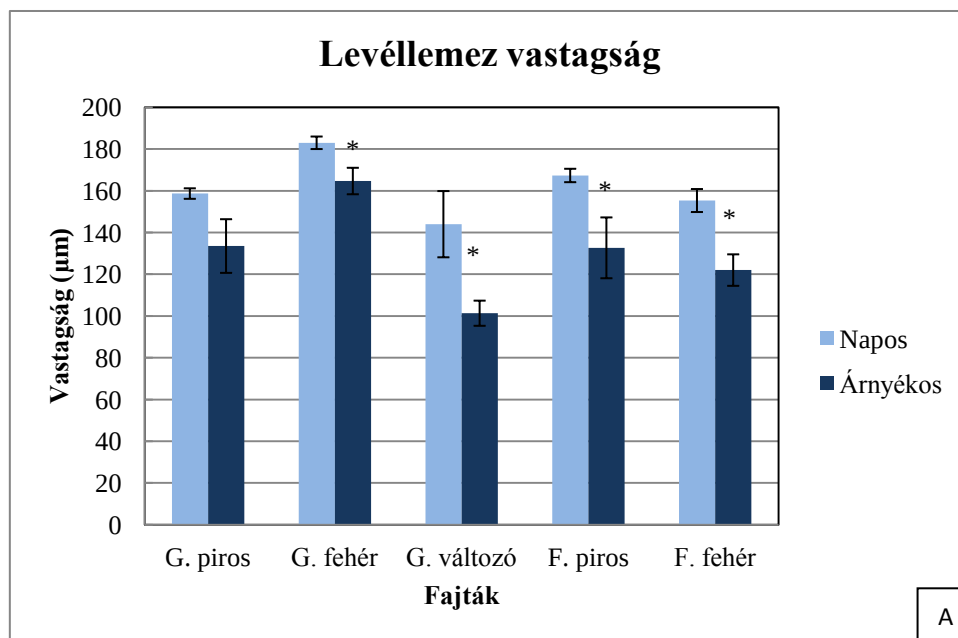
A fajták levéllemez szerkezetéről a következőket állapítottuk meg (8. ábra): A szőlőfajták levéllemezének szerkezete megfelel az irodalmakban leírtaknak (Kozma, 2012). Az egy sejtrétegű színi epidermisz alatt helyezkedik el a szintén egy sejtrétegű oszlopos parenchima, alatta található a 4-5 sejtrétegű szivacsos parenchima és az őt követő egy sejtrétegű fonáki epidermisz. A növény azt, hogy a fény mélyebbre jusson szöveteiben, több módon oldja meg. Képződnek kristályok, amelyek szórják a fényt, így biztosítva, hogy a fotoszintetikusán aktív sugarak mindenhova eljussanak. Az általunk vizsgált levéllemezekben két kristálytípust figyeltünk meg: elsősorban a levélerek mellett buzogánykristályokat (Cr), az erek között pedig rafidokat. Az erek körül kialakulnak olyan nyalábhüvelyek, amelyek kiterjednek mindkét epidermiszrétegre, ezáltal átvezetik a fényt egyik szövetből a másikba. A szőlő ilyen heterobárikus levelekkel rendelkezik. Egy anatómiai megállapítás szerint (BUCKLEY és mtsai 2011) a legkisebb erek is, amelyek a levéllemez alsó és felső felületét átívelve, bordázatként nyúlnak ki a levél felszínére, egyfajta áttetsző, finom érhálózatot alakítanak ki. Számos fafaj és bizonyos lágyszárú növények esetében – mint például a napraforgó vagy a lóbab – megfigyelhetők a nyalábhüvely kiterjedései (BSE=bundle sheat extension) az alsó és felső epidermisz rétegig. Ők alkotják a levél gáthálózatát, amely a mezofillumot számos részre (areolára) tagolja és meggátolja a levegő keresztirányú mozgását. A növények heterobárikus felépítésének funkciója egyelőre bizonytalan. Egyes vélemények szerint a nyalábhüvely nyúlványok feladata az, hogy lehetővé tegyék a fény átvezetését a levélszövet mélyebb rétegeiben található fotoszintetizáló sejtekig, ezáltal a vastagabb levelek is alkalmazkodni tudnak a szárazabb körülményekhez. Mindkét anatómiai fényszabályozó struktúra jól látszik a 8. A. ábrán.

8. ábra: A levéllemez szerkezeti felépítése: A. A Furmint fehér fajta levéllemez keresztmetszetének fénymikroszkópos képe. B. C. A Furmint fehér fajta levéllemez keresztmetszetének kék fényben (B) és UV fényben (C) készített mikrofotója. (E: epidermisz, Pp: paliszád parenchima, Sp: szivacsos parenchima, Bs: nyalábhüvely, Cr: kristály, St: sztóma) (Méretarány: 100 μ m)



A levéllemez vastagsága a napos leveleknél $144 \pm 16 \mu\text{m}$ (Gohér változó) - $183 \pm 3 \mu\text{m}$ (Gohér fehér), a félárnyékosaknál $101 \pm 6 \mu\text{m}$ (Gohér változó) - $165 \pm 6 \mu\text{m}$ (Gohér fehér) értékek között változik. Az egyes fajták esetén a félárnyékos levéllemezek átlagosan 20%-kal vékonyabbak voltak, mint a napos levéllemezek. A Gohér piros kivételével a fajták levéllemezeinek vastagsága szignifikáns különbséget mutatott (9. A. ábra). Vizsgáltuk a fajták napos és félárnyékos levéllemezeinek vastagságát egymáshoz viszonyítva. Függetlenül fajtától illetve fajtacsoporttól a levéllemez vastagságok néhány esetben szignifikáns eltérést mutattak (9. B. és C. ábra, vastagított számmal írt értékek). A Gohér fehér mind napos, mind félárnyékos levelei a többi fajtához viszonyítva szignifikánsan vastagabbnak mutatkoztak (kivéve Gohér piros félárnyékos levelével összehasonlítva), míg a Gohér változó levéllemezei a legkeskenyebbek a félárnyékos levelek közül.

9. ábra: A vizsgált szőlőfajták napnak kitett illetve félárnyékban nevelkedett levéllemezeinek vastagsága ($p < 0,05$).



Napos levelek	Gp	Gf	Gv	Fp	Ff
Gp					
Gf	0,00042				
Gv	0,18914	0,0139			
Fp	0,02126	0,0035	0,06711		
Ff	0,39435	0,00158	0,30758	0,0311	

B

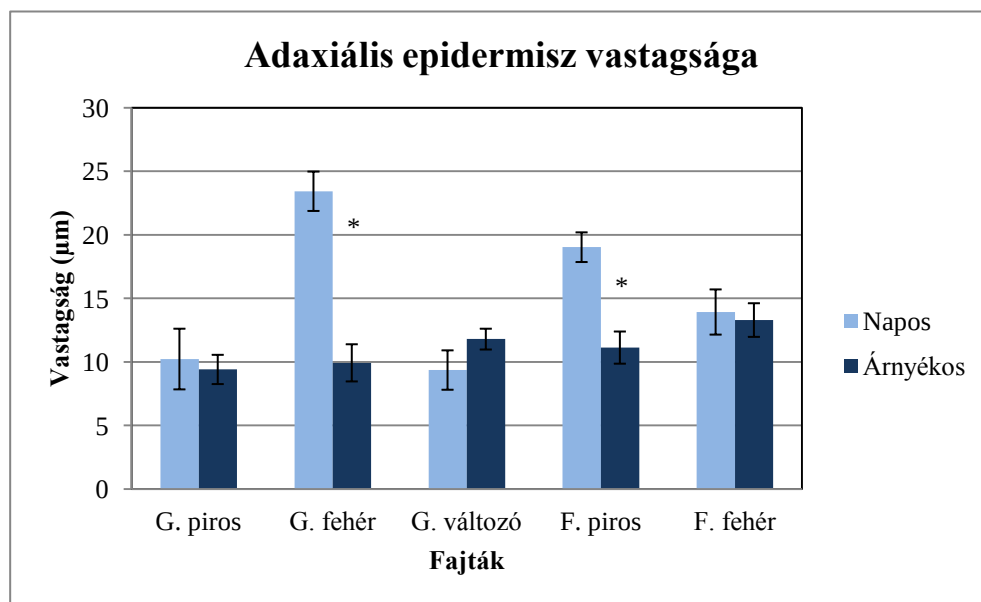
Félárnyékos levelek	Gp	Gf	Gv	Fp	Ff
Gp					
Gf	0,07266				
Gv	0,00668	0,00037			
Fp	0,3824	0,0284	0,02626		
Ff	0,06558	0,00241	0,02074	0,32324	

C

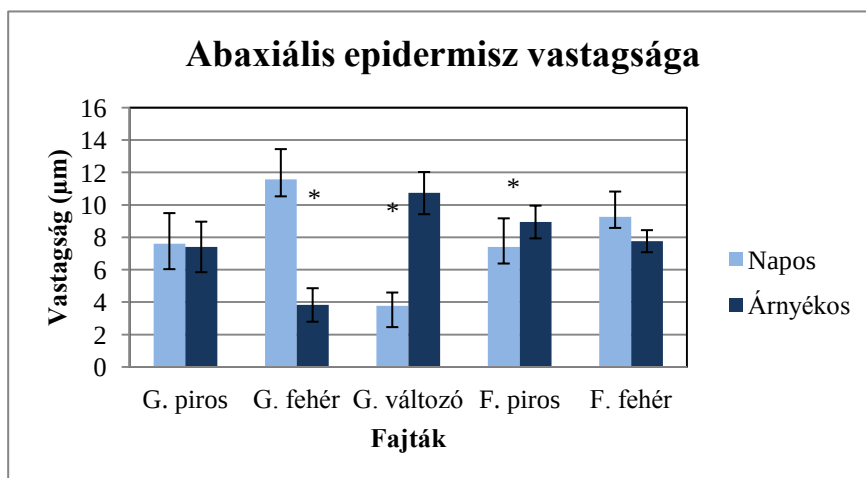
A színi epidermisz sejtjei a napnak kitett levelekben $9 \pm 2 \mu\text{m}$ (Gohér változó) - $23 \pm 2 \mu\text{m}$ (Gohér fehér), a félárnyékban nevelkedett levelekben $9 \pm 1 \mu\text{m}$ (Gohér piros) – $13 \pm 1 \mu\text{m}$ (Furmint fehér) vastagságúak lehetnek. Alakjukat tekintve az érközöknél anizodiametrikusak, kétszer szélesebbek, mint magasak, míg az erek felett keresztmetszetben izodiametrikus alakúak. A teljes levéllemez vastagságához viszonyított részesedésük alacsony, 7% (Gohér változó) – 12% (Furmint fehér). A fonáki epidermisz, amely a szivacsos parenchimat határolja, eltérően a felső epidermisztől, sztómákban gazdag. A fonáki epidermisz sejtjei hasonló méretűek, vagy kisebbek a színi epidermisz sejtjeinél, mértük a napos levelekben $4 \pm 1 \mu\text{m}$ (Gohér változó) - $12 \pm 2 \mu\text{m}$ (Gohér fehér), a félárnyékosokban $4 \pm 1 \mu\text{m}$ (Gohér fehér) – $11 \pm 1 \mu\text{m}$ (Gohér változó), vastagsági arányuk a többi szövetalkotóhoz viszonyítva 2% (Gohér fehér) - 11% (Gohér változó) értékek között változik. Alakjukat tekintve a színi

epidermiszsejtekhez hasonlóan az érközőkben anizodiametrikusak, az erek alatt pedig általában izodiametrikusak. A 10. és 11. ábrák a színi és fonáki epidermisz vastagságát szemléltetik. Az epidermisz rétegek különböző mértékben vastagodtak a napkitettség függvényében, a színi epidermisz esetében a Gohér fehér illetve a Furmint piros fajtáknál tapasztaltunk szignifikáns eltérést, mindkét esetben a napnak kitett epidermisz réteg bizonyult vastagabbnak. A fonáki epidermisznél három esetben tapasztaltunk szignifikáns eltérést, a színi epidermiszhez hasonlóan a Gohér fehér és a Furmint piros fajtáknál illetve a Gohér változó fajtánál. A Gohér változó és a Furmint piros fajtáknál a Gohér fehér fajtával ellentétben nem a napos epidermisz réteg volt a vastagabb, hanem a félárnyékos. A színi epidermisznél a Gohér változó esetében, szintén azt tapasztaltuk, hogy a félárnyékos epidermisz réteg a vastagabb, bár ez az eltérés nem szignifikáns. Megállapíthatjuk, hogy az epidermisz rétegek mennyiségi jellemzői nagy változatosságot mutatnak mind fajták, mind kitettség tekintetében.

10. ábra: Adaxiális epidermisz vastagsága az egyes fajták esetében, napkitettségtől függően ($p < 0,05$).

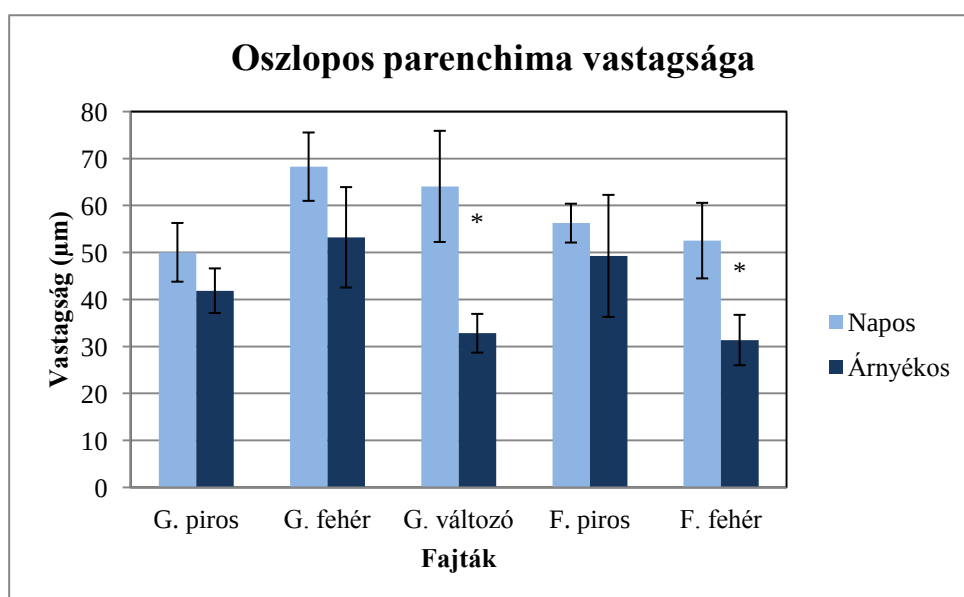


11. ábra: Abaxiális epidermisz vastagsága az egyes fajták esetében, napkitettségtől függően ($p < 0,05$).



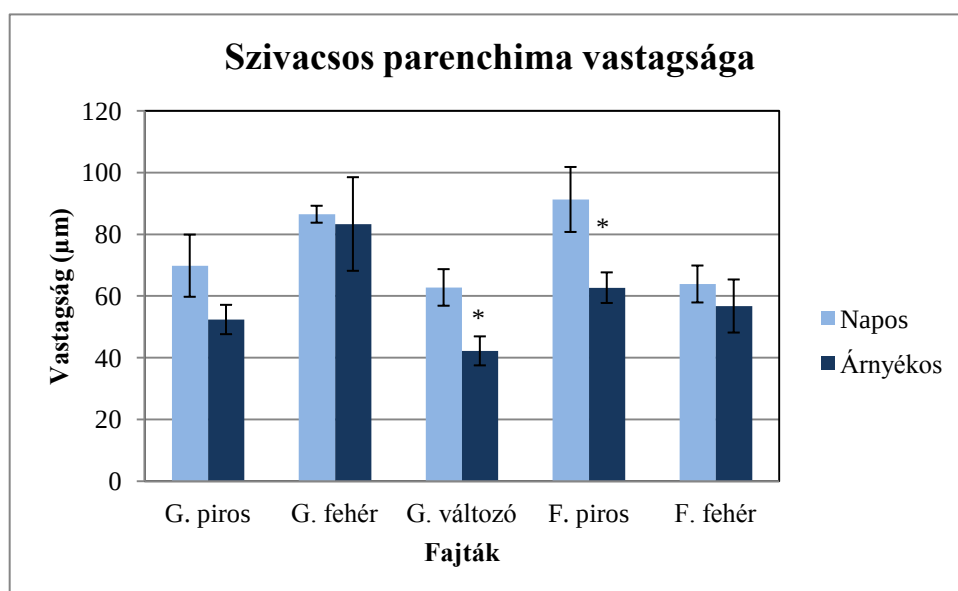
Az egy sejtrétegű adaxiális epidermisz alatt helyezkedik el a szintén egy sejtrétegű, oszlopos parenchima. Ennek vastagsága a napnak kitett levelekben $50 \pm 6 \mu\text{m}$ (Gohér piros) - $68 \pm 7 \mu\text{m}$ (Gohér fehér), a félárnyékban nevelkedettekben $31 \pm 5 \mu\text{m}$ (Furmint fehér) – $53 \pm 11 \mu\text{m}$ (Gohér fehér), vastagsági arányuk a teljes levéllemezhez viszonyítva 32% (Furmint piros) – 45% (Gohér változó) értékek között változik. Átlagosan a fajták oszlopos parenchimája a napos levelekben vastagabb, szignifikáns különbséget azonban csak a Gohér változó és a Furmint fehér fajták esetén figyeltünk meg (12. ábra).

12. ábra: Oszlopos parenchima vastagsága az egyes fajták esetében, napkitettségtől függően ($p < 0,05$).



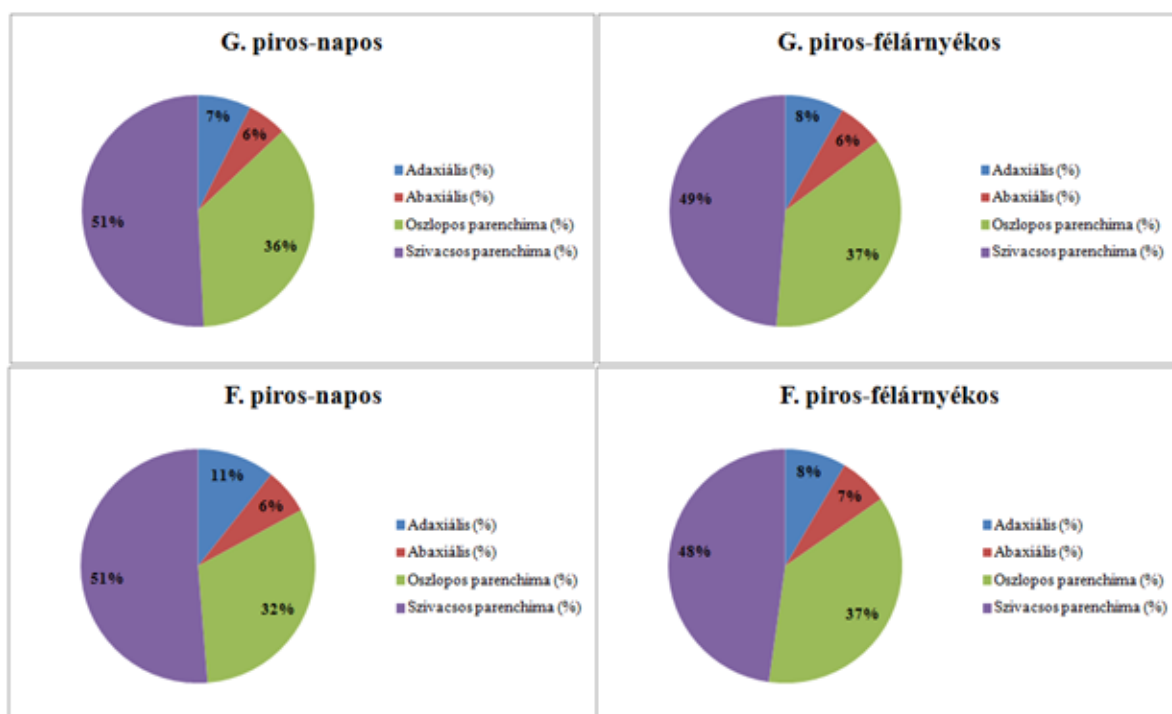
Az lazább szerkezetű szivacsos parenchima mindkét fajtacsoport esetében általában 5-6 sejtrétegű. Vastagságát tekintve a legnagyobb részt foglalja el a levéllemezben, a napos levelekben $63 \pm 6 \mu\text{m}$ (Gohér változó) - $91 \pm 11 \mu\text{m}$ (Furmint piros), a félárnyékosokban $42 \pm 5 \mu\text{m}$ (Gohér változó) – $83 \pm 15 \mu\text{m}$ (Gohér fehér) vastagságú, részesedése 43% (Gohér változó) - 55% (Gohér fehér) a teljes levéllemez vastagságához viszonyítva. Az oszlopos parenchimához hasonlóan, a napnak kitett levelekben a szivacsos parenchima minden fajtánál vastagabb volt, de szignifikáns eltérést csak a Gohér változó és a Furmint fehér esetében figyeltünk meg (13. ábra).

13. ábra: Szivacsos parenchima vastagsága az egyes fajták esetében, napkitettségtől függően ($p < 0,05$).



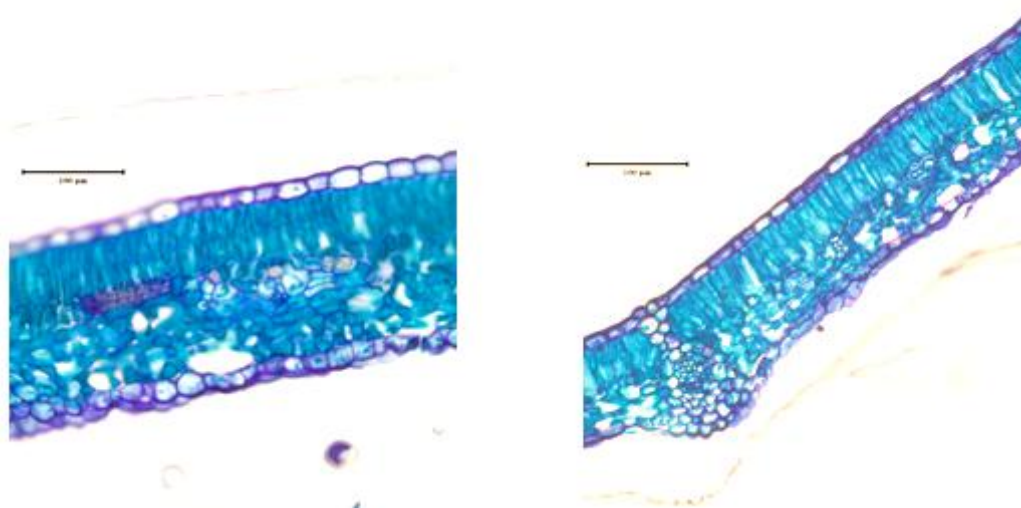
A fajták levéllemezének vastagsági arányait százalékosan, kördiagramban szemléltettük, az egyes szövetalkotók vastagságát a teljes levéllemez vastagságához viszonyítva. Ebben az esetben a mért értékek átlagát vettük számításaink alapjául. Alább a Gohér és Furmint fajtacsoport egy-egy képviselőjének szöveti arányai.

14. ábra: A szövetek vastagságának átlaga a teljes levéllemez vastagságához viszonyítva



A 15. ábrán megfigyelhetjük, a Furmint piros fajta példáján keresztül bemutatva, hogy a napnak kitett levéllemez vastagabb, mint a félárnyékban nevelkedett, és amíg az oszlopos parenchima sejtjei közel azonos méretűek, a szivacsos parenchima a napos levéllemez esetében jelentősen vastagabb. Meglátásunk szerint a napnak kitett levelek vastagságának növekedését elsősorban a szivacsos parenchima növekedése okozta.

15. ábra: Furmint piros napos és félárnyékos levéllemezek fénymikroszkópos képe. (Méretarány: 100 μ m)



Az elsősorban a fonáki oldalon gyakori sztómák a szőlőlevélen lehetnek szintben állók, süllyesztettek, vagy kiemelkedők. Általánosan elterjedt a szintben álló típus, ami váltakozhat más elhelyezkedésű sztómákkal is (pl. Afuz Ali, Kékoportó). A kiemelkedő sztóma ritkább, de egyes fajtákra jellemző lehet (pl. Ottonel muskotály) (KOZMA 2002). Az általunk vizsgált metszeteken szintben álló sztómák fordultak elő. Szőröket a levél fonákán figyeltünk meg. A szőlő levelén, hajtásán, vesszőjén két szőrtípus fordul elő: rövid, vastag, merev, hegyes végű serteszőrök és a hosszú, vékony falú pókhálós- vagy gyapjasszőrök. Megfigyeléseink szerint a két fajtacsoport eltérő szőrtípussal rendelkezik. A kék (8. B. ábra) illetve UV fényen (8. C. ábra) készített mikrofotókon jól látszanak a Furmint fajtacsoport serteszőrei. Ezzel szemben a Gohér fajtacsoportra a gyapjasszőrök jellemzőek.

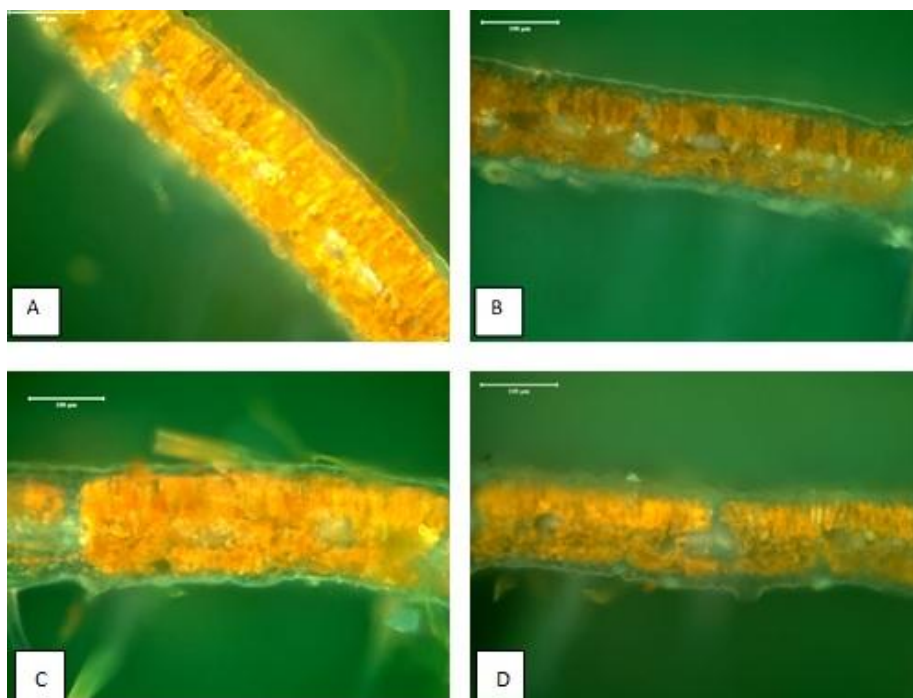
Tapasztalataink nem támasztják alá Kozma Pál (2002) könyvében leírtakat, miszerint az árnyékban növekedett szőlőlevelek mezofilluma sokkal fejlettebb, mint a fényen nőtt levélé, amely adódhat a félárnyék – árnyék közötti napfénybesugárzás közötti különbségből. Az árnyékos helyen nőtt szőlőlevél vastagságbeli csökkenését a paliszád parenchimaréteg rövidülésével magyarázzák (Keller, 2010), esetünkben is a napnak kitett levelek vastagabbnak bizonyultak, mint a félárnyékosak, de ezt a különbséget, megfigyeléseink alapján elsősorban a szivacsos parenchima megnövekedése okozta.

4.2.2. A napfény hatása a levelek fitokémiai jellemzőire

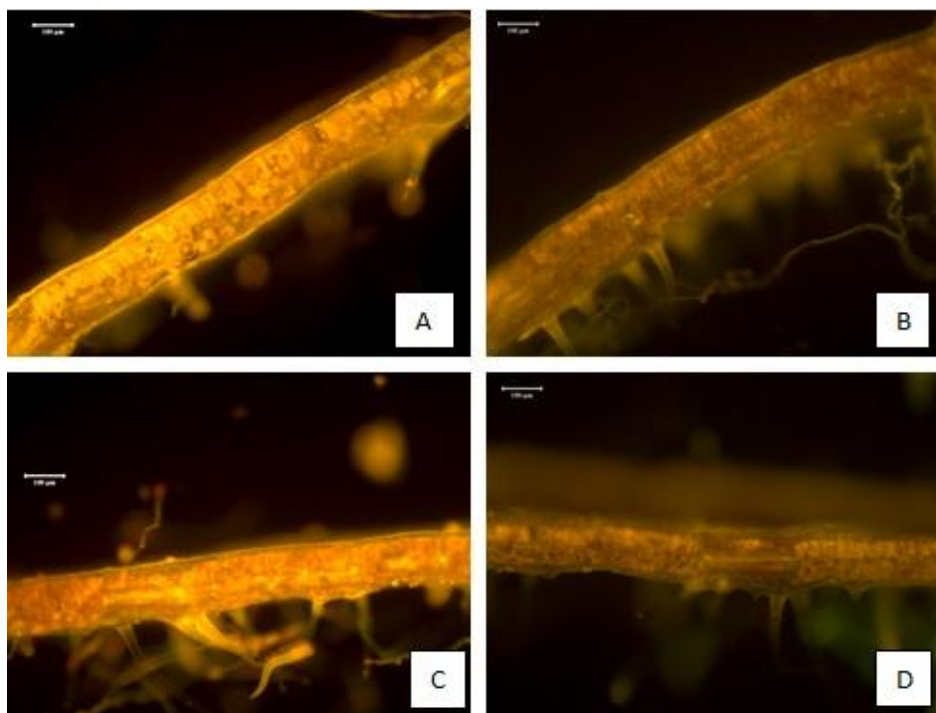
A szöveti szerkezet mellett vizsgáltuk a napnak kitett illetve félárnyékban nevelkedett levelek közötti flavonoid-tartalombeli különbséget. A friss mintákra 0,1%-os Naturstoff-oldatot csepegtettünk, amely reagens hatására a flavonoid fluoreszcencia UV, illetve kék fény gerjesztés hatására növekszik, ezáltal epifluoreszcens mikroszkóp alatt megfigyelhettük a jótékony vegyületek szintjét illetve eloszlását a levéllemezen belül.

A 365 nm-es UV-fény alatt a fenolos anyagokhoz tartozó flavonoidok jellegzetes sárgás fluoreszcenciát mutatnak. A 16. A. és C. ábrán megfigyelhető, hogy a napnak kitett levéllemezben jóval intenzívebb a flavonoidok fluoreszcenciája, míg a félárnyékban nevelkedettekben kevésbé (16. B. és D. ábra). Ez a flavonoid-intenzitásbeli különbség arra enged következtetni, hogy napfény hatására a levéllemezben felhalmozódnak ezek a vegyületek.

16. ábra: Napnak kitett (A.) és félárnyékban nevelkedett (B.) Furmint fehér fajta illetve napnak kitett (C.) és félárnyékban nevelkedett (D.) Gohér piros fajta levéllemezek UV-fényben készült mikrofotói. (Méretarány: 100 μ m)



17. ábra: Napnak kitett Furmint piros fajta (A.) és Gohér piros fajta (C.) illetve félárnyékban nevelkedett Furmint piros fajta (B.) és Gohér piros fajta (D.) levéllemezek kék fényben készült mikrofotói. (Méretarány: 100 μ m)



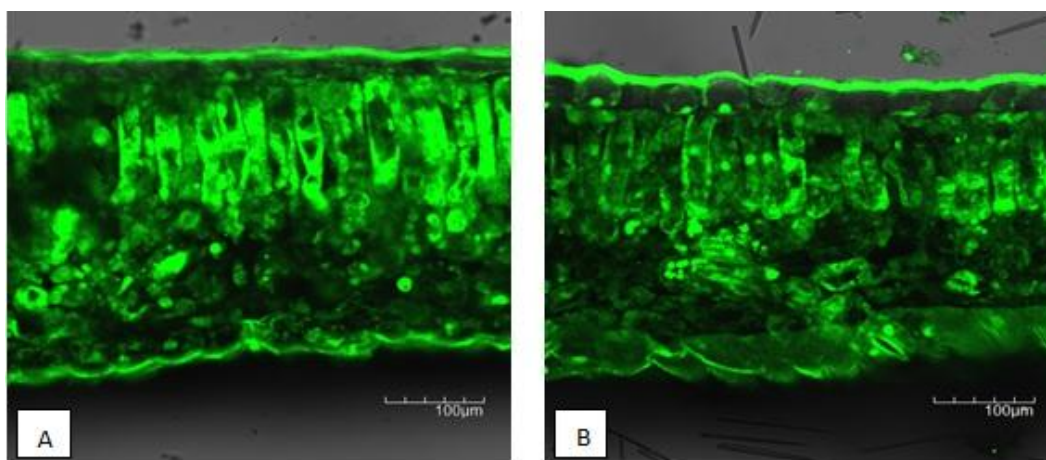
A kék fényel készült mikrofotón is jól látszanak az intenzíven sárgán fluoreszkáló flavonoidok, viszont kék fény esetén minden anyag, ami fluoreszkál, az sárgán fluoreszkál, pl. a növényi savak is, amelyek viszont UV-ben kékek (15. B. illetve 17. A. és C. ábra). A flavonoidok fluoreszcenciájának növekedését szövetszinten elsősorban a mezofillumban figyelhettük meg. A fényszűrés funkciót főként az epidermiszsejtek flavonoid-tartalmának növekedésével indokolhatnánk, ami többé-kevésbé látható a 16. ábrán. Jelen vizsgálataink az epifluoreszcens mikroszkóppal elsősorban a flavonoidok antioxidáns funkcióját támasztják alá, hiszen egyértelmű intenzitásnövekedést a mezofillumban figyelhettünk meg. A vizsgálati módszer sejtszintű flavonoid-lokalizációra nem alkalmas.

A Furmint fehér fajta esetén az epifluoreszcens analízist LSM vizsgálatokkal egészítettük ki, amellyel sejtszinten is vizsgálódhattunk, fluoreszcencia-intenzitás is mérhető, optikai szeletelésre is alkalmas. Ebben az esetben a Furmint fehér napos és árnyékos levelei között minimum 4-szeres intenzitásbeli különbséget detektáltunk (18. és 19. ábra). Leginkább a napnak kitett levéllemezben figyelhetjük meg, hogy a flavonoidok elsősorban a paliszád parenchimában (18. ábra), a sejtmagvakban és a kloroplasztiszokban halmozódtak fel, bár néhol a félárnyékos levélmetset epidermisz sejtjeinek és paliszád sejtjeinek magjai is fluoreszkálnak.

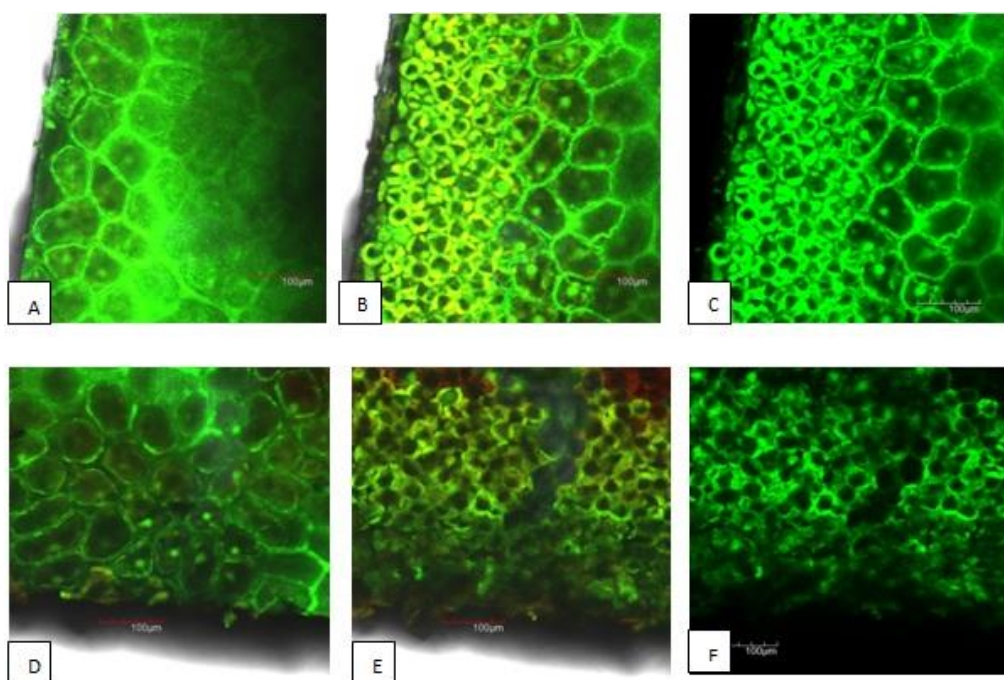
Előzetes tanulmányok alátámasztják, hogy fénytöbblet hatására nő a flavonoidok bioszintézise (MITTLER és mtsai 2004, HATIER és mtsai 2008). A látható és UV-tartományba eső fény hatásának következtében magas flavonoid-koncentrációt észleltek a szőlőlevelekben (KOLB és mtsai 2001). Bizonyos flavonoidok kloroplasztiszban való jelenléte – a *Phillyrea latifolia* levelekben - különösen fontos antioxidáns tulajdonságaik miatt, ugyanis a külső membránrétegekben elhelyezkedő flavonoidok korlátozhatják a káros hatású szinglett oxigén kilépését (AGATI és mtsai 2007, 2010). MAJER és mtsai (2014) a *Tilia platyphyllos* leveleken végzett kutatásaik alapján kimutatták a flavonoidok kulcsszerepét a napfényhez való alkalmazkodási folyamatokban.

Megfigyeléseink a vizsgált őshonos szőlőfajták természetes napfényhez való alkalmazkodási folyamatában a flavonoidok, mint antioxidánsok elsődleges szerepét támasztják alá, mely a művelésmódból adódó legmagasabb és legalacsonyabb napsugárzásnak kitett leveleket életfolyamataik optimális működésének fenntartásában segítik.

18. ábra: Napnak kitett (A.) illetve félárnyékban nevelkedett (B.) Furmint fehér fajta levéllemez keresztmetszeteinek LSM-os képe: (Méretarány: 100 μ m)



19. ábra: Furmint fehér fajta napos (A., B. és C.) illetve félárnyékos (D., E. és F.) levéllemezeinek optikai szeleteléssel készült LSM-os mikrofotói. A., D. – epidermisz réteg, B. C. – oszlopos parenchima, jobb oldalon még az epidermisz sejtek látszanak, E., F. – oszlopos parenchima. A B. és E. fotókon a klorofill pirosas fluoreszcenciája is érvényesül a paliszád sejtekben, míg a C. és F. mikrofotóknál csak a flavonoid fluoreszcenciát láthatjuk, megfelelő opciókkal kizárva a klorofill vörös fluoreszcenciáját. (Méretarány: 100 μ m)



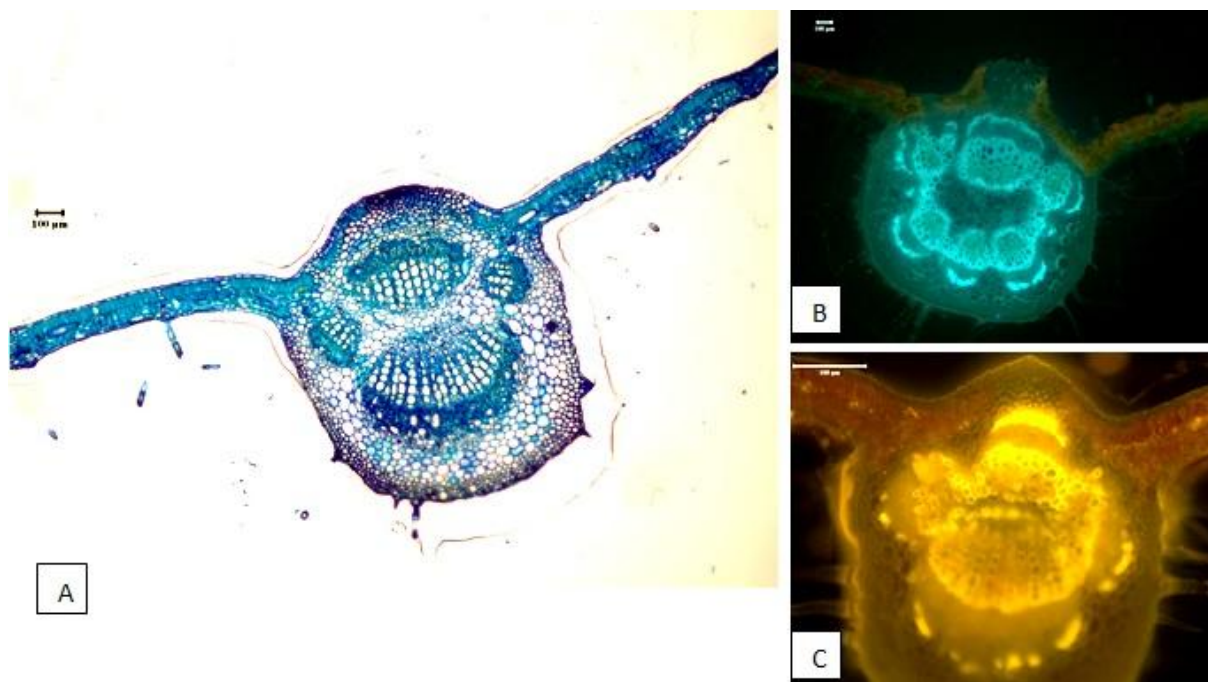
4.3. A szőlőfajták elsőrendű ereinek jellemzése

A levél erezetét a szállítónyalábok sajátos rendszert képező hálózata alkotja. Ez biztosítja a levéllemez szilárdságát, kiterülését és a tápanyagszállítást. Az erezet a levél mezofillumába beágyazódhat, de a levél fonákán vagy színi oldalán is kidomborodhat (7. WEBOLDAL). Kutatásunk során a begyűjtött szőlőlevelek szimmetriasíkban található elsőrendű érét tanulmányoztuk. A műgyantába ágyazott levéllemez mintáinkat úgy metsztük, hogy az elsőrendű ér is tartalmazzák, így a levéllemez mellet az elsőrendű ér szöveti szerkezetének vizsgálatát is elvégeztük fénymikroszkóp alatt. Az elsőrendű ér szerkezete hasonló a levélnyeléhez.

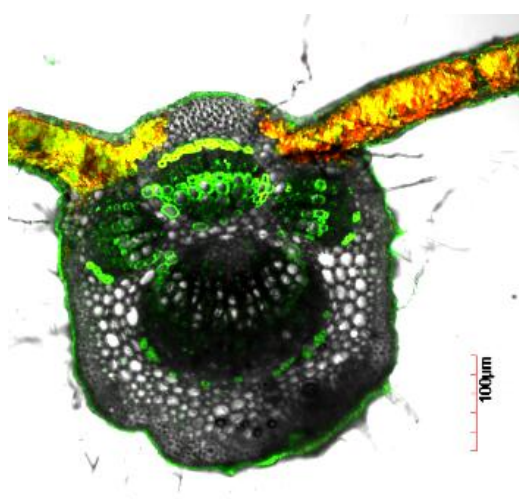
Az egyes fajták elsőrendű ér szerkezetéről a következőket állapítottuk meg (20. ábra): A félhengeresen kidomborodó elsőrendű ér kívülről egysejtrétegű epidermisz borítja, amelyet néhány sejtsornyi kisméretű, vastagodott falú sejtek sora követ. A paranchimaszövetbe ágyazott edénynyalábok hasonlóan a levélnyelhez körben helyezkednek el benne, de a két adaxiális extra nyaláb hiányzik. Számuk a Gohér fajtacsoport esetében 6-8, míg a Furmint fajtacsoport esetében csupán 4. A begyűjtött Gohér fajták elsőrendű ér-régiójának átlagosan nagyobb a területe ($1.823.720 \mu\text{m}^2$), mint a Furmint fajtáké ($815.779 \mu\text{m}^2$), hasonlóan, mint a levélnyel-vastagság esetében. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy a több mint kétszer nagyobb területű elsőrendű ér-régióhoz magasabb edénynyaláb szám társul. Nemcsak a vastagságban, de a nyalábok elrendeződésében is találtunk különbségeket az egyes fajtacsoportok között. A Gohér fajtáknál az edénynyalábok különállóbbak voltak (20. B. ábra), míg a Furmint fajták esetében a nyalábok jobban összeolvadtak, ezt „árvácskavirágszerű” elrendeződésnek neveztük (20. A. és C. ábra). Az elsőrendű ér-régióon található trichómák hasonlóak a levéllemezhez, ezáltal itt is megfigyelhetjük az adott fajtacsoportra jellemző szőrözöttséget (20. B. és C. ábra). A fajtacsoportok fajtáin belül az elsőrendű ér-régióban nem találtunk fajtabélyeg értékű jellemzőt.

Az elsőrendű ér-régió esetében flavonoid fluoreszcenciát UV (20. B. ábra), illetve LSM (21. ábra) alatt csupán ott figyelhetünk meg, ahol a levéllemez kloroplasztiszból gazdag mezofillum megjelenik. UV-fényben jól látszik, hogy a szállítónyalábok, elsősorban a xilém-elemek, valamint a hancskorona sejteinek vastagodott fala kéken világít az itt található növényi savak miatt

20. ábra: Az elsőrendű ér szerkezeti felépítése: A. A Furmint piros fajta elsőrendű ér keresztmetszetének fénymikroszkópos képe. B. A Gohér fehér fajta elsőrendű ér keresztmetszetének UV-fényben készített mikrofotója. C. A Furmint fehér fajta elsőrendű ér keresztmetszetének kék fényben készített mikrofotója. (Méretarány: 100 μm)

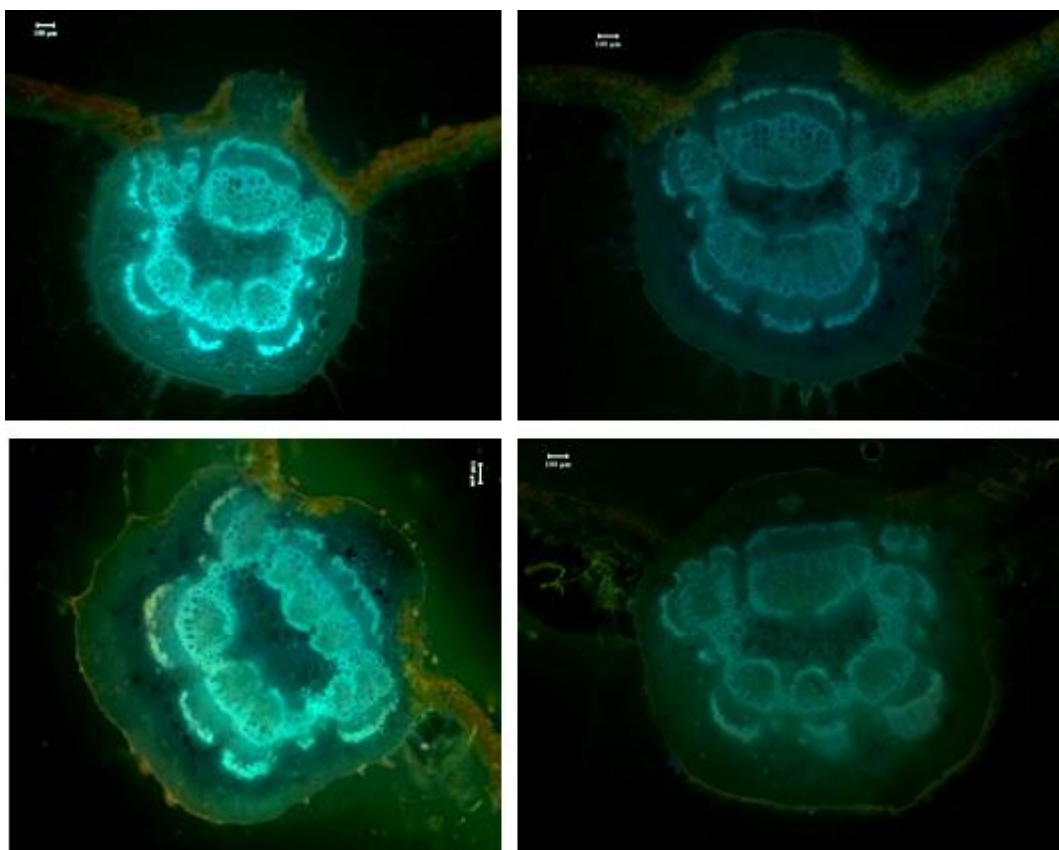


21. ábra: Furmint fehér fajta elsőrendű ér keresztmetszetének LSM-os képe

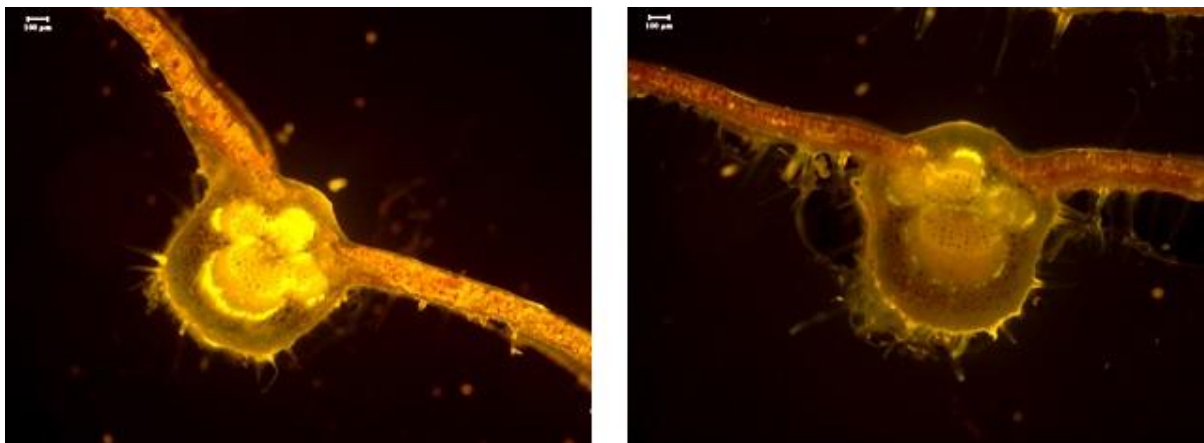


A fluoreszcens vizsgálatok alapján megállapíthatjuk, hogy a napnak kitett levelekben az elsőrendű ér-régióban a növényi savak intenzívebben fluoreszkálnak, ebből arra következtethetünk, hogy napfény hatására ezeknek a vegyületek a mennyisége megnő (22., 23. ábra).

22. ábra: Napnak kitett illetve félárnyékban nevelkedett Gohér fehér fajta és Gohér változó fajta elsőrendű ereinek UV-fényben készült mikrofotói. (Méretarány: 100 μ m)



23. ábra: Napnak kitett Furmint fehér fajta illetve árnyékban nevelkedett Furmint fehér fajta elsőrendű ereinek kék fényben készült mikrofotója. (Méretarány: 100 μm)



A levélér régió külső rétegének szemmel látható elszíneződése a levélnyél antocián felhalmozódásához hasonlóan fajtafüggő reakciót mutatott a kitettség tekintetében: a Gohér változó levélerei pirosas színezetűek mind napon, mind félárnyékban, míg a Gohér piros erei napsugárzásra pirosodnak (szabadföldi megfigyelés, 2013).

VI. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánkban a levélszövettani és fitokémiai megfigyelések a szőlőnövény természetes napfényhez való alkalmazkodását fedik fel. Anatómiai vizsgálataink a fajták levélnyel és levéllemez részletes szerkezeti jellemzését eredményezték. A fenolos vegyületek (flavonoidok, különböző növényi savak) eloszlásának illetve intenzitásának megfigyelése választ adott arra, hogy a szőlőlevélben napsugárzás hatására hol és mennyire emelkedik meg ezeknek a fitokemikáliáknak a szintje.

A levélnyel esetében a fénymikroszkópos vizsgálataink jól mutatják, hogy a Gohér fajtacsoportnál a kollaterális nyílt edénynyalábok száma átlagosan több, mint a Furmint fajtáknál. Ez a szignifikáns különbség adódhat abból is, hogy a Gohér fajták levéllyelei vastagabbak, mint a Furmint fajtáké, ezáltal bennük több edénynyaláb elfért. Fajtacsoportok közötti különbség továbbá a nyalábgyűrű színi oldali behajlása a Furmintoknál. A vizsgált fajták levéllyelei esetén, fajtacsoporton belül elkülönítő fajtabélyeget nem találtunk. Az epifluoreszcens mikroszkóp segítségével végzett vizsgálatoknál magas növényi savtartalmat figyeltünk meg elsősorban a hánckorona illetve az edénynyalábok sejtjeinek sejtfalában, ott ahol a levéllyelet napsugárzás érte. Emellett különbséget fedeztünk fel a napos és félárnyékos Gohér és Furmint fajták levéllyelének antocián tartalmában.

A fénymikroszkópos metszeteken, illetve a kördiagramokon megfigyelhettük a dorziventrális felépítésű levéllemez szöveteinek arányát. Fajtacsoporttól függetlenül a levéllemezben a szivacsos parenchima aránya a legnagyobb, ezután következik az oszlopos parenchima, majd az adaxiális illetve abaxiális epidermisz. Szőröket a levél fonákán figyeltünk meg. A Furmint fajtacsoport esetében serte, míg a Gohér fajtacsoport esetében gyapjasszőröket. A levélér-régió antocián tartalma szintén változott a napkitettség függvényében. Az epifluoreszcens illetve a lézer scanning mikroszkóppal (LSM) végzett vizsgálataink jól mutatják a napnak kitett és a félárnyékban nevelkedett levéllemezeken eltérő flavonoid-tartalmát. A napos levelekben napfény hatására a levéllemezben felhalmozódnak ezek a vegyületek. Jelen vizsgálataink elsősorban a flavonoidok antioxidáns funkcióját támasztják alá, hiszen egyértelmű intenzitásnövekedést figyelhettünk meg a mezofillumban. Szövetszinten a flavonoidok a paliszád parenchimában halmozódtak fel, sejtszinten a parenchima sejtek kloroplasztisaiban figyeltük meg őket nagy mennyiségben.

A fénymikroszkópos vizsgálataink során megfigyeltük a levéllemez főérének szöveti szerkezetét is. Benne a körben elhelyezkedő edénynyalábok száma a Gohér fajtacsoport esetében 6-8, míg a Furmint fajtacsoport esetében csupán 4. Hasonlóan, mint a

levélnyelvastagság esetében a begyűjtött Gohér fajták főér-régiója átlagosan, mint a Furmint fajtáké. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy a vastagabb főér-régióhoz magasabb edénynyaláb szám társul. Emellett megfigyeltük, hogy a Gohér fajtáknál az edénynyalábok különállóbbak voltak, míg a Furmint fajták esetében a nyalábok „árvácskavirágszerű” elrendeződést mutattak. A fajtacsoportok fajtáin belül a levélér-régióban nem találtunk fajtabélyeg értékű jellemzőt. Magas növényi savtartalmat a szállítónyalábok, elsősorban a xilém-elemek, valamint a háncskorona sejtjeinek vastagodott falában figyeltünk meg. A fluoreszcens vizsgálatok alapján megállapíthatjuk, hogy a napnak kitett levelekben a főér-régióban a növényi savak intenzívebben fluoreszkálnak, ebből arra következtethetünk, hogy napfény hatására ezeknek a vegyületeknek is megnő a mennyisége.

Kutatásunkban öt hazai szőlőfajta részletes levélanatómiáját és leveleik flavonoid-tartalmát figyeltük meg, valamint a vizsgált tulajdonságok szempontjából felfedtük a növény leveleinek fényszabályozási módszerét.